

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

**USO DE EDTA E DE E FELJÃO-DE-PORCO**  
**MICORRIZADO EM SOLO CONTAMINADO POR**  
**METAIS PESADOS E BORO**

**ANA LÚCIA DE LIMA**

**Orientadora: Dra. Adriana Parada Dias da Silveira**

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  
Fevereiro – 2008

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

Ficha elaborada pela bibliotecária do Núcleo de Informação e Documentação do Instituto Agronômico

L732u Lima, Ana Lúcia de  
Uso de EDTA e de feijão-de-porco micorrizado em solo contaminado por metais pesados e boro/ Ana Lúcia de Lima. Campinas, 2008.  
80 fls

Orientador: Adriana Parada Dias da Silveira  
Dissertação (Mestrado) Agricultura Tropical e Subtropical  
Instituto Agronômico

1. Micorriza arbuscular, 2. Fitorremediação 3. Indicadores Microbianos I. Silveira, Adriana Parada Dias da. II. Campinas. Instituto Agronômico III. Título

CDD. 581.55724



SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO  
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA  
DOS AGRONEGÓCIOS  
INSTITUTO AGRONÔMICO  
Pós-Graduação  
Av. Barão de Itapura 1481 Caixa Postal 28  
13001-970 Campinas, SP - Brasil  
(019) 3231-5422 ramal 194  
pgiac@iac.sp.gov.br



**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**  
**PÓS-GRADUAÇÃO**  
**AGRICULTURA TROPICAL E SUBTROPICAL**

**TÍTULO: Uso de EDTA e de feijão-de-porco micorrizado em solo contaminado por metais pesados e boro**

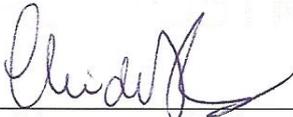
Aluno(a): **Ana Lúcia de Lima**  
Processo SAA nº. **12113/06**

Orientador(a): **Adriana Parada Dias da Silveira**

**Aprovado pela Banca Examinadora:**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr.(a) Adriana Parada Dias da Silveira - IAC**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr.(a) Sara Adrián Lopez de Andrade - UNICAMP**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr.(a) Cleide Aparecida de Abreu - IAC**

Campinas, 26 de fevereiro de 2008

Visto:

  
**Ana Maria M.A. Lagôa**  
Coordenadora  
Pós-Graduação Instituto Agrônomo

Ao meu namorado André Luís  
e os meus irmãos Junior e Amador

**DEDICO**

Aos meus Pais, Sebastião e  
Divina por toda a ajuda,  
apoio, financiamento,  
compreensão e carinho

**OFEREÇO**

## AGRADECIMENTOS

- À Dra. Adriana Parada Dias da Silveira, pelo carinho, apoio, ensinamento, dedicação e pela confiança no meu trabalho;
- Ao Dr. Ronaldo Severiano Berton, por toda a ajuda para que o experimento fosse realizado;
- À Dra. Gláucia Célia Gabrielli dos Santos, pela ajuda na realização da análise e discussão dos resultados de fracionamento;
- À Dra. Sueli de Freitas, por toda a ajuda e amizade;
- Aos membros da banca examinadora Dra. Cleide Aparecida de Abreu e a Dra. Sara Adrián López da Silveira por todas as dicas, correções e ensinamentos passados;
- Ao Centro de solos em especial a seção de Microbiologia do solo por permitir e colaborar com as várias etapas da condução do experimento;
- À técnica Rosana Gierts Gonçalves pelo ensinamento, amizade e ajuda em todas as etapas do experimento;
- Às estagiárias pela ajuda;
- Aos funcionários da Seção de Microbiologia e Qualidade do solo pela amizade;
- Aos funcionários da Pós-Graduação do Instituto Agrônomo (Adilza, Célia, Elizabeth e Eliete) pela amizade, ajuda, compreensão;
- Aos meus pais Sebastião de Lima e Divina Ramos de Lima, por todo o apoio, dedicação, incentivo, carinho e amor, sem eles com certeza não estaria realizando este sonho;
- Aos meus irmãos Junior e Amador, apesar de todas as nossas diferenças sempre torceram por mim, agradeço principalmente paciência e amizade;
- Aos colegas, Luis Guilherme, Geraldo, e todos os outros colegas do mestrado;
- À Flávia, Luisa, Mariana e Vanessa, pela amizade, colaboração, conversas, sem vocês o mestrado não seria o mesmo;
- À Aline, Rafaela, Ana Karina e Luciana, por toda a ajuda, companheirismo, amizade e carinho, por essas mulheres sinto um carinho imenso, são como irmãs;
- À Núbia, não tenho nem palavras para agradecer, o carinho, a amizade, a ajuda (que foi imensa), os conselhos, se tornou uma grande amiga;
- A André Luís Gonçalves, essa pessoa encantadora, pelo carinho, dedicação, amizade, compreensão, conselhos, companheirismo, amor, sem você tudo seria mais difícil, obrigado por fazer parte da minha vida;

- E a todas as pessoas que participaram ou contribuíram para esse trabalho.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRAFICA.....	3
2.1 Poluição Ambiental.....	3
2.2 Indicadores Microbianos da Qualidade do Solo.....	4
2.3 Recuperação de Áreas Contaminadas Com Metais Pesados.....	7
2.3.1 Fitorremediação.....	7
2.3.1.1 Fitoextração mediada por quelante.....	8
2.3.1.2 Fitoextração mediada por micorriza.....	10
2.3.1.3 Fitoextração mediada por micorriza e EDTA.....	12
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3.1 O Solo.....	14
3.2 Preparação dos Vasos, Inoculação e Semeadura.....	16
3.3 Aplicação do EDTA.....	16
3.4 Coleta do Experimento.....	16
3.5 Análise de Fracionamento dos Metais no Solo.....	17
3.6 Análise das Variáveis de Crescimento da Planta.....	17
3.6.1 Massa da matéria seca da parte aérea e matéria fresca de raiz.....	17
3.6.2 Determinação da concentração de macro e micronutrientes na parte aérea e no solo.....	17
3.6.3 Determinação da atividade de fosfatase ácida nas folhas.....	18
3.6.4 Determinação da atividade de redutase do nitrato nas folhas.....	18
3.6.5 Determinação da colonização micorrízica.....	18
3.7 Análise dos Indicadores Microbianos do solo.....	19
3.7.1 Carbono da biomassa microbiana (Cmic).....	19
3.7.2 Respiração basal do solo.....	19
3.7.3 Atividade da enzima desidrogenase.....	19
3.7.4 Carbono orgânico (Corg).....	19
3.7.5 Quociente metabólico (qCO <sub>2</sub> ).....	20
3.7.6 Quociente microbiano (qMIC).....	20
3.8 Análise Estatística.....	20
4 RESULTADOS.....	21
4.1 Resultado das análises do solo.....	21
4.2. Parâmetros Relacionados à Planta.....	25
4.2.1 Crescimento da planta.....	25
4.2.2 Colonização micorrízica.....	29
4.2.3 Atividade das enzimas fosfatase ácida e redutase do nitrato em folha.....	32
4.2.4 Concentração e acúmulo de nutrientes na parte aérea das plantas.....	36
4.3 Parâmetros Relacionados à microbiota do solo rizosférico.....	50
4.3.1 Respiração basal.....	50
4.3.2 Carbono da Biomassa microbiana (Cmic).....	51
4.3.3 Quociente metabólico (qCO <sub>2</sub> ).....	53
4.3.4 Carbono orgânico (Corg).....	55
4.3.5 Quociente microbiano (qMIC).....	56
4.3.6 Atividade da enzima desidrogenase no solo rizosférico.....	58
5 DISCUSSÃO.....	60

6 CONCLUSÕES .....	69
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	70

LIMA, Ana Lúcia. **Uso de EDTA e de feijão-de-porco micorrizado em solo contaminado por metais pesados e boro.** 2008. 80f. Dissertação (Mestrado em Gestão de Recursos Agroambientais) – Pós-Graduação – IAC.

## RESUMO

A contaminação do solo tem causado muitos problemas como perda da produtividade agrícola, alteração na diversidade microbiana e nos processos biológicos do solo e acumulação de metais pesados (MPs) nos alimentos. Devido a esse fato têm-se buscado maneiras para minimizar os efeitos dessa poluição. Os objetivos do projeto foram avaliar o efeito da aplicação do agente quelante EDTA na extração de MPs e B por feijão-de-porco associado a fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e determinar indicadores microbiológicos de qualidade do solo, obtido em uma área que recebeu resíduo com excesso de Zn, Cu e B. O experimento foi realizado em esquema fatorial 2x3x5, com delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições, sendo: sem e com adição de EDTA (0,5 mg kg<sup>-1</sup> solo), dois FMAs (*Glomus macrocarpum* e *Glomus intraradices*) e um controle com fungos nativos e cinco proporções de solo contaminado (0, 25, 50, 75 e 100% de solo contaminado). Foram avaliadas a matéria seca da parte aérea, matéria fresca de raiz, colonização micorrízica, atividade de fosfatase ácida e redutase do nitrato nas folhas, teor e acúmulo de macro e micronutrientes. Para as análises dos indicadores da qualidade do solo usou-se apenas o solo controle (0 % de solo contaminado) e o solo contaminado (100% de solo contaminado) e foram analisados: C da biomassa microbiana, respiração basal,  $q_{MIC}$ ,  $q_{CO_2}$  e atividade da enzima desidrogenase. A aplicação de EDTA refletiu em mudança no metabolismo da planta, aumentando a atividade das enzimas fosfatase ácida e redutase do nitrato nas folhas. As plantas cultivadas no solo contaminado apresentaram menor produção de biomassa e tiveram maiores teor e acúmulo de B, Cu e Zn na parte aérea. O feijão-de-porco foi tolerante a Zn e Cu e hiperacumulador de B. A inoculação de *G. intraradices* e *G. macrocarpum* não reverteu em maiores benefícios ao desenvolvimento da planta e a extração de MPs e B do solo. O  $q_{CO_2}$ ,  $q_{MIC}$  e a atividade da desidrogenase mostraram-se indicadores adequados do estresse causado pelo excesso de MPs e B no solo.

**Palavras-chaves:** fitorremediação, quelante, indicadores microbianos, micorriza arbuscular.

LIMA, Ana Lúcia. **EDTA addition and mycorrhizal jackbean in heavy metal and boron contaminated soil.** 2008. 80f. Dissertation (Master in Agroenvironmental resources management) – Graduation – IAC.

### ABSTRACT

The soil contamination by heavy metals has caused many problems such as agricultural productivity loss, alteration in microbial diversity and soil biological processes and heavy metal accumulation in foods. Due to this fact, it has been searched ways to minimize the effect of this pollution. The objectives were to evaluate the effect of the quelant agent EDTA addition on heavy metals and B extraction by jackbean associated to arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and to determine microbial indicators of soil quality in an area that received residue with excess of Zn, Cu and B. The experiment was carried out in factorial scheme 2x3x5, with completely randomized design, with five replications: with and without EDTA addition ( $0.5 \text{ mg kg}^{-1}$ ), two AMF (*Glomus macrocarpum* and *Glomus intraradices*) and the control with native AMF and five rates of contaminated soil (0, 25, 50, 75 and 100% of soil with residue). Shoot dry matter, root fresh matter, mycorrhizal colonization, acid fosfatase and nitrate redutase activities in leaves, shoot micro and macronutrients concentration and content were analised. Control soil (0% of contaminated soil) and contaminated soil (100% of contaminated soil) were used for soil microbial parameters determinations: microbial biomass C, basal respiration,  $q_{\text{MIC}}$ ,  $q_{\text{CO}_2}$  and deshydrogenase enzyme activity. EDTA addition caused changes in plant metabolism, increasing the activity of the enzymes acid phosphatase and nitrate redutase in plant leaves. Plants grown on contaminated soil showed less biomass production and higher shoot concentration and content of B, Cu and Zn. The jackbean plant was tolerant to Zn and Cu and B hyperaccumulator. *G. intraradices* and *G. macrocarpum* inoculation did not revert in higher benefits to plant growth and heavy metals and B extraction from soil. The  $q_{\text{CO}_2}$ ,  $q_{\text{MIC}}$  and deshydrogenase activity were appropriate indicators of the stress caused by Zn, Cu and B excess in the soil.

**Key words:** phytoremediation, quelant agent, microbial indicators, arbuscular mycorrhiza.

## 1 INTRODUÇÃO

A poluição ambiental, resultado do enorme progresso material de milhões de habitantes, da explosão populacional do século XX e do surgimento de megametrópoles, trouxe preocupações com a qualidade dos solos (NAVARRO & CARVALHO, 2003). Entre os principais agentes de poluição estão os metais pesados (MPs), definido por CARNEIRO *et al.* (2001) como elemento com densidade relativa maior que  $5 \text{ g cm}^{-3}$ ; que podem causar sérios problemas para os humanos e outros organismos (KIM *et al.*, 2005), quando acumulado em excesso no ambiente. A contaminação dos solos por MPs é um grave problema ambiental, por causa de sua persistência e alto poder de toxicidade, podendo ter conseqüências desastrosas para o ecossistema como a perda da produtividade agrícola, alteração da biodiversidade microbiana, inibição da atividade microbiana e de seus processos bioquímicos (SOARES *et al.*, 2005). MELLO *et al.* (2002), em sua revisão, verificaram, também, que o excesso de boro pode ser prejudicial para a agricultura, assim como os MPs, pois causa séria toxicidade em plantas.

O estudo do comportamento dos MPs no solo tem grande importância para a recuperação de áreas degradadas (FIRME, 2005). A descontaminação de solos com MPs requer a adoção de técnicas para amenizar a biodisponibilidade dos metais e o emprego de ecotipos tolerantes à contaminação capazes de sobreviver e completar o seu ciclo de vida (SOARES *et al.*, 2001).

Assim, alternativas para despoluir áreas contaminadas por diversos compostos têm sido buscadas como a biorremediação, caracterizada como uma técnica que objetiva descontaminar solo e água por meio da utilização de organismos vivos, como microrganismos e plantas (PIRES *et al.*, 2003; QUENTAL, 2002). Nesse contexto, especial atenção tem sido dada ao emprego da microbiota no tratamento de MPs (KIM *et al.*, 2005).

Os microrganismos do solo estão presentes tanto no solo como na rizosfera, onde realizam atividades metabólicas relevantes para o crescimento das plantas. A biota do solo desempenha funções no ecossistema, tais como armazenamento de água, decomposição de resíduos orgânicos, reciclagem de nutrientes, seqüestro e desintoxicação de substâncias tóxicas entre outras. A diversidade microbiana, em

virtude dos microrganismos estarem na base da cadeia trófica e intrinsecamente associados aos diversos processos ecológicos do solo, tem figurado como um importante indicador da qualidade do solo (ZILLI *et al.*, 2003). Além disso, as características microbiológicas do solo podem ser úteis ao monitoramento da poluição do solo uma vez que são sensíveis aos efeitos tóxicos de metais pesados (MPs) em concentrações próximas ou abaixo dos limites estabelecidos para a comunidade microbiana e seus processos (SOARES *et al.*, 2005).

Um tipo de biorremediação é a fitorremediação, que emprega plantas avaliadas previamente quanto a sua capacidade de tolerância ao tipo de estresse (QUENTAL, 2002). Dentro da fitorremediação encontram-se tecnologias como a rizofiltração, fitodegradação, fitovolatilização, fitoestimulação, fitoestabilização e fitoextração (DINARDI *et al.*, 2003). Como já dito, uma estratégia da fitorremediação, a fitoextração, utiliza plantas com grande biomassa que possuam a capacidade de acumular metais, os quais são, portanto, removidos do solo (CHEN *et al.*, 2004). Agentes quelantes, como o EDTA (ácido etilenodiaminotetracético), são aplicados no solo para liberar os MPs adsorvidos e aumentar a sua disponibilidade, de forma que as plantas possam extrair maior quantidade de metais.

Plantas associadas a fungos micorrízicos apresentam maior tolerância ao excesso de metais pesados (ANDRADE *et al.*, 2003), ao mesmo tempo que podem absorver e acumular maior quantidade de metais (ANDRADE *et al.*, 2005), o que pode causar aumento no potencial hiperacumulador de metal pesado de algumas plantas. O conjunto de hifas fornece superfícies absorptivas dentro das células corticais do hospedeiro, evitando, desta forma, a translocação para a parte aérea (BRADLEY *et al.*, 1981 citado por ANDRADE *et al.*, 2003). Portanto, os fungos micorrízicos podem contribuir para o crescimento de plantas em locais contaminados com MPs por meio de imobilização no interior do sistema radicular (JONER & LEYVAL, 1997).

Os objetivos do projeto foram avaliar o efeito da aplicação do agente quelante EDTA na extração de MPs e B por plantas de feijão-de-porco associadas a fungos micorrízicos arbusculares e determinar indicadores microbiológicos de qualidade do solo, obtido em uma área que recebeu resíduo de sucata automobilística com excesso de MPs, principalmente de Zn e Cu, e B.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Poluição Ambiental

O aumento populacional e industrial tem levado à degradação ambiental e isso tem gerado preocupações com a qualidade ambiental, incluindo os solos. Na última década, a qualidade do solo tornou-se um assunto de interesse mundial. Segundo DORAN & PARKIN (1994), qualidade do solo é definida como a capacidade deste em funcionar dentro do ecossistema visando sustentar a produtividade biológica, manter a qualidade ambiental e promover a saúde das plantas e animais, sendo avaliada pelo uso de indicadores físicos, químicos e biológicos. Como sabido, atualmente são muito usadas tecnologias agrícolas e práticas como monoculturas, manejo de resíduos, fertilização mineral, uso exagerado de pesticidas, maquinário agrícola pesado, práticas inadequadas de manejo de solo e água irrigada que podem afetar de forma significativa a qualidade do solo por mudanças nas suas propriedades físicas, químicas e biológicas (VALARINI *et al.*, 2002; VALARINI *et al.*, 2003).

Alguns MPs são elementos essenciais para os seres vivos, como Fe, Cu, Zn e Mn, enquanto outros, como Cd, Pb e Hg não têm funções biológicas conhecidas. Quando em excesso no solo, esses elementos podem inibir o crescimento das plantas e causar alterações nas comunidades vegetais, como também exercer efeitos adversos sobre os microrganismos do solo, interferindo nas funções do ecossistema, com conseqüências ao meio ambiente e à saúde pública.

O Boro é um semimetal e há poucos estudos que relatam a poluição do solo por boro. A maioria dos trabalhos relata os efeitos tóxicos do excesso de boro em plantas, como em MELLO *et al.* (2002), que observaram o efeito fitotóxico do aumento da concentração de boro em plantas de pimentão e tomateiro.

Devido aos fatores acima citados, grandes esforços têm sido feitos para integrar conhecimentos que facilitem a reabilitação de solos poluídos com MPs, e assim, possibilitar o retorno da funcionalidade e estabilidade do ecossistema. A minimização dos impactos causados pela poluição do solo é fundamental para a melhoria da qualidade ambiental e para o desenvolvimento sustentável (GUILHERME, 2000).

## 2.2 Indicadores Microbianos da Qualidade do Solo

Indicadores são atributos que medem ou refletem a situação ambiental ou as condições de sustentabilidade do ecossistema (SMYTH & DUMANSKI, 1995). Os indicadores podem ser parâmetros físicos, químicos e biológicos. Os microrganismos possuem a capacidade de dar respostas rápidas a mudanças na qualidade do solo, característica que não é observada nos indicadores químicos ou físicos (ARAÚJO & MONTEIRO, 2007).

A microbiota do solo é responsável por processos como decomposição, ciclagem de nutrientes, transformações bioquímicas específicas (nitrificação, desnitrificação, oxidação e redução do enxofre), fixação biológica do nitrogênio, ação antagônica aos patógenos, produção de substâncias promotoras ou inibidoras de crescimento, formação de agregados do solo (ANDREÓLA & FERNADES, 2007).

Inúmeros estudos têm focalizado no desenvolvimento de indicadores da qualidade ambiental e práticas de manejo do solo que restaurem e/ou melhorem a produção vegetal e biológica alvo dos impactos ambientais, contribuindo para uma agricultura sustentável (VALARINI *et al.*, 2002).

A massa microbiana é responsável direta e indiretamente por processos microbiológicos e bioquímicos diversos, os quais exercem enorme influência na produtividade e sustentabilidade dos ecossistemas terrestres. Os microrganismos ocupam 5% do espaço poroso do solo e a ocorrência de um microrganismo em um determinado solo é a expressão da sua reação às condições ambientais (SILVA *et al.*, 2004). Sabe-se também que a microbiota é o principal agente na biodegradação tanto da matéria orgânica disponível quanto de xenobióticos que atingem ou são aplicados no solo (ANDRÉA & MORENO HOLLWEG, 2004).

Os efeitos prejudiciais dos MPs no solo podem ser avaliados pela biomassa microbiana, pela composição de fosfolípídeos dos ácidos graxos, pela estrutura da comunidade, pela respiração basal e atividades enzimáticas, entre outros. O estudo da atividade enzimática do solo é um enfoque promissor ao estudo dos efeitos biológicos da poluição com MPs. Por esses métodos, os efeitos dos metais pesados no processo de decomposição podem ser elucidados em maiores detalhes do que somente com medidas de respiração do solo (TYLER, 1974).

No ecossistema edáfico, a biomassa e atividade microbianas são parâmetros importantes na avaliação dos efeitos dos MPs sobre os microrganismos do solo

(VALSECCHI *et al.*, 1995), pois a poluição causada pelo excesso dos MPs pode diminuir severamente a diversidade funcional da comunidade microbiana do solo (KANDELER *et al.*, 1996).

Os elevados níveis de MPs em solos tiveram significativos impactos no tamanho e na atividade da comunidade microbiana do solo. A remediação desses solos resultou no aumento dos indicadores da atividade biológica e do tamanho viável das populações, o que sugere a recuperação da comunidade microbiana (KELLY *et al.*, 2003).

Estudo realizado para investigar o efeito da aplicação de dois metais pesados (Cu e Zn), em duas concentrações (200 e 2000  $\mu\text{g g}^{-1}$  de solo) e em dois tipos de solo sobre a comunidade microbiana do solo e atividade de três enzimas do solo (urease, redutase do nitrato e amidase) foi realizado por HEMIDA *et al.* (1997). Estes autores observaram que a adição dos elementos geralmente causou redução na comunidade de microrganismos e atividade das enzimas do solo, afetando a atividade microbiana e a reciclagem de nutrientes no solo.

HERNÁNDEZ-ALLICA *et al.* (2006) determinaram o efeito da fitoextração de metais (Zn, Pb e Cd) pela utilização de planta hiperacumuladora de Zn, *Thlaspi caerulescens*, em parâmetros biológicos da qualidade do solo. Os autores tinham como hipótese que indicadores da qualidade do solo podem ser válidos como instrumento de monitoramento para avaliar a eficiência do processo de fitoextração de metal. A atividade das enzimas do solo -  $\beta$ -glucosidase, fosfatase ácida, arilsulfatase, urease e diacetato de fluoresceína foram determinadas e observou-se que diminuíram com o aumento da concentração de Zn no solo, mostrando que a presença do metal teve um efeito negativo em todas as enzimas, sendo a  $\beta$ -glucosidase a mais sensível.

A atividade da desidrogenase no solo reflete a atividade oxidativa total da microbiota, e, como é intracelular e de baixa atividade, quando em estado livre no solo, pode atuar como um bom indicador da atividade microbiana (GARCIA *et al.*, 1997; ANDRADE & SILVEIRA, 2004). A adição de Pb ao solo afetou a atividade da desidrogenase na rizosfera da soja em fase de florescimento, como constatado por ANDRADE & SILVEIRA (2004).

TYLER (1974) avaliou a atividade de enzimas e da respiração basal em solo contaminado com Cu e Zn e observou que houve diminuição acentuada na respiração e na atividade das enzimas urease e fosfatase ácida com aumento das concentrações de Cu e Zn e uma diminuição menos expressiva na atividade da  $\beta$ -glucosidase. A biomassa

microbiana e as atividades das enzimas diminuíram com aumento da concentração do metal pesado, sendo que as enzimas comportaram-se diferentemente entre si (KANDELER *et al.*, 1996).

Estudos mostraram que a adição de MPs influenciou a biomassa e atividade microbianas, influenciando negativamente a microbiota do solo (BERTON *et al.*, 2006; CHANDER & BROOKES, 1991b; CHANDER & JOERGENSEN, 2001).

Tanto o carbono da biomassa quanto a respiração no solo foram afetados pelo aumento na concentração de Ni. A diminuição da biomassa microbiana e da respiração do solo nos tratamentos com altas concentrações de Ni, (47 e 210 mg kg<sup>-1</sup>) foi acompanhada por um aumento no quociente metabólico que foi considerado um indicador adequado do grau de estresse causado pelo Ni sobre a comunidade microbiana do solo (BERTON *et al.*, 2006). CHANDER & BROOKES (1991b) também encontraram menor biomassa e maiores valores do  $qCO_2$  em solos contaminados com MPs. CHANDER & JOERGENSEN (2001) observaram que, em solos com altas concentrações de metais, a relação <sup>14</sup>C respirado/<sup>14</sup>C incorporado na biomassa foi maior do que em solos com baixas concentrações de metais. Já VALSECCHI *et al.* (1995) observaram que a atividade de respiração aumentou com o aumento dos metais, pois tiveram uma correlação linear positiva, enquanto que o carbono microbiano diminuiu com o aumento dos metais, tendo uma correlação negativa. O quociente microbiano também tem sido considerado bom indicador das alterações dos processos microbianos no solo (BALOTA *et al.*, 1998) e é um indicador da disponibilidade da matéria orgânica para os microrganismos (LEITE *et al.*, 2003).

Atividades relacionadas com a ciclagem de nutrientes podem ser prejudicadas pela contaminação por MP, os quais têm alta permanência no solo, sendo de difícil remoção, o que pode acarretar diminuição na mineralização da matéria orgânica. A micorrização da soja, plantada em solo contaminado por Pb, causou mudanças diretas no fornecimento de compostos orgânicos ao solo, resultando em maior atividade da microbiota da rizosfera (ANDRADE & SILVEIRA, 2004). Os autores verificaram que o Pb disponível no solo correlacionou-se negativamente com o C da biomassa. A respiração também foi usada como indicador da qualidade e observou-se que houve uma diminuição no solo sem FMA, na época de florescimento da soja, com o aumento da concentração de Pb no solo. O  $qCO_2$  revelou que a comunidade microbiana do solo sofreu um estresse na dose de 300 mg dm<sup>-3</sup> de Pb, aumentando três vezes em relação ao controle.

## **2.3 Recuperação de Áreas Contaminadas Com Metais Pesados**

FUNGARO *et al.* (2004) relatam que vários métodos têm sido desenvolvidos para a remediação de solos contaminados por MPs. Recentemente, muita atenção foi dada ao desenvolvimento de métodos de imobilização *in situ* ou estabilização química, porque são economicamente mais viáveis e não interferem na paisagem, na hidrologia e no ecossistema natural da região em comparação com as técnicas convencionais de escavação, tratamento e deposição. O principal objetivo da técnica de remediação *in situ* é aumentar a fixação do elemento tóxico que está potencialmente móvel ou biodisponível pela adição de um estabilizante.

Na busca de alternativas para despoluir áreas contaminadas por diversos compostos tem-se optado por soluções que englobam eficiência na descontaminação, simplicidade na execução, tempo demandado pelo processo e menor custo (PIRES *et al.*, 2003). Nesse contexto, a biotecnologia está desenvolvendo duas novas ferramentas: a fitorremediação e a biorremediação. Em resumo, trata-se de plantas e microrganismos – geneticamente alterados ou não – capazes de absorver poluentes do solo ou de metabolizar as substâncias nas suas variações menos tóxicas para, assim, diminuir os riscos de intoxicação da população.

### **2.3.1 Fitorremediação**

O conceito de fitorremediação tem sido desenvolvido desde 1980. Por definição, é uma biotecnologia que usa plantas para a restauração ambiental e é uma tecnologia considerada “limpa” (LEUNG *et al.*, 2006). Envolve o emprego de plantas, sua microbiota associada e de amenizantes (corretivos, fertilizantes, matéria orgânica, etc.), além de práticas agronômicas que, se aplicadas em conjunto, removem, imobilizam ou tornam os contaminantes inofensivos ao ecossistema (PIRES *et al.*, 2003).

GRATÃO *et al.* (2005) relatam que a fitorremediação de MPs em solos contaminados basicamente envolve a extração ou inativação desses metais no solo. A absorção de nutrientes do solo por raízes depende, entre diversos fatores, da movimentação de íons no solo e da habilidade de absorção das raízes. Essa habilidade é uma função do sistema morfológico e fisiológico das raízes e é diretamente influenciada

por microrganismos da rizosfera que podem manter somente contato superficial ou se estabelecerem dentro dos tecidos da raiz.

A fitorremediação depende da técnica a ser empregada, da natureza química ou da propriedade do poluente. Assim, a fitorremediação pode ser compreendida, segundo DINARDI *et al.* (2003), em: rizofiltração - técnica que emprega plantas terrestres para absorver, concentrar e/ou precipitar os contaminantes de um meio aquoso, particularmente metais pesados ou elementos radiativos, por meio de seu sistema radicular; fitodegradação - a degradação de contaminantes orgânicos por meio da atividade microbiana mais intensa que ocorre na rizosfera; fitovolatilização - uso de plantas que converte os metais do solo para espécies químicas voláteis (NASCIMENTO & XIANG, 2006); fitoestimulação - liberação de exsudatos e enzimas que incrementam as transformações bioquímicas e a mineralização em virtude da atividade microbiana e de fungos micorrízicos na rizosfera (WILSON, *et al.*, 2000 citado por PIRES *et al.*, 2005); fitoestabilização - consiste em usar plantas para reduzir a mobilidade do contaminante por estratégias de reflorestamento (GARBISU & ALKORTA, 2001); fitoextração - uso de plantas para remover metal do solo, transportar e concentrar na biomassa da parte aérea (NASCIMENTO & XIANG, 2006).

A fitoextração é o uso de plantas para remover contaminantes inorgânicos, primariamente metais, de solo poluído. Na maturidade, a biomassa vegetal enriquecida de metais é colhida e uma fração da contaminação de metais do solo é removida. O potencial das plantas para fitoextração depende da interação entre solo, metais e planta (LASAT, 2002).

Evidências indicam que as plantas têm um potencial genético de “limpar” um solo contaminado com metais tóxicos. A identificação de espécies hiperacumuladoras de metais tem sido um estímulo para a pesquisa em fitorremediação. Entretanto, apesar dos significativos esforços da pesquisa, a fitorremediação é ainda uma tecnologia emergente (LASAT, 2002).

### **2.3.1.1 Fitoextração mediada por quelante**

O sucesso da fitoextração depende da habilidade das plantas em acumular metais pesados na parte aérea em concentrações suficientemente elevadas para reduzir a sua concentração no solo a níveis toleráveis (MELO *et al.*, 2006). Há propostas para

melhorar a fitoextração pelo uso de espécies hiperacumuladoras ou plantas com grande produção de biomassa, em especial para solos relativamente pouco poluídos, tratados com substâncias químicas quelantes como o EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) ou enxofre (JURKIEWICZ *et al.*, 2004). Uma revisão da literatura sobre fitoextração revela que existem duas estratégias básicas de fitoextração: a induzida, com a aplicação de quelante e a contínua de longo prazo, sem a aplicação de quelante (SALT, *et al.*, 1998). Segundo EPSTEIN *et al.* (1999), a baixa mobilidade do metal no solo e a necessidade de translocação das raízes para a parte aérea são os principais fatores limitantes para a fitoextração de metais em solos poluídos.

Como dito anteriormente, uma das formas de aumentar a extração de metais no solo é a aplicação de agentes quelantes, definidos como qualquer estrutura da qual façam parte dois ou mais átomos possuidores de pares de elétrons não utilizados em ligações químicas primárias, mas sim, usados como "ímãs" eletrostáticos para se prenderem a íons metálicos (UFPA, 2008). Existem vários agentes quelantes tais como, EDTA, HEDTA, EGTA, DTPA, EDDHA, EDDS (HUANG *et al.*, 2007). Muitos estudos têm sido realizados usando EDTA para fitoextração de Pb, Zn e Cd em solos contaminados (BLAYLOCK *et al.*, 1997; HUANG *et al.*, 1997, ZEITOUNI, 2003).

A aplicação de EDTA ( $1 \text{ mmol kg}^{-1}$ ) aumentou a concentração de MPs na parte aérea das plantas, mas diminuiu a produção de matéria seca e afetou o desenvolvimento da cultura (ZEITOUNI, 2003). EPSTEIN *et al.* (1999) também observaram que a aplicação de EDTA em solo aumentou substancialmente a absorção de Pb pela parte aérea da planta e resultou na diminuição do seu crescimento. ZHUANG *et al.* (2005) realizaram um experimento de campo com os objetivos de avaliar a capacidade de acumulação do metal e a eficiência na extração por *Viola baoshanensis*, *Vetiver zizanioides* e Rumex K-1 (*Rumex patientia* X *R. timschmicus*) cultivados em solo contaminado com Pb, Zn e Cd e avaliar o efeito de diferentes compostos químicos (EDTA,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  e  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) na eficiência de extração por essas plantas. Os autores verificaram que o tratamento com EDTA aumentou significativamente as concentrações de Pb na parte aérea de *V. baoshanensis*, *V. zizanioides* e Rumex K-1 de 35 a  $624 \text{ mg kg}^{-1}$ , 19 a  $32 \text{ mg kg}^{-1}$  e 19 a  $194 \text{ mg kg}^{-1}$ , respectivamente. BLAYLOCK *et al.* (1997) e HUANG *et al.* (1997) compararam cinco quelantes sintéticos (EDTA, DTPA, HEDTA, CDTA e EGTA) e verificaram que a aplicação de EDTA aumentou significativamente a concentração de Pb na parte aérea de plantas. O aumento do nível acumulado de metais pesados e da

produção de biomassa da planta são importantes parâmetros para o sucesso da fitorremediação.

### **2.3.1.2 Fitoextração mediada por micorriza**

Os fungos micorrízicos crescem associados às raízes, cumprindo importantes funções ecológicas. Constituem um prolongamento do sistema radicular, aumentando significativamente a sua área de influência e fornecendo nutrientes que, de outra forma, não estariam disponíveis (QUENTAL, 2002).

A associação micorrízica é importante pelos diversos benefícios que causa para a planta hospedeira. A colonização de fungos micorrízicos nas raízes pode modificar a aquisição e a tolerância das plantas a metais (LEE & GEORGE, 2005). O aumento da absorção de metais do solo é atribuído às hifas micorrízicas e, pelo efeito indireto da micorriza, nas mudanças morfológicas e fisiológicas das raízes da planta hospedeira. VOGEL-MIKUS *et al.* (2006) relatam que o aumento da absorção de metais do solo está relacionado com o micélio extrarradicular. ANDRADE *et al.* (2005) verificaram que as hifas extrarradiculares de fungos micorrízicos são capazes de transportar Cd da solução do solo para a planta e até restringir a transferência do metal para a parte aérea devido à imobilização fúngica na raiz.

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) podem diminuir os efeitos negativos do estresse induzido por altas concentrações de metais e exercer efeito protetor à planta colonizada., pois aumentam o acesso das plantas a minerais relativamente imóveis como P, melhoram a agregação de partículas de solo e retêm os metais pesados nas raízes restringindo sua translocação para a parte aérea. (GAUR & ADHOLEYA, 2004). Os FMAs produzem também uma proteína chamada glomalina que sequestra os MPs e ajuda a melhorar o desenvolvimento das plantas e a qualidade dos solos em áreas poluídas (GONZÁLES-CHAVÉZ *et al.*, 2004).

O teor de Pb na parte aérea de plantas micorrizadas diminuiu quando comparado com plantas não micorrizadas (ANDRADE *et al.*, 2003), mas o excesso do MP teve um efeito tóxico para os FMAs. Tal excesso pode reduzir a germinação de esporos, o crescimento do micélio e, conseqüentemente, a colonização micorrízica (SILVA *et al.*, 2005).

Diferenças na eficiência de FMAs na absorção de MPs pelas plantas têm sido relatadas por vários autores, mostrando um efeito benéfico da micorriza em solos

contaminados por metais. Diferentes espécies de tais fungos mostraram grande variabilidade quanto à tolerância ao estresse por excesso de metais (ANDRADE *et al.*, 2005).

A contribuição de FMAs à tolerância a metais pela planta hospedeira está bem documentada, entretanto, os mecanismos envolvidos ainda não estão totalmente esclarecidos. Um dos mecanismos de proteção deve-se à imobilização de metais no micélio intra e extrarradicular do FMA, evitando a sua translocação para a parte aérea (GALLI *et al.*, 1995). LOTH & HÖFNER (1995) atribuíram a maior absorção de Cu, Zn e Cd pelas raízes micorrizadas de aveia à maior superfície de absorção da raiz, já que a colonização micorrízica aumentou o comprimento total da raiz. Os resultados de JONER & LEYVAL (1997) indicaram que a transferência de Cd do fungo à planta foi restrita devido à imobilização fúngica do metal. Isso concorda com estudos de localização dos elementos metálicos, em raízes micorrizadas de *Pteridium aquilinum* procedentes de solos tratados com altas doses de MPs, que mostraram que a acumulação de MPs em hifas intracelulares acontece principalmente em materiais ricos em P no interior dos vacúolos (TURNAU *et al.* 1993). TURNAU (1998), estudando a localização de MPs no interior do micélio e de raízes micorrizadas de *Euphorbia cyparissias* crescidas em local contaminado com Zn, encontraram altas concentrações de Zn na forma de cristalóides depositados no interior do micélio fúngico e das células corticais de raízes micorrizadas. O mesmo autor verificou que o Pb estava na parede celular de células epidérmicas da planta, nos pêlos radiculares, assim como no micélio do FMA.

Fungos micorrízicos tolerantes a metais podem ser encontrados em solos poluídos com MPs, mas não se sabe até que ponto eles contribuem para tolerância da planta por meio da acumulação de metais na raiz, evitando a translocação para a parte aérea. TURNAU *et al.* (1993) sugeriram que as altas concentrações de N e S junto com Cd em raízes micorrizadas de *Pteridium aquilinum*, coletada de área tratada com Cd, indicariam, de uma forma indireta, a existência de moléculas com grupos tióis, os quais são quelantes de metais.

Sabe-se que micorrizas produzem substâncias estimuladoras do crescimento, melhorando a nutrição e incrementando a produção de biomassa necessária para que a fitorremediação seja uma estratégia comercialmente viável para a descontaminação do solo. Os potenciais de fitorremediação de plantas hiperacumuladoras em solo contaminado podem ser aumentados inoculando-se fungos micorrízicos mais apropriados para o local contaminado.

WANG *et al.* (2005) realizaram um experimento cujo objetivo foi testar os efeitos de um simples FMA (*Glomus caledonium*) e uma mistura de FMAs na absorção de MP por *Elsholtzia splendens*, em solo não esterilizado. Embora todas as plantas fossem colonizadas por FMA, houve diferença significativa entre o controle e os tratamentos com inoculação, na ordem, fungo > mistura > controle. Ambos os tratamentos com inoculação de FMA tiveram aumento significativo no crescimento de plantas. As massas da matéria seca da parte aérea e raiz aumentaram respectivamente 12 e 47 % com a inoculação de *Glomus* e 31 e 95 % com a mistura. Na parte aérea, o aumento da concentração de P, Cu, Zn e Pb foi observado nas plantas colonizadas pela mistura de FMAs. Em plantas colonizadas por *Glomus* diminuiu Zn e Pb e aumentou P, mas não houve efeito sobre o Cu. Em raízes colonizadas pela mistura, houve aumento de P, Zn, Pb, superando os teores nas plantas colonizadas por *Glomus*. Também houve pouca evidência de alguma redução direta da toxicidade do metal ou aumento na tolerância do hospedeiro pela inoculação de FMA.

Os efeitos do FMA na absorção de MP pela planta hospedeira são específicos para cada metal e dependem da concentração e disponibilidade do metal, espécie de planta, espécie de FMA e das propriedades do solo (WANG *et al.*, 2005).

Na avaliação do efeito do Ni no estabelecimento de FMAs nativos na raiz do feijoeiro, observou-se que a colonização radicular pelos FMAs diminuiu linearmente com o aumento da concentração de Ni no solo, o que evidenciou certa toxicidade do Ni para a simbiose micorrízica (BERTON, *et al.*, 2006).

### **2.3.1.3 Fitoextração mediada por micorriza e EDTA**

Algumas espécies de plantas hiperacumuladoras são tipicamente micorrízicas, mas há poucas informações sobre o efeito de agentes quelantes em micorriza ou o efeito da micorriza na planta absorvente de MP mobilizado por agentes quelantes (CHEN *et al.*, 2004; JURKIEWICZ *et al.*, 2004). CHEN *et al.* (2004) estudaram o aumento da absorção de Zn, em solo experimentalmente contaminado, por plantas de milho colonizadas por FMA (*G. caledonium*) e aplicaram EDTA. Os autores verificaram que a linhagem de fungo utilizada foi tolerante à contaminação por Zn, já que todas as plantas foram infectadas e colonizadas pelo fungo. Observaram que o EDTA diminuiu o crescimento das plantas. Esse fato pode ter sido causado por um desequilíbrio na nutrição mineral das plantas, já que o acúmulo de Zn nas raízes, causado pela aplicação do EDTA, pode

ter inibido o crescimento radicular. A aplicação de EDTA, (2,5 and 10 mmol kg<sup>-1</sup>), aumentou a absorção Zn, mas não aumentou o transporte para a parte aérea, no tratamento onde não houve adição de Zn no solo. Em contraste, quando o Zn foi adicionado, houve acumulação nas folhas resultando em fitotoxicidade, apesar da ocorrência de sintomas leves. Deve-se ressaltar, no entanto, que a aplicação de EDTA não aumentou a absorção de Zn pelo caule quando comparado com os tratamentos sem aplicação de EDTA. A micorriza arbuscular mostrou efeito protetor no crescimento da planta, sob a maior adição de Zn, provavelmente devido ao transporte do Zn para a parte aérea e também devido à melhora na nutrição em P da planta hospedeira. Já no tratamento sem a adição de Zn e na presença de FMA, o acúmulo de Zn na parte aérea aumentou e o acúmulo de Zn nas raízes diminuiu. A colonização micorrízica deve ter contribuído para dar tolerância à planta hospedeira em condições de contaminação por Zn. Os dados levam a uma conclusão geral de que os efeitos combinados do EDTA e da colonização por FMA não promoveram a remoção de metais do solo. Entretanto, a pesquisa mostra evidências de diminuição da fitotoxicidade por MPs pela micorriza. Mais estudos são necessários para elucidar totalmente o potencial dos FMAs na fitorremediação de solos contaminados por metais.

JURKIEWICZ *et al.* (2004) estudaram o efeito combinado de diferentes cultivares de milho colonizadas por FMAs e da aplicação de EDTA na absorção de MPs. Eles verificaram que a colonização micorrízica, na maioria dos cultivares, aumentou a biomassa da parte aérea e diminuiu a absorção de MPs pelas plantas, o que poderia ser importante para a produção de alimentos em áreas poluídas. Entretanto, umas poucas variedades micorrizadas de milho mostraram maior concentração de Pb e Cd na parte aérea depois da aplicação de EDTA. Em alguns cultivares, plantas micorrizadas acumularam mais MPs que plantas não micorrizadas tratadas com EDTA, e em outros, o EDTA foi eficiente apenas com plantas micorrizadas. Os autores relataram que a concentração de MPs foi maior nas raízes que na parte aérea. Esse fenômeno é indesejável para a fitoextração, pois os metais permanecem na parte da planta que não é colhida. Na maioria dos cultivares, entretanto, o conteúdo de MPs foi menor em raízes micorrizadas que em raízes não micorrizadas. Concluiu-se que há potencial para aplicação da associação micorrízica no processo de fitorremediação, mas cuidados devem ser tomados para selecionar o cultivar e o isolado de fungo mais eficiente.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 O Solo

O solo utilizado no experimento foi retirado de uma área agrícola contaminada com zinco, cobre e boro pelo despejo de um resíduo de sucata, pretensamente usado como fonte de micronutrientes para a cultura da cana-de-açúcar, na região de Piracicaba, SP, e de uma área adjacente, onde não houve aplicação do resíduo, que serviu como controle. Foi realizada a diluição do solo contaminado com o controle nas seguintes proporções 0% (100% de solo controle e 0% de solo contaminado), 25% (75% de solo controle e 25% de solo contaminado), 50% (50% de solo controle e 50% de solo contaminado), 75% (25% de solo controle e 75% de solo contaminado) e 100% (0% solo controle e 100% de solo contaminado), pois se acreditava que as plantas cultivadas no solo 100% não resistiriam até o final do experimento.

A análise química do solo antes da montagem do experimento encontra-se na tabela 1.

Com base na análise prévia do solo, foram realizadas curvas de neutralização do pH para os tratamentos 0 e 25%, para equilibrar o valor de pH. De acordo com os resultados foi incluído no tratamento 0% (solo-controle) 10,2 g de mineral (CaO= 39%, MgO= 13%, PN=102% e PRNT= 91%) por vaso.

O experimento foi realizado na casa de vegetação do setor de Microbiologia do Solo do Centro de Solos e Recursos Ambientais, Instituto Agrônomo, localizado em Campinas, SP, com delineamento inteiramente casualizado e esquema fatorial 5x3x2, sendo - 5 tratamentos de misturas de solo controle e solo contaminado, 3 fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e 2 doses de EDTA, com cinco repetições.

**Tabela 1** - Análise química e teor total de elementos potencialmente tóxicos do solo no momento da instalação do experimento.

<b>Tratamento</b>	<b>M.O.</b>	<b>pH</b>	<b>P</b>	<b>K</b>	<b>Ca</b>	<b>Mg</b>	<b>H+Al</b>	<b>C.T.C</b>	<b>V%</b>	<b>B</b>	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>	<b>Zn</b>
% solo contaminado	g dm <sup>-3</sup>	CaCl <sub>2</sub>	mg dm <sup>-3</sup>	-----mmolc dm <sup>-3</sup> -----				%	-----mg dm <sup>-3</sup> -----					
0%	28	6,8	51	3,5	249	110	10	372,2	97	0,79	2,8	15	11,5	25,4
25%	28	6,8	42	3,4	209	57	12	281,4	96	6,25	13,1	31	17,6	170,2
50%	32	7,2	34	3,6	380	75	10	468,3	98	11,45	32,4	29	13,3	364,9
75%	32	7,4	64	3,3	478	66	9	556	98	13,55	40,5	16	7,7	441,7
100%	37	7,6	60	3,4	783	92	8	886,2	99	17,81	46,7	5	4,5	642,1
----- Teor Total (mg kg <sup>-1</sup> )-----														
	<b>As</b>	<b>Ba</b>	<b>Cd</b>	<b>Pb</b>	<b>Cu</b>	<b>Cr</b>	<b>Hg</b>	<b>Mo</b>	<b>Ni</b>	<b>Se</b>	<b>V</b>	<b>Zn</b>		
0 %	11,22	111,59	0,07	16,90	9,59	27,21	0,03	0,17	5,37	0,07	48,90	27,27		
100 %	0,59	502,51	2,10	313,72	293,90	159,39	0,04	1,13	51,17	0,07	71,34	3633,62		

Extratores M.O.: Oxi-Red.; pH: Sol CaCl<sub>2</sub>; P, K, Ca, Mg: Resina; H+Al: Sol. Tampão; B: Água Quente; Cu, Fe, Mn, Zn: DTPA (RAIJ & QUAGGIO, 1983).

### **3.2 Preparação dos Vasos, Inoculação e Semeadura**

A amostra de solo foi peneirada com peneira de malha de 2 mm, homogeneizada em betoneira e acondicionada em 150 vasos com capacidade para 1700 g de solo. Para cada vaso, as amostras de solo controle e contaminado foram pesadas nas devidas proporções. Após a pesagem, as amostras de solo foram homogeneizadas. No preenchimento dos vasos com o solo, foram feitas estrias entre as camadas de solo para não causar compactação.

Fez-se a inoculação de dois FMAs *Glomus macrocarpum* (GM) e *Glomus intraradices* (GI), mantendo-se um controle, sem inoculação. Como o solo não foi esterilizado, os FMAs nativos (FN) estavam presentes. Os fungos introduzidos foram inoculados na forma de solo-inóculo (2000 esporos por vaso de GI e 2300 esporos por vaso de GM), que foi adicionado sob uma camada de 2 cm de solo, abaixo de onde foram colocadas as sementes. Cinco sementes de *Canavalia ensiformis* (feijão-deporco) foram semeadas por vaso. Vinte um dias após a semeadura foi realizado o desbaste, deixando três plantas por vaso. As plantas foram irrigadas adicionando-se 200 mL de água destilada por vaso em dias alternados, de forma a manter a umidade próxima a 70% da capacidade de retenção de água do solo.

### **3.3 Aplicação do EDTA**

Para aumentar a disponibilidade dos metais no solo foi aplicado o EDTA na dose de 0,5 g kg<sup>-1</sup> de solo em metade dos vasos, mantendo-se a outra metade sem adição do quelante. A aplicação ocorreu 50 dias após a semeadura e foi realizada pela irrigação, ou seja, o EDTA foi diluído em água destilada e irrigaram-se as plantas.

### **3.4 Coleta do Experimento**

A coleta do experimento foi realizada em duas épocas de acordo com o tratamento:

1) sem a aplicação de EDTA: as plantas foram coletadas 51 dias após a semeadura. Foi retirada a parte aérea, que foi armazenada em sacos de papel. Uma amostra de solo foi coletada e acondicionada em sacos plásticos e armazenada em geladeira para posterior análise. As raízes foram acondicionadas em sacos plásticos e

levadas ao laboratório para lavagem em água corrente e armazenagem em álcool etílico 50%.

2) com a aplicação de EDTA: as plantas foram coletadas sete dias após a aplicação do EDTA, ou seja, 57 dias após a semeadura. As coletas da parte aérea, do solo e das raízes foram realizadas da mesma forma descrita anteriormente. A coleta foi realizada 7 dias após a aplicação de EDTA, uma vez que as plantas apresentaram sintomas avançados de toxicidade.

### **3.5 Análise de Fracionamento dos Metais no Solo**

O método utilizado para a realização do fracionamento foi de AHNSTROM & PARKER (1999) modificado. Foram determinados os teores de cobre e zinco ligados às seguintes frações do solo: (a) solúvel/trocável, extraído por 15 mL de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{CaCl}_2$  por 2 horas, a temperatura ambiente; (b) carbonato, extraído por 30 mL de  $1 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOac (pH 5), por 5 horas a temperatura ambiente; (c) matéria orgânica, extraído por NaClO 5-6% a pH 8,5 por 30 min, a temperatura de 90–95 °C; (d) óxidos, extraído por oxalato de amônio  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  + ácido oxálico  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  + ácido ascórbico  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  a pH 3,0 por 30 min, a temperatura de 90–95 °C; (e) residual, digestão de  $\text{HNO}_3$ –HCl e (f) total (soma das frações).

### **3.6 Análise das Variáveis de Crescimento da Planta**

#### **3.6.1 Massa da matéria seca da parte aérea e matéria fresca de raiz**

A parte aérea coletada foi seca em estufa a 60 °C até massa constante. Após a secagem, determinou-se a massa por pesagem.

A matéria fresca de raiz foi determinada por pesagem, após a lavagem em água corrente e secagem ao ar livre por ocasião da coleta.

#### **3.6.2 Determinação da concentração de macro e micronutrientes na parte aérea e no solo**

As amostras de matéria seca da parte aérea após secagem e pesagem foram moídas e submetidas à digestão nítrico - perclórica para determinação do teor de macro

e micronutrientes na parte aérea (BATAGLIA *et al.*, 1984). Os metais foram determinados por espectrofotometria de emissão em plasma, induzido em argônio (ICP/OES).

Para a análise de solo, as amostras foram compostas, juntando-se os tratamentos fúngicos por mistura de solo e analisadas: a determinação do pH foi por CaCl<sub>2</sub>; matéria orgânica pelo dicromato de potássio; P, K, Ca, Mg pela resina de troca iônica; B pelo método de água quente e Cu, Fe, Mn, Zn pelo extrator DTPA pH 7,3 (RAIJ & QUAGGIO, 1983).

### **3.6.3 Determinação da atividade de fosfatase ácida nas folhas**

Para a análise da atividade de fosfatase ácida *in vivo*, foram coletadas duas folhas do segundo par de uma das três plantas de cada vaso; as folhas foram picadas de forma a terem aproximadamente 2 mm e analisadas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 410 nm pelo método de BESTFORD (1980).

### **3.6.4 Determinação da atividade de redutase do nitrato nas folhas**

Para a análise da atividade de redutase do nitrato *in vivo*, foram coletadas duas folhas do segundo par de uma das três plantas de cada vaso; as folhas foram picadas de forma a terem aproximadamente 2 mm e analisadas pelos métodos HAGEMAN & FLESHER (1960) e HEWITT (1970) modificados, pois foram utilizados 0,5% de Tween-20 e bomba de vácuo para que o substrato tamponado ficasse em maior contato com as folhas. A leitura foi realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 540 nm.

### **3.6.5 Determinação da colonização micorrízica**

Após a pesagem para a determinação da matéria fresca de raiz, as raízes foram guardadas em álcool etílico 50% para posterior análise da colonização micorrízica. A colonização foi estimada pelo método da placa quadriculada sob microscópio estereoscópico (GIOVANETTI & MOSSE 1980), após coloração das raízes com azul de tripano pelo método de PHILLIPS & HAYMAN (1970).

### **3.7 Análise dos Indicadores Microbianos do solo**

#### **3.7.1 Carbono da biomassa microbiana ( $C_{mic}$ )**

O carbono da biomassa microbiana foi determinado pelo método da fumigação-extração (VANCE *et al.*, 1987), que consiste na extração do C das amostras de solo não fumigadas e das fumigadas e incubadas com clorofórmio por dois dias. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{g C g solo}^{-1}$  com fator de correção  $K_c$  de 2,64.

#### **3.7.2 Respiração basal do solo**

A respiração basal do solo foi determinada por titulação do NaOH  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  por HCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (ALEF, 1995). As 50 g de solo foram incubadas por três dias na presença de NaOH que reagiu com o  $\text{CO}_2$  liberado pela respiração dos microrganismos aeróbios do solo nesse período. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{g CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ solo dia}^{-1}$ .

#### **3.7.3 Atividade da enzima desidrogenase**

A atividade da enzima desidrogenase no solo foi determinada pelo método proposto por CASIDA *et al.* (1964). Cinco g de solo foram pesados e postos em tubo de ensaio com tampa rosqueável; adicionaram-se 5 ml de cloreto de 2,3,5- trifeniltetrazólio (TTC) a 1% em água; agitou-se e incubou-se em banho-maria a  $37^\circ\text{C}$  durante 24 horas no escuro. Após esse período, extraiu-se, TTC + enzima, com metanol, agitou-se. Após decantação, o sobrenadante foi retirado e centrifugado por 10 minutos a 3400 rpm, realizando-se em seguida a leitura em espectrofotômetro a 485 nm. A curva padrão foi feita com trifenil formazam (TTF) a  $30 \text{ mg L}^{-1}$  em metanol nas concentrações de 0, 3, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27 e  $30 \text{ mg L}^{-1}$ . Os resultados foram expressos em  $\mu\text{L de H g}^{-1} \text{ solo dia}^{-1}$ .

#### **3.7.4 Carbono orgânico ( $C_{org}$ )**

A determinação do carbono orgânico baseou-se na oxidação do C orgânico pelo dicromato de potássio. O excesso de dicromato não reduzido pela oxidação do C

orgânico foi determinado por titulação com sulfato ferroso amoniacal 0,2 mol L<sup>-1</sup> (CANTARELLA *et al.*, 1999). O valor foi expresso em mg C g<sup>-1</sup> de solo.

### **3.7.5 Quociente metabólico ( $qCO_2$ )**

O quociente metabólico é dado pela relação entre a respiração basal e o carbono da biomassa microbiana, ou seja, representa a quantidade de C-CO<sub>2</sub> liberada por unidade de C-biomassa microbiana (ANDERSON, 1994). Os resultados foram expressos em ng CO<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>.

### **3.7.6 Quociente microbiano ( $qMIC$ )**

O quociente microbiano é dado pela razão entre o carbono da biomassa microbiana (C<sub>mic</sub>) e o carbono orgânico (C<sub>org</sub>) e indica a qualidade da matéria orgânica (SPARLING, 1992).

## **3.8 Análise Estatística**

Os dados foram submetidos à análise de regressão e teste de Tukey a 5% utilizando-se o programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2000). As variáveis atividade da redutase do nitrato, quociente metabólico e quociente microbiano foram transformadas em raiz quadrada de  $x + 1,0$ .

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Resultado das análises do solo

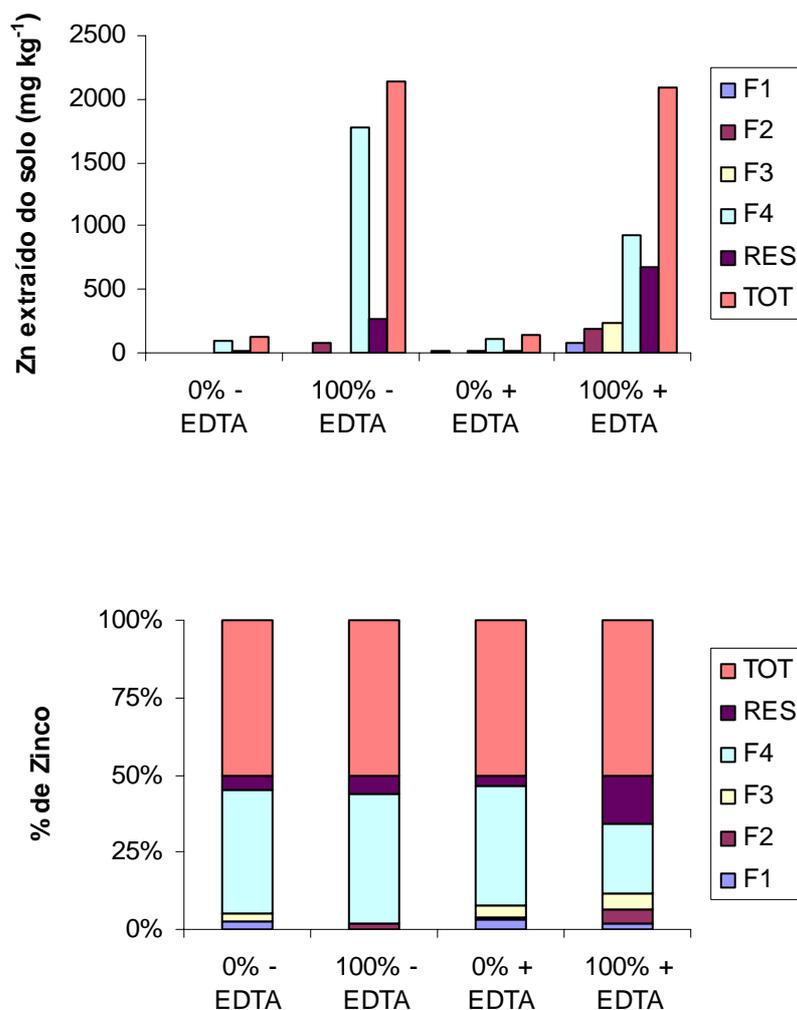
As concentrações de B, Zn e Cu no solo, com exceção do Mn que não apresentou um padrão de distribuição, aumentaram com o aumento da porcentagem da mistura de solo contaminado - solo controle, caracterizando um gradiente de concentração no solo (Tabela 1). Comparando-se os resultados das amostras de solo antes (Tabela 1) e após (Tabela 2) o experimento, verifica-se que houve diminuição na concentração de B, Cu e Zn no solo com maior porcentagem de solo contaminado.

A análise química do solo também mostrou que as concentrações de P e de Mn no solo diminuíram com o aumento da porcentagem da mistura de solo controle - solo contaminado (Tabela 2). Já as concentrações de Ca e Fe aumentaram com a contaminação do solo e as concentrações de K e o Mg não tiveram variação significativa (Tabela 2). No geral, a adição de EDTA alterou pouco a concentração dos elementos no solo.

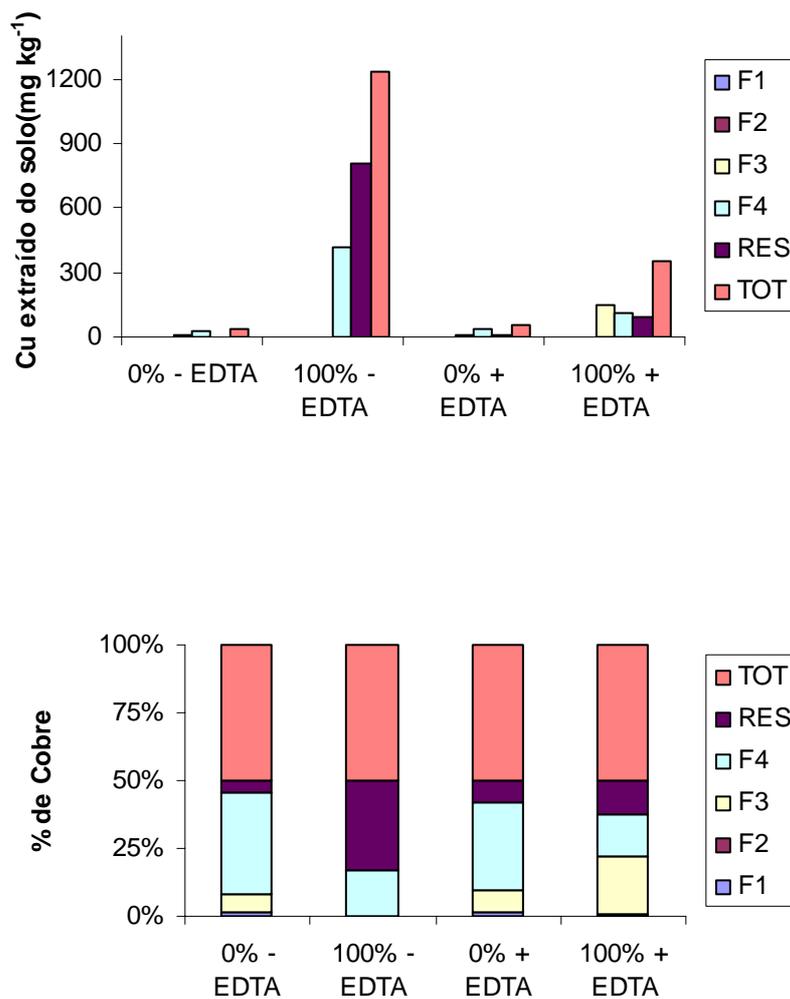
O EDTA disponibilizou maior porcentagem de Zn para as frações de matéria orgânica e solúvel+trocável, independentemente do solo contaminado ou não contaminado. No solo controle, antes da aplicação do EDTA, notou-se que o Zn estava, principalmente, na forma de óxido, seguido pelo solúvel+trocável e matéria orgânica. Depois da aplicação do EDTA, parte do Zn que estava na forma residual foi mobilizada para o solúvel+trocável, ou seja, para a forma mais disponível (Figura 1). No solo contaminado, o Zn estava presente principalmente na forma de óxido, que é menos disponível, seguido pelo carbonato; com a adição do EDTA, este Zn, em grande quantidade, passou para a forma de solúvel+trocável. No solo contaminado foi encontrada maior quantidade de Zn nas formas mais disponíveis que no solo controle (Figura 1).

O efeito do EDTA na disponibilidade do Cu foi similar ao verificado para o Zn, contudo para o Cu tal efeito foi mais pronunciado. No solo controle, antes da aplicação do EDTA, o Cu foi encontrado em maior quantidade na forma de óxidos, seguido pela matéria orgânica e residual. Depois da aplicação do EDTA, aumentou a quantidade de Cu na forma de solúvel+trocável e na matéria orgânica (Figura 2). No solo contaminado, antes da aplicação do EDTA, o Cu estava na forma residual, seguido pelo

óxido e matéria orgânica. Depois da aplicação do EDTA, o Cu foi mobilizado da forma residual para a forma solúvel+trocável, carbonato e matéria orgânica. No solo contaminado foi encontrado maior quantidade de Cu nas formas mais disponíveis que no solo controle (Figura 2).



**Figura 1** - Distribuição dos teores médios de zinco nas frações do solo em amostras de solo controle antes da aplicação de EDTA (0% - EDTA), solo contaminado antes da aplicação de EDTA (100% - EDTA), solo controle depois da aplicação de EDTA (0% + EDTA) e solo contaminado depois da aplicação de EDTA (100% + EDTA). Legenda – F1- solúvel+trocável; F2- Carbonato; F3- Matéria orgânica; F4- Óxidos; RES- Residual; TOT- Total (Soma das frações).



**Figura 2** - Distribuição dos teores médios de cobre nas frações do solo em amostras de solo controle antes da aplicação de EDTA (0% - EDTA), solo contaminado antes da aplicação de EDTA (100% - EDTA), solo controle depois da aplicação de EDTA (0% + EDTA) e solo contaminado depois da aplicação de EDTA (100% + EDTA). Legenda – F1- solúvel+trocável; F2- Carbonato; F3- Matéria orgânica; F4- Óxidos; RES- Residual; TOT- Total (Soma das frações).

**Tabela 2** - Análise química do solo no término experimento.

Tratamento	M.O.	pH	P	K	Ca	Mg	H+Al	S.B.	C.T.C.	V%	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	g dm <sup>-3</sup>		mg dm <sup>-3</sup>			mmolc dm <sup>-3</sup>				%		mg dm <sup>-3</sup>			
Solo 0 % antes da aplicação de EDTA	27	7,1	82	2,1	168	51	10	221,1	230,8	96	0,66	3,3	12	8,7	28,3
Solo 0 % depois da aplicação de EDTA	25	7,2	71	1,9	152	48	10	201,9	211,6	95	0,64	2,9	10	2,9	33,1
Solo 25 % antes da aplicação de EDTA	25	7,2	59	1,7	217	48	9	266,7	275,4	97	5,51	14,8	12	2,2	175,1
Solo 25 % depois da aplicação de EDTA	27	7,2	67	1,9	191	42	10	234,9	244,6	96	5,71	12,6	12	2,1	178,8
Solo 50 % antes da aplicação de EDTA	27	7,4	51	1,6	217	41	8	259,6	267,4	97	9,32	19,7	15	1,7	255,5
Solo 50 % depois da aplicação de EDTA	25	7,4	53	1,8	312	67	9	380,8	389,5	98	9,49	22,7	15	1,6	291,9
Solo 75 % antes da aplicação de EDTA	26	7,5	46	1,8	309	48	8	358,8	366,6	98	12,41	27,9	17	1,6	341,8
Solo 75 % depois da aplicação de EDTA	25	7,6	39	1,9	367	55	8	423,9	431,7	98	12,66	28,2	16	1,2	352,5
Solo 100 % antes da aplicação de EDTA	26	7,7	38	1,8	472	53	7	526,8	533,9	99	14,3	38,7	15	0,8	456,8
Solo 100 % depois da aplicação de EDTA	25	7,7	42	1,6	437	53	7	491,6	498,7	99	14,34	35,8	16	0,8	439,2

Extratores M.O.: Oxi-Red.; pH: CaCl<sub>2</sub>; P, K, Ca, Mg: Resina; H+Al: Sol. Tampão; B: Água Quente; Cu, Fe, Mn, Zn: DTPA (RAIJ & QUAGGIO, 1983).

## 4.2. Parâmetros Relacionados à Planta

### 4.2.1 Crescimento da planta

Para matéria fresca de raiz (Figura 3) a maioria dos tratamentos apresentou ajuste quadrático em relação às proporções de solo -controle e contaminado (Figura 3) e às concentrações de Cu, Zn e B no solo (Tabela 3) e somente os tratamentos FN+GM antes e FN+GI depois da aplicação de EDTA não mostraram ajuste significativo. No geral, houve aumento na produção de matéria fresca de raiz a partir da proporção de 38%, o que representa aproximadamente 256 mg kg<sup>-1</sup> de Zn, 7 mg kg<sup>-1</sup> de B e 22 mg kg<sup>-1</sup> de Cu no solo (Tabela 3).

Antes da aplicação do EDTA, plantas colonizadas por FN+GI mostraram diminuição na massa de matéria fresca de raiz a partir das concentrações 9,94 mg kg<sup>-1</sup> de B, 27,0 mg kg<sup>-1</sup> de Cu e 353,4 mg kg<sup>-1</sup> de Zn no solo, ao contrário das plantas colonizadas por FN que aumentaram, enquanto que as plantas colonizadas FN+GM não apresentaram ajuste significativo (Figura 3 e Tabela 3).

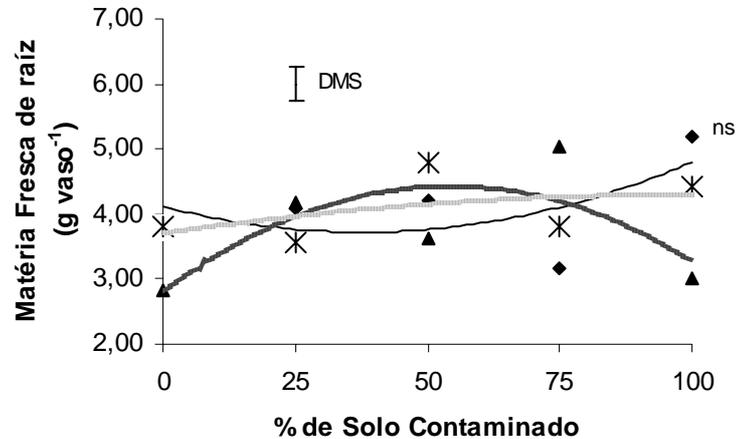
Depois da aplicação de EDTA, houve aumento significativo na massa da matéria fresca de raiz para as plantas colonizadas por FN e FN+GM, enquanto que para as plantas colonizadas por FN+GI não houve ajuste significativo. Depois da aplicação de EDTA as plantas apresentaram maior matéria fresca de raiz em todos os tratamentos (Figura 3).

A massa da matéria fresca de raiz aumentou em plantas colonizadas por FN, FN+GM depois da aplicação do EDTA e plantas colonizadas por FN antes da aplicação de EDTA, quando cultivadas em solo contaminado com 100% do resíduo em comparação com os mesmos tratamentos obtidos no solo-controle. Os demais tratamentos não apresentaram diferença entre o solo com 100% de resíduo e o solo-controle.

$$\blacklozenge y = 0,000277x^2 - 0,020857x + 4,113714 \quad R^2 = 0,34^*$$

$$\blacktriangle y = -0,000551x^2 + 0,059966x + 2,799429 \quad R^2 = 0,55^*$$

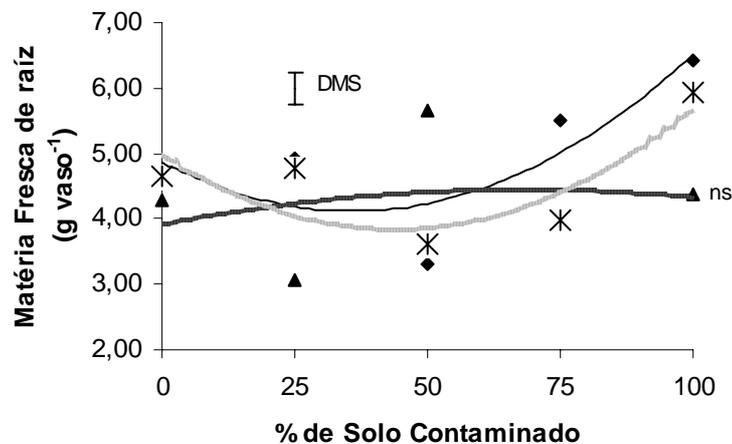
#### Antes da aplicação do EDTA



$$\blacklozenge y = 0,000583x^2 - 0,041886x + 4,872571 \quad R^2 = 0,68^*$$

$$\blacktriangle y = 0,000590x^2 - 0,052091x + 4,985143 \quad R^2 = 0,74^*$$

#### Depois da aplicação do EDTA



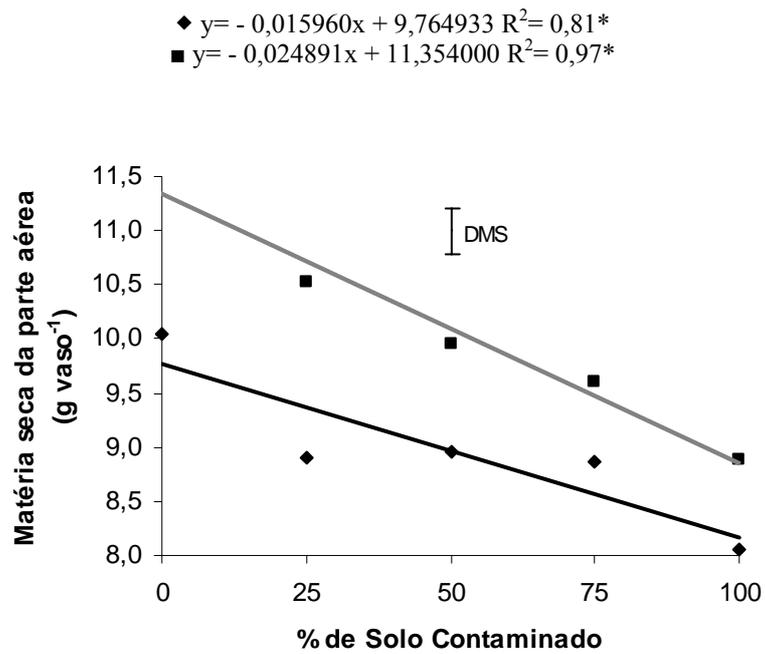
**Figura 3** - Matéria fresca de raiz de feijão-de-porco, em função da porcentagem de solo contaminado, colonizado por  $\blacklozenge$  FN (Fungos micorrízicos arbusculares nativos do solo);  $\blacktriangle$  FN + GI (*Glomus intraradices*);  $*$  FN + GM (*Glomus macrocarpum*). ns - não significativo, \* significância de 5%. DMS – diferença mínima significativa, pelo teste de Tukey a 5%, que compara os tratamentos dentro de cada proporção de solo contaminado.

A matéria seca da parte aérea, independentemente do FMA, diminuiu linearmente com o aumento na concentração dos MPs e B no solo (Figura 4 e Tabela 3). Depois da adição de EDTA, assim como para matéria fresca de raiz, mostraram maior produção de matéria seca, em todas as proporções de solo- controle e solo contaminado (Figura 4).

**Tabela 3** - As equações de regressão para matéria fresca de raiz e matéria seca da parte aérea em função da concentração de boro, cobre e zinco no solo.

Elemento	Tratamentos	Equação	Ponto de inflexão	
Matéria fresca de raiz	B	FN - EDTA	$y = 0,010149x^2 - 0,142622x + 4,166809$ $R^2 = 0,34^*$	7,03
		FN + EDTA	$y = 0,019331x^2 - 0,273538x + 5,094664$ $R^2 = 0,55^*$	7,08
		FN+GI - EDTA	$y = - 0,019335x^2 + 0,384389x + 2,496740$ $R^2 = 0,58^*$	-9,94
		FN+GM + EDTA	$y = 0,019182x^2 - 0,318912x + 5,195071$ $R^2 = 0,60^*$	8,31
	Cu	FN - EDTA	ns	----
		FN + EDTA	$y = 0,003939 - 0,168085x + 5,540001$ $R^2 = 0,62^*$	21,34
		FN+GI - EDTA	$y = -0,002671x^2 + 0,144569x + 2,511610$ $R^2 = 0,40^*$	-27,06
		FN+GM + EDTA	$y = 0,003238x^2 - 0,152966x + 5,466366$ $R^2 = 0,53^*$	23,62
Zn	FN - EDTA	$y = 0,000009x^2 - 0,004272x + 4,199707$ $R^2 = 0,49^*$	237,33	
	FN + EDTA	$y = 0,000014x^2 - 0,006836x + 5,047041$ $R^2 = 0,58^*$	244,14	
	FN+GI - EDTA	$y = -0,000015x^2 + 0,010602x + 2,601466$ $R^2 = 0,6^*$	-353,4	
	FN+GM + EDTA	$y = 0,000016x^2 - 0,009235x + 5,203934$ $R^2 = 0,76^*$	288,59	
Matéria seca da parte aérea	B	Antes do EDTA	$y = - 0,097766x + 9,941658$ $R^2 = 0,85^*$	----
		Depois do EDTA	$y = - 0,150529x + 11,610242$ $R^2 = 0,99^*$	----
	Cu	Antes do EDTA	$y = - 0,032145x + 9,838057$ $R^2 = 0,72^*$	----
		Depois do EDTA	$y = - 0,052294x + 11,526645$ $R^2 = 0,95^*$	----
	Zn	Antes do EDTA	$y = - 0,002661x + 9,841978$ $R^2 = 0,82^*$	----
		Depois do EDTA	$y = - 0,004117x + 11,463389$ $R^2 = 0,97^*$	----

FN – EDTA – Fungos nativos antes da aplicação de EDTA; FN + EDTA – Fungos nativos depois da aplicação de EDTA; FN+GI – EDTA – Fungos nativos + *Glomus intraradices* antes da aplicação de EDTA; FN+GM + EDTA – Fungos nativos + *Glomus macrocarpum*. ns- não significativo, \* Significativo a 5%



**Figura 4** - Matéria seca da parte aérea de feijão-de-porco em função da porcentagem de solo contaminado. ◆ Antes da aplicação de EDTA; ■ Depois da aplicação de EDTA, \* significância de 5%.

#### 4.2.2 Colonização micorrízica

A colonização micorrízica diminuiu com o aumento na proporção de solo contaminado em todos os tratamentos, apresentando um ajuste quadrático, exceto nas plantas colonizadas por FN+GM, depois da aplicação de EDTA. Neste tratamento houve um aumento até a proporção de 45%, o que representa 293 0 mg kg<sup>-1</sup> de Zn, 8 mg kg<sup>-1</sup> de B e 23 mg kg<sup>-1</sup> de Cu no solo (Tabela 4), diminuindo nas concentrações maiores. As plantas colonizadas por FN+GM, antes da aplicação de EDTA, apresentaram ajuste linear, ou seja, a colonização diminuiu com a concentração dos MPs e B no solo (Figura 5). A aplicação de EDTA não resultou em diferenças significativas entre os tratamentos.

A colonização micorrízica diminuiu no solo com 100% de solo contaminado quando comparado com o solo controle em todos os tratamentos (Figura 5). Plantas cultivadas no solo 100% de resíduo apresentaram similar colonização micorrízica, independentemente do FMA inoculado.

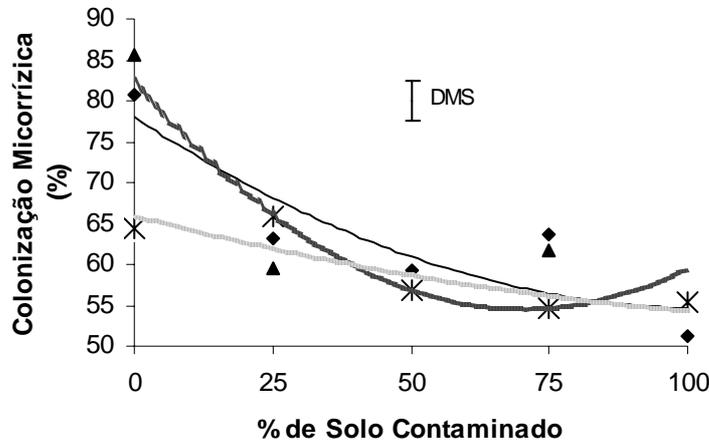
**Tabela 4** - Equações de regressão para colonização micorrízica em função da concentração de boro, cobre e zinco no solo.

	Elemento	Tratamentos	Equação	Ponto de inflexão
Colonização Micorrízica	B	FN - EDTA	$y = 0,050654x^2 - 2,409065x + 0,842024$ $R^2 = 0,85^*$	23,78
		FN + EDTA	$y = 0,130072x^2 - 3,388860x + 79,154628$ $R^2 = 0,64^*$	13,03
		FN+GI - EDTA	$y = 0,171545x^2 - 4,54325x + 87,220720$ $R^2 = 0,87^*$	13,24
		FN+GI + EDTA	$y = 0,137862x^2 - 4,086790x + 86,816666$ $R^2 = 0,87^*$	14,82
		FN+GM - EDTA	$y = -0,94883x + 66,23319$ $R^2 = 0,76^*$	-----
		FN+GM + EDTA	$y = -0,120522x^2 + 2,060057x + 56,896849$ $R^2 = 0,93^*$	-8,55
	Cu	FN - EDTA	$y = 0,011504x^2 - 1,054687x + 80,590019$ $R^2 = 0,75^*$	45,84
		FN + EDTA	$y = 0,025668x^2 - 1,571125x + 79,489378$ $R^2 = 0,57^*$	30,60
		FN+GI - EDTA	$y = 0,031957x^2 - 2,068625x + 87,740194$ $R^2 = 0,81^*$	32,36
		FN+GI + EDTA	$y = 0,023347x^2 - 1,669024x + 86,237334$ $R^2 = 0,77^*$	35,74
		FN+GM - EDTA	$y = -0,265036x + 66,577807$ $R^2 = 0,88^*$	-----
		FN+GM + EDTA	$y = -0,019652x^2 + 0,916581x + 56,257925$ $R^2 = 0,93^*$	-23,32
	Zn	FN - EDTA	$y = 0,000043x^2 - 0,068297x + 79,457250$ $R^2 = 0,81^*$	794,15
		FN + EDTA	$y = 0,000085x^2 - 0,081842x + 76,643338$ $R^2 = 0,53^*$	481,42
		FN+GI - EDTA	$y = 0,000130x^2 - 0,124736x + 84,849916$ $R^2 = 0,79^*$	479,75
		FN+GI + EDTA	$y = 0,000107x^2 - 0,111091x + 84,668188$ $R^2 = 0,80^*$	519,11
		FN+GM - EDTA	$y = -0,019175x + 65,701379$ $R^2 = 0,76^*$	-----
		FN+GM + EDTA	$y = -0,000084x^2 + 0,049326x + 57,915363$ $R^2 = 0,87^*$	-293,60

FN - EDTA - Fungos nativos antes da aplicação de EDTA; FN + EDTA - Fungos nativos depois da aplicação de EDTA; FN+GI - EDTA - Fungos nativos + *Glomus intraradices* antes da aplicação de EDTA; FN+GI + EDTA - Fungos nativos + *Glomus intraradices* depois da aplicação de EDTA; FN+GM - EDTA - Fungos nativos + *Glomus macrocarpum* antes da aplicação de EDTA. FN+GM + EDTA - Fungos nativos + *Glomus macrocarpum* depois da aplicação de EDTA. \* significativo a 5%

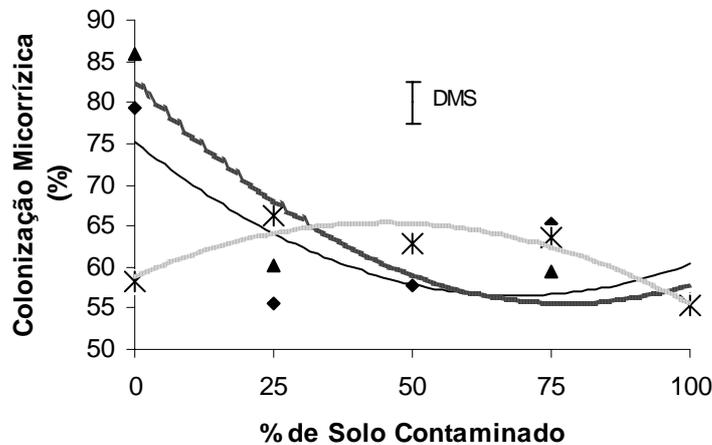
$\blacklozenge y = 0,001892x^2 - 0,427039x + 78,014405 R^2 = 0,81^*$   
 $\blacktriangle y = 0,005580x^2 - 0,788154x + 82,342095 R^2 = 0,81^*$   
 $* y = -0,116253x + 65,208000 R^2 = 0,76^*$

**Antes da aplicação do EDTA**



$\blacklozenge y = 0,003945x^2 - 0,542516x + 75,171619 R^2 = 0,55^*$   
 $\blacktriangle y = 0,004463x^2 - 0,693819x + 82,543905 R^2 = 0,83^*$   
 $* y = -0,003259x^2 + 0,293918x + 58,772857 R^2 = 0,85^*$

**Depois da aplicação do EDTA**



**Figura 5** - Colonização micorrízica em raízes de feijão-de-porco em função da porcentagem de solo contaminado colonizado por  $\blacklozenge$  FN (Fungos micorrízicos arbusculares nativos do solo);  $\blacktriangle$  FN + GI (*Glomus intraradices*);  $*$  FN + GM (*Glomus macrocarpum*), \* significância de 5%. DMS – diferença mínima significativa, pelo teste de Tukey a 5%, que compara entre os tratamentos dentro de cada proporção de solo contaminado.

### 4.2.3 Atividade das enzimas fosfatase ácida e redutase do nitrato em folha

No geral, a aplicação de EDTA aumentou a atividade das enzimas fosfatase ácida (Figura 6) e redutase do nitrato (Figura 7) em todos os tratamentos fúngicos.

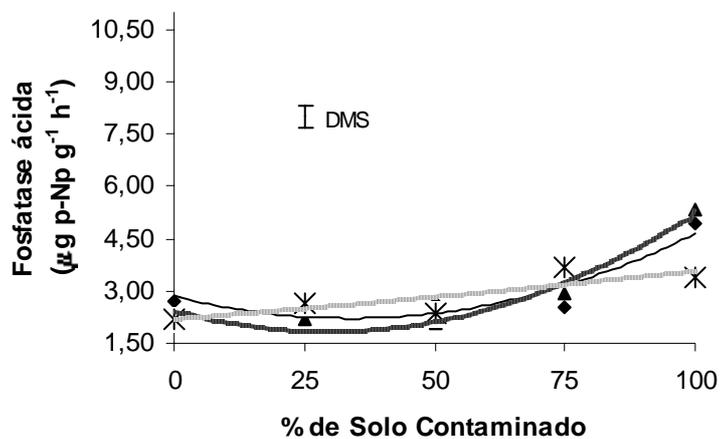
A atividade da fosfatase ácida nas folhas em relação às proporções de solo contaminado (Figura 6) e concentrações de Zn, Cu e B no solo (Tabela 5) mostrou ajuste linear para as plantas colonizadas por FN+GM. Nos demais tratamentos, o ajuste foi quadrático, aumentando a partir de 35% da mistura solo - controle e solo contaminado, ou seja, cerca de 200, e 15 mg kg<sup>-1</sup> de Zn, B e Cu no solo, respectivamente (Tabela 5). A atividade da fosfatase ácida foi maior no solo contaminado do que no solo controle em todos os tratamentos (Figura 6). No solo contaminado (100%), as plantas após aplicação de EDTA apresentaram significativamente maior atividade da enzima em todos os tratamentos fúngicos, mas principalmente quando colonizadas por FN+GI. No solo - controle também houve maior atividade da fosfatase nas folhas após aplicação do EDTA.

Em relação à atividade da redutase do nitrato nas folhas, constatou-se que o ajuste em função das proporções de solo-controle e contaminado e da concentração dos MPs e B no solo não foi significativo nas plantas colonizadas por FN+GM, antes e depois da aplicação de EDTA, e nas colonizadas por FN e FN+GI, antes da aplicação do EDTA (Figura 7). Nos tratamentos FN e FN+GM depois da aplicação de EDTA, o ajuste foi quadrático, sendo que a atividade aumentou a partir de 50% da mistura solo – controle e solo contaminado, o que corresponde a aproximadamente 280 mg kg<sup>-1</sup> de Zn, 7 mg kg<sup>-1</sup> de B e 21 mg kg<sup>-1</sup> de Cu no solo (Tabela 5), o que também foi observado nas demais variáveis (Figura 7).

Com a aplicação de EDTA as plantas apresentaram maior atividade da redutase do nitrato nas folhas, em todos os tratamentos fúngicos. No solo contaminado (100%), as plantas colonizadas por FN mostraram significativamente maior atividade da enzima (Figura 7).

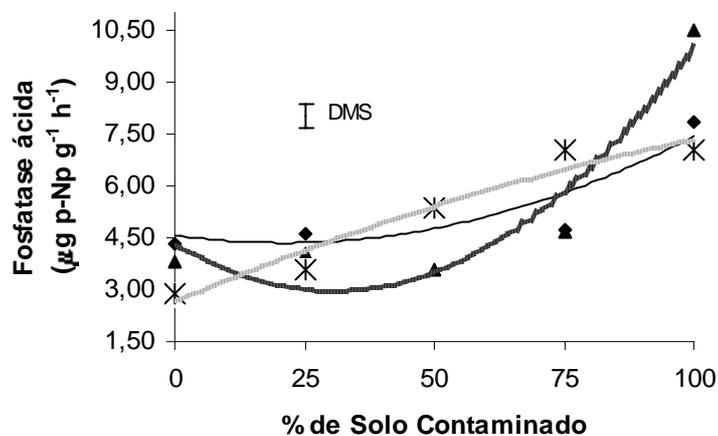
$\blacklozenge y = 0,000565x^2 - 0,038762x + 2,861857 R^2 = 0,84^*$   
 $\blacktriangle y = 0,000683x^2 - 0,040693x + 2,435333 R^2 = 0,97^*$   
 $* y = 0,013840x + 2,162000 R^2 = 0,69^*$

**Antes da aplicação do EDTA**



$\blacklozenge y = 0,000491x^2 - 0,020556x + 4,564952 R^2 = 0,79^*$   
 $\blacktriangle y = 0,001463x^2 - 0,090310x + 4,345714 R^2 = 0,94^*$   
 $* y = 0,046840x + 2,842667 R^2 = 0,94^*$

**Depois da aplicação do EDTA**

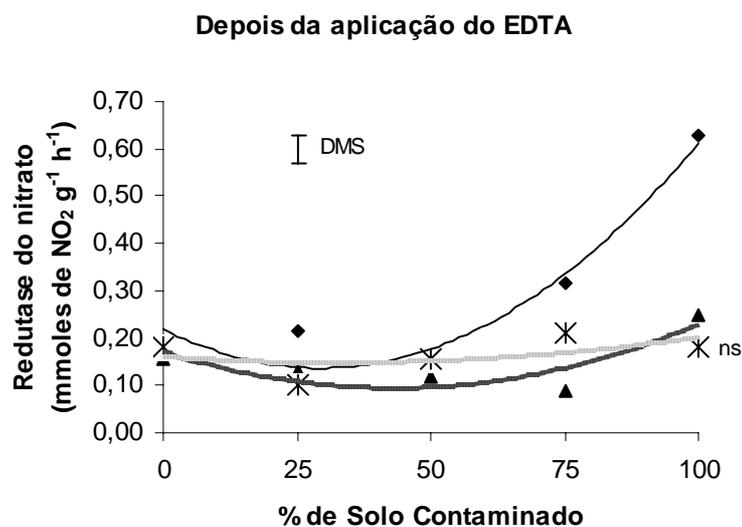
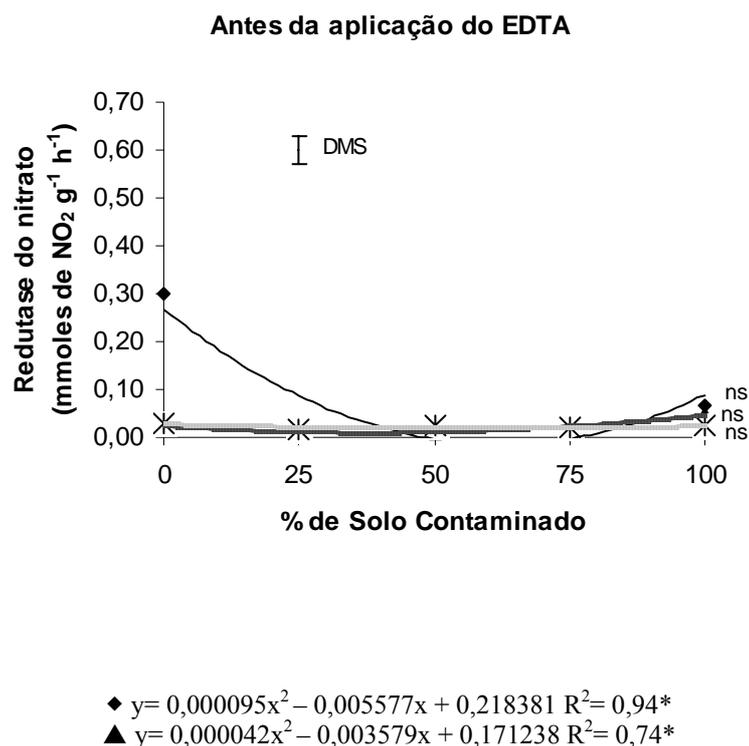


**Figura 6** - Atividade da enzima fosfatase ácida nas folhas de feijão-de-porco em função da porcentagem de solo contaminado colonizado por  $\blacklozenge$  FN (Fungos micorrízicos arbusculares nativos do solo);  $\blacktriangle$  FN + GI (*Glomus intraradices*);  $*$  FN + GM (*Glomus macrocarpum*); \* significância de 5%. DMS – diferença mínima significativa, pelo teste de Tukey a 5%, que compara entre os tratamentos dentro de cada proporção de solo contaminado.

**Tabela 5** - Equações de regressão para a atividade das enzimas redutase do nitrato e fosfatase ácida em função da concentração de boro, cobre e zinco no solo.

	Elemento	Tratamentos	Equação	Ponto de inflexão	
Redutase do Nitrato	B	FN + EDTA	$y = 0,003512x^2 - 0,042630x + 0,249967$ $R^2 = 0,88^*$	6,06	
		FN+GI + EDTA	$y = 0,001457x^2 - 0,023613x + 1,089894$ $R^2 = 0,73^*$	8,10	
	Cu	FN + EDTA	$y = 0,000630x^2 - 0,023901x + 0,307691$ $R^2 = 0,82^*$	18,97	
		FN+GI + EDTA	$y = 0,000225x^2 - 0,010289x + 0,199527$ $R^2 = 0,54^*$	22,86	
	Zn	FN + EDTA	$y = 0,000002x^2 - 0,000966x + 0,238924$ $R^2 = 0,92^*$	241,5	
		FN+GI + EDTA	$y = 0,000001x^2 - 0,000642x + 0,184484$ $R^2 = 0,85^*$	321,00	
Fosfatase ácida	B	FN - EDTA	$y = 0,020932x^2 - 0,281950x + 3,052905$ $R^2 = 0,87^*$	6,73	
		FN + EDTA	$y = 0,020311x^2 - 0,202265x + 4,668406$ $R^2 = 0,85^*$	4,97	
		FN+GI - EDTA	$y = 0,025832x^2 - 0,319931x + 2,680687$ $R^2 = 0,94^*$	6,19	
		FN+GI + EDTA	$y = 0,054641x^2 - 0,686451x + 4,822063$ $R^2 = 0,90^*$	6,28	
		FN+GM - EDTA	$y = 0,076479x + 2,091501$ $R^2 = 0,59^*$	----	
		FN+GM + EDTA	$y = 0,276714x + 2,425829$ $R^2 = 0,92^*$	----	
	Cu	FN - EDTA	$y = 0,003301x^2 - 0,130345x + 3,250955$ $R^2 = 0,70^*$	19,74	
		FN + EDTA	$y = 0,020977x^2 - 0,091337x + 4,848448$ $R^2 = 0,67^*$	2,17	
		FN+GI - EDTA	$y = 0,004467x^2 - 0,169126x + 3,031856$ $R^2 = 0,87^*$	18,93	
		FN+GI + EDTA	$y = 0,009137x^2 - 0,348520x + 5,532771$ $R^2 = 0,78^*$	19,07	
		FN+GM - EDTA	$y = 0,027679x + 2,103898$ $R^2 = 0,61^*$	----	
		FN+GM + EDTA	$y = 0,101454x + 2,435258$ $R^2 = 0,97^*$	----	
		Zn	FN - EDTA	$y = 0,000015x^2 - 0,006843x + 2,984092$ $R^2 = 0,94^*$	228,10
			FN + EDTA	$y = 0,000014x^2 - 0,004270x + 4,627836$ $R^2 = 0,89^*$	152,50
FN+GI - EDTA	$y = 0,000018x^2 - 0,007088x + 2,571516$ $R^2 = 0,98^*$		196,89		
FN+GI + EDTA	$y = 0,000039x^2 - 0,016210x + 4,670337$ $R^2 = 0,96^*$		207,82		
FN+GM - EDTA	$y = 0,002095x + 2,164976$ $R^2 = 0,58^*$		----		
FN+GM + EDTA	$y = 0,007596x + 2,686494$ $R^2 = 0,91^*$		----		

FN - EDTA - Fungos nativos antes da aplicação de EDTA; FN + EDTA - Fungos nativos depois da aplicação de EDTA; FN+GI - EDTA - Fungos nativos + *Glomus intraradices* antes da aplicação de EDTA; FN+GI + EDTA - Fungos nativos + *Glomus intraradices* depois da aplicação de EDTA; FN+GM - EDTA - Fungos nativos + *Glomus macrocarpum* antes da aplicação de EDTA. FN+GM + EDTA - Fungos nativos + *Glomus macrocarpum* depois da aplicação de EDTA. \* significativo a 5%



**Figura 7** - Atividade da enzima redutase do nitrato nas folhas de feijão-de-porco em função da porcentagem de solo contaminado colonizado por ◆ FN (Fungos micorrízicos arbusculares nativos do solo); ▲ FN + GI (*Glomus intraradices*); \* FN + GM (*Glomus macrocarpum*); ns não significativo, \* significância de 5%. DMS – diferença mínima significativa, pelo teste de Tukey a 5%, que compara entre os tratamentos dentro de cada proporção de solo contaminado.

#### **4.2.4 Concentração e acúmulo de nutrientes na parte aérea das plantas**

A concentração e o acúmulo de Zn na parte aérea das plantas foi significativamente maior no solo contaminado do que no solo - controle (Figuras 8 e 9).

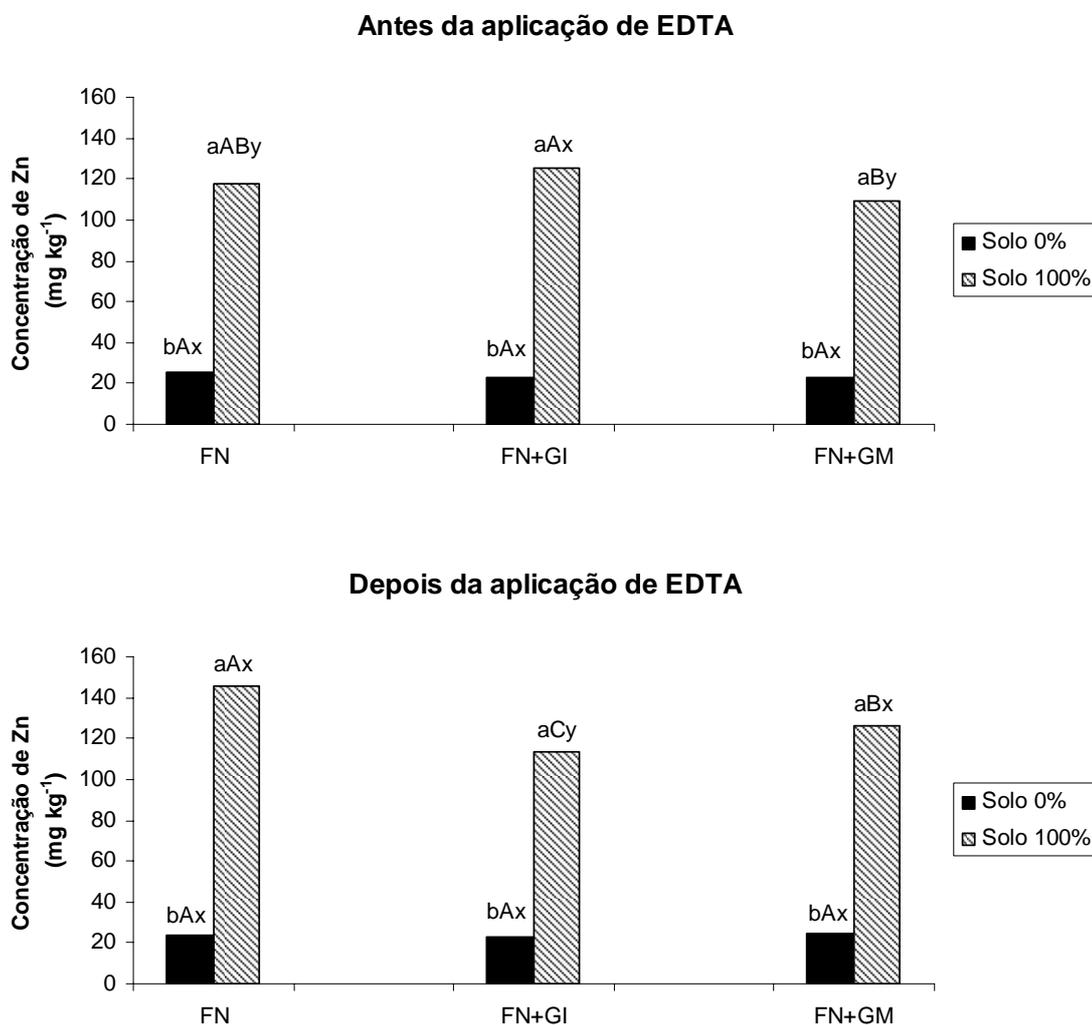
Antes da aplicação de EDTA, houve uma tendência das plantas colonizadas por FN+GI apresentarem maior concentração de Zn na parte aérea, em relação ao tratamento FN, no solo contaminado. A menor concentração de Zn foi verificada no tratamento FN+GM, enquanto que para o solo controle não houve diferença significativa entre os tratamentos fúngicos (Figura 8).

Depois da aplicação do EDTA, a concentração de Zn na parte aérea das plantas colonizadas por FN foi significativamente maior que nas plantas colonizadas por FN+GM e FN+GI, as quais também diferiram entre si, sendo que neste último tratamento (FN+GI) as plantas apresentaram as menores concentrações de Zn, quando crescidas no solo contaminado. No solo controle as plantas dos diferentes tratamentos não diferiram significativamente entre si.

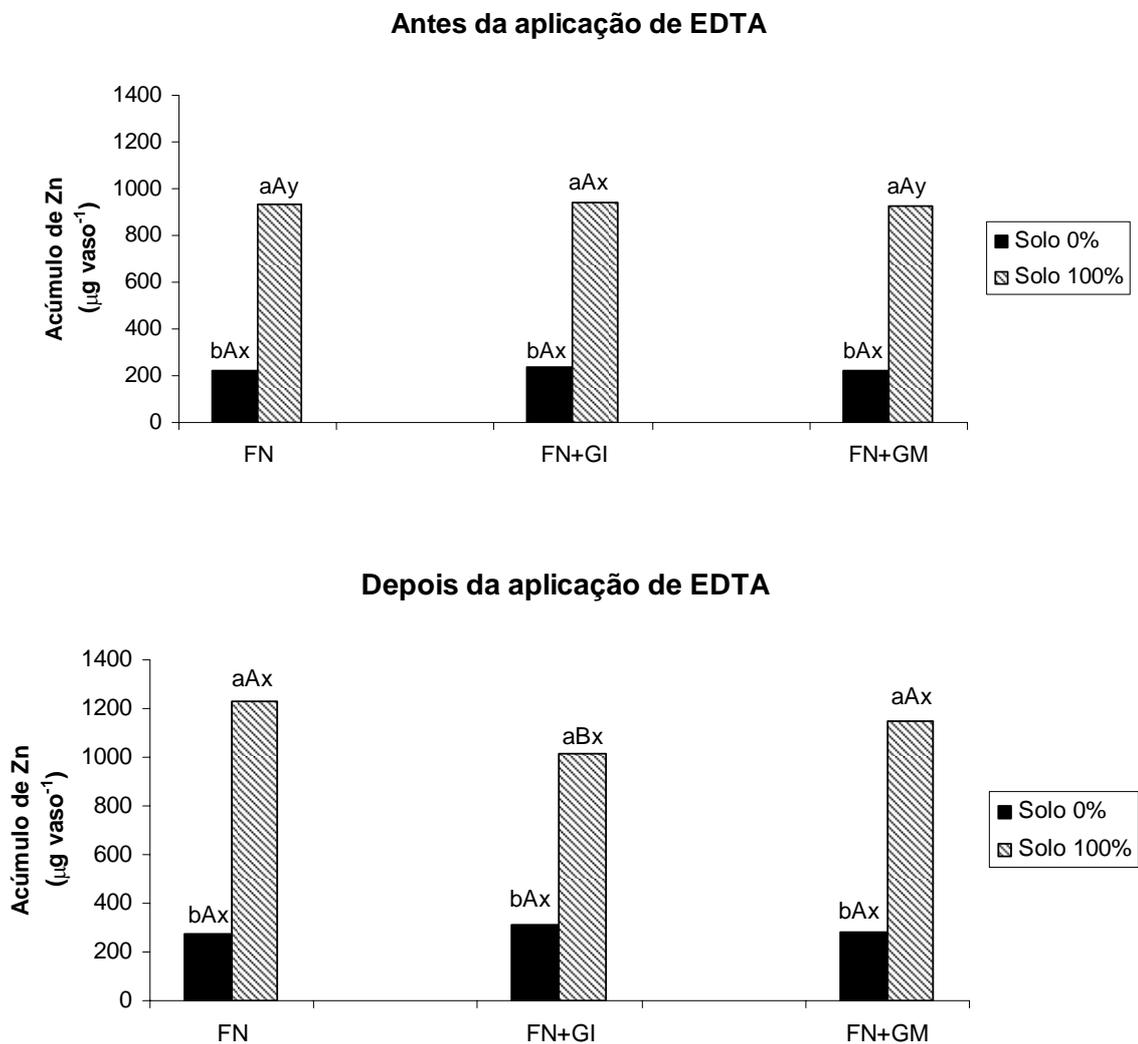
As plantas colonizadas por FN e FN+GI tiveram significativamente maior concentração de Zn na parte aérea, após aplicação do EDTA (Figura 8).

Antes da aplicação de EDTA, o acúmulo de Zn na parte aérea não diferiu significativamente entre os tratamentos fúngicos tanto no solo controle quanto no solo contaminado. Depois da aplicação do EDTA, o acúmulo de Zn na parte aérea diminuiu significativamente em plantas colonizadas por FN+GI quando comparado com plantas colonizadas por FN e FN+GM cultivadas em solo contaminado, sendo que FN e FN+GM não diferiram entre si (Figura 9). A aplicação de EDTA não alterou significativamente o acúmulo de Zn na parte aérea das plantas no solo controle.

As plantas colonizadas por FN e FN+GM também tiveram significativamente maior acúmulo de Zn na parte aérea, após aplicação do EDTA em relação ao acúmulo nas plantas antes da aplicação do quelante (Figura 9).



**Figura 8:** Concentração de Zn na parte aérea em plantas de feijão-de-porco colonizadas por FN (Fungos micorrízicos nativos do solo), FN+GI (*Glomus intraradices*) e, FN+GM (*Glomus macrocarpum*), em dois solos (0% - solo controle e 100% - solo com resíduo), antes e depois da aplicação de EDTA. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Letras maiúsculas comparam entre fungos dentro de solo, as minúsculas comparam entre solo dentro de cada fungo e xy comparam entre EDTA dentro de solo e fungo.



**Figura 9** - Acúmulo de Zn na parte aérea em plantas de feijão-de-porco colonizadas por FN (Fungos micorrízicos nativos do solo), FN+GI (*Glomus intraradices*) e, FN+GM (*Glomus macrocarpum*), em dois solos (0% - solo controle e 100% - solo com resíduo), antes e depois da aplicação de EDTA. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Letras maiúsculas comparam entre fungos dentro de solo, as minúsculas comparam entre solo dentro de cada fungo e xy comparam entre EDTA dentro de solo e fungo.

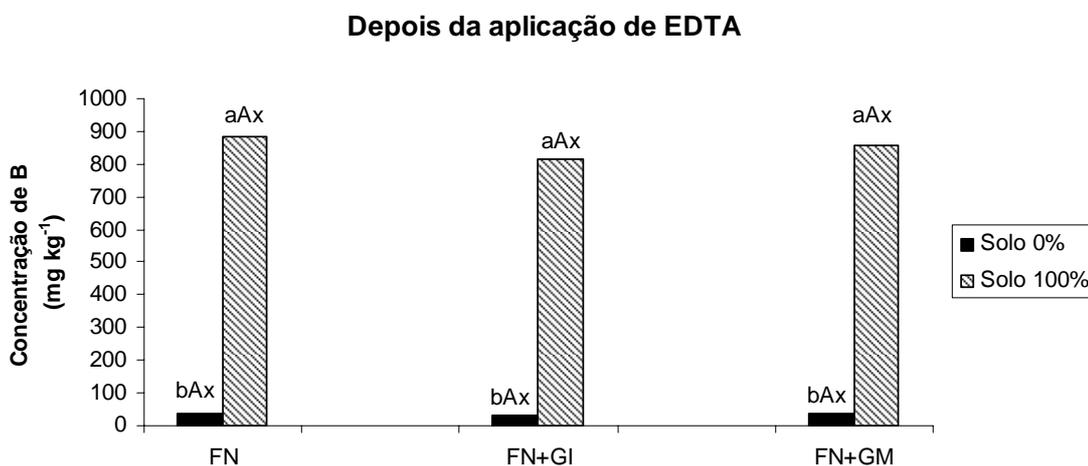
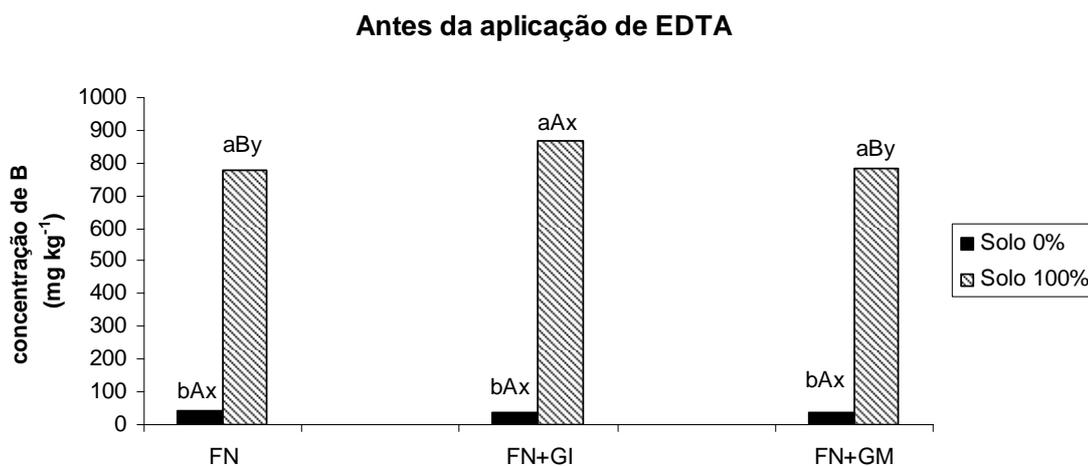
A concentração e o acúmulo de B na parte aérea das plantas mostraram resultados semelhantes ao de Zn, sendo significativamente maiores no solo contaminado do que no solo - controle (Figura 10 e 11).

Antes da aplicação de EDTA, as plantas colonizadas por FN+GI mostraram significativamente maior concentração de B na parte aérea que as colonizadas por FN e FN+GM, no solo contaminado. No solo - controle não houve diferença significativa entre os tratamentos fúngicos (Figura 10).

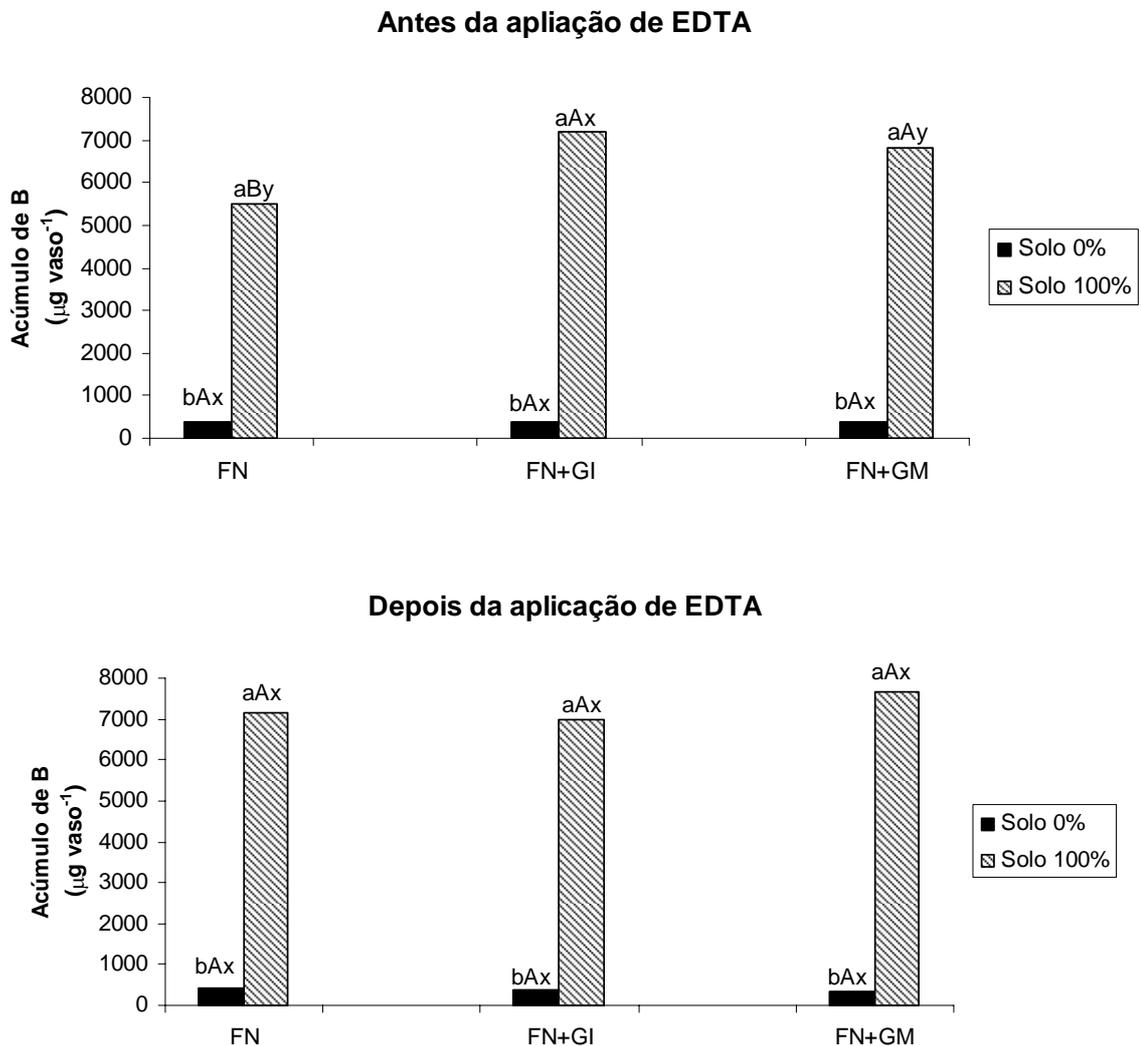
Depois da aplicação de EDTA, as plantas colonizadas por diferentes FMAs não diferiram significativamente entre si, em nenhum dos solos. A aplicação de EDTA aumentou a concentração de B nas plantas colonizadas por FN e FN+GM plantadas em solo contaminado (Figura 10).

Antes da aplicação do EDTA, as plantas colonizadas por FN tiveram menor acúmulo de B na parte aérea que as colonizadas por FN+GI e FN+GM, no solo contaminado. Já no solo - controle, assim como para a concentração, não houve diferença significativa entre os tratamentos fúngicos.

Depois da aplicação de EDTA, não houve alteração significativa no acúmulo de B na parte aérea das plantas em nenhum dos tratamentos fúngicos e nem de solo. A aplicação de EDTA aumentou significativamente o acúmulo de B na parte aérea das plantas colonizadas por FN e FN+GM, no solo contaminado (Figura 11).



**Figura 10** - Concentração de B na parte aérea em plantas de feijão-de-porco colonizadas por FN (Fungos micorrízicos nativos do solo), FN+GI (*Glomus intraradices*) e, FN+GM (*Glomus macrocarpum*), em dois solos (0% - solo controle e 100% - solo com resíduo), antes e depois da aplicação de EDTA. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Letras maiúsculas comparam entre fungos dentro de solo, as minúsculas comparam entre solo dentro de cada fungo e xy comparam entre EDTA dentro de solo e fungo.

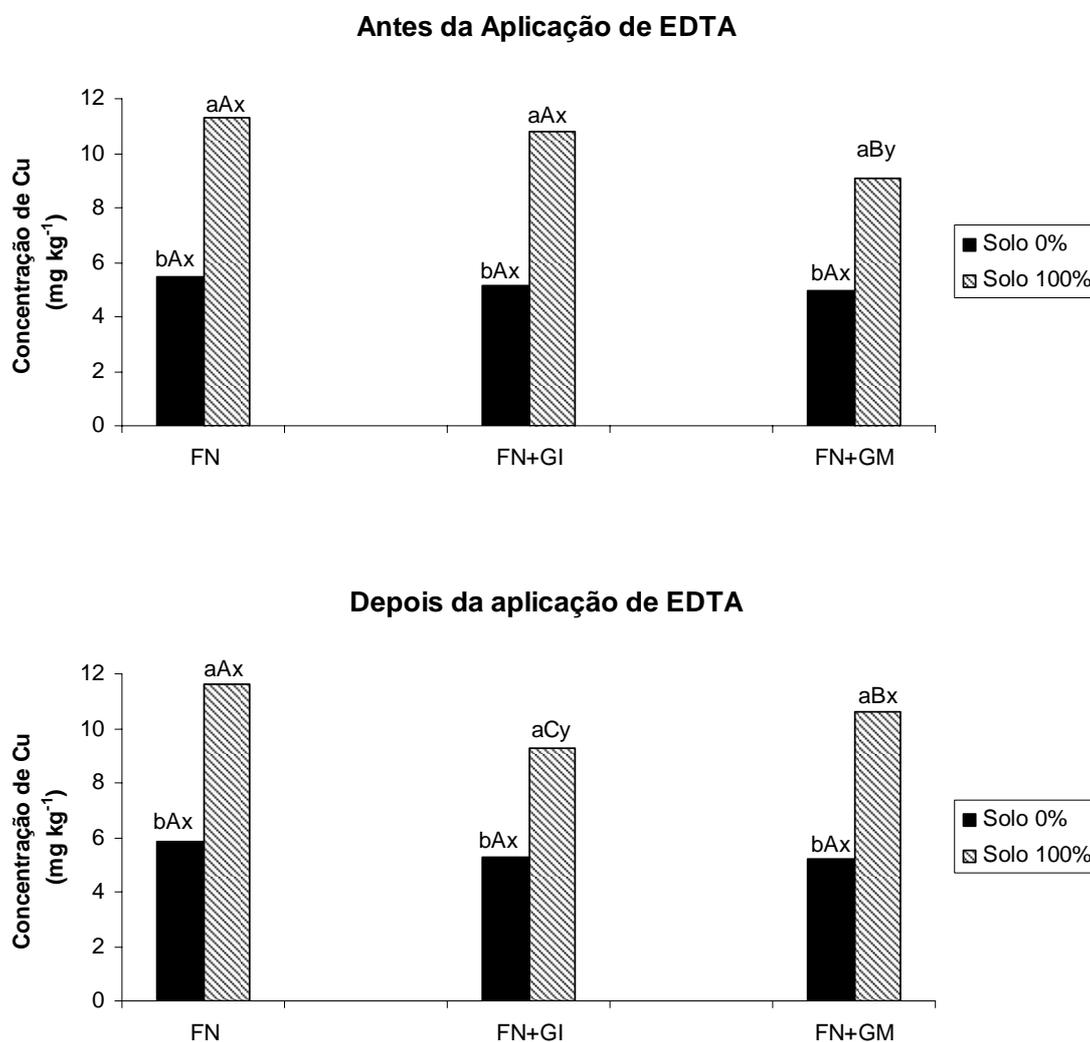


**Figura 11** - Acúmulo de B na parte aérea em plantas de feijão-de-porco colonizadas por FN (Fungos micorrízicos nativos do solo), FN+GI (*Glomus intraradices*) e, FN+GM (*Glomus macrocarpum*), em dois solos (0% - solo controle e 100% - solo com resíduo), antes e depois da aplicação de EDTA. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Letras maiúsculas comparam entre fungos dentro de solo, as minúsculas comparam entre solo dentro de cada fungo e xy comparam entre EDTA dentro de solo e fungo.

A contaminação do solo aumentou significativamente a concentração e o acúmulo de Cu na parte aérea das plantas de feijão-de-porco (Figuras 12 e 13). Antes da aplicação do EDTA, plantas colonizadas por FN e FN+GI apresentaram significativamente maior concentração de Cu na parte aérea que plantas colonizadas por FN+GM, no solo contaminado. No solo - controle não houve diferenças significativas entre os tratamentos fúngicos (Figura 12).

Depois da aplicação do EDTA, a concentração de Cu na parte aérea das plantas colonizadas por FN foi significativamente maior que nas plantas colonizadas por FN+GM e FN+GI, as quais também diferiram entre si, sendo que as plantas neste último tratamento (FN+GI) apresentaram a menor concentração de Cu, quando plantadas em solo contaminado. No solo controle, não houve diferenças significativas entre os tratamentos.

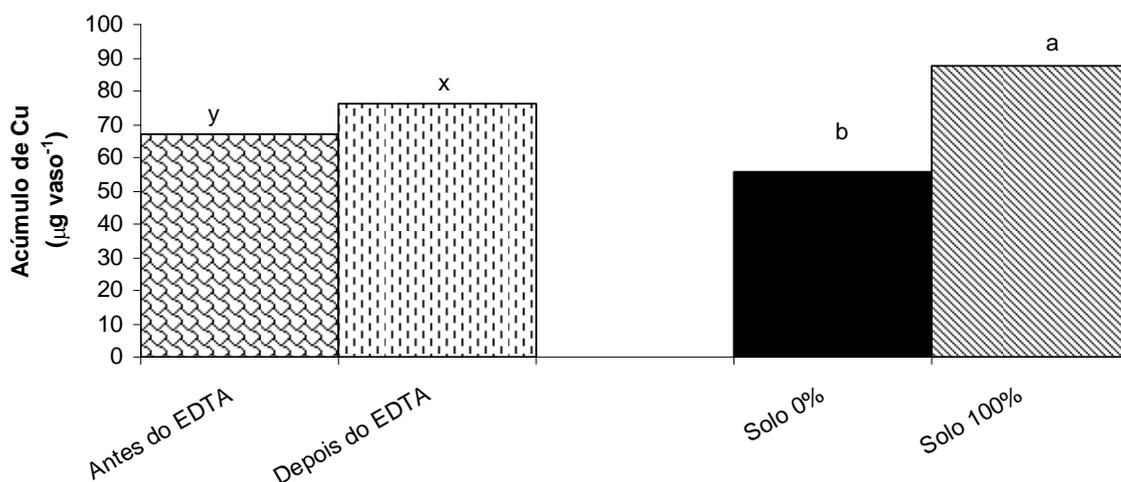
Em relação à aplicação de EDTA, as plantas colonizadas por FN+GM tiveram significativamente maior concentração de Cu na parte aérea e as plantas colonizadas por FN+GI, menor concentração de Cu, quando crescidas em solo contaminado, após aplicação do EDTA; as plantas colonizadas por FN não diferiram significativamente (Figura 12).



**Figura 12** - Concentração de Cu na parte aérea em plantas de feijão-de-porco colonizadas por FN (Fungos micorrízicos nativos do solo), FN+GI (*Glomus intraradices*) e FN+GM (*Glomus macrocarpum*), em dois solos (0% - solo controle e 100% - solo com resíduo), antes e depois da aplicação de EDTA. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Letras maiúsculas comparam entre fungos dentro de solo, as minúsculas comparam entre solo dentro de cada fungo e xy comparam entre EDTA dentro de solo e fungo.

A interação entre os fatores não foi significativa para o acúmulo de Cu na parte aérea, mas apresentou diferenças significativas entre os solos, independentemente da aplicação de EDTA e dos fungos, sendo que as plantas cultivadas em solo contaminado tiveram um maior acúmulo de Cu na parte aérea que as cultivadas no solo - controle (Figura 13).

A aplicação de EDTA, independentemente do solo e dos fungos, também apresentou diferença significativa no acúmulo de Cu na parte aérea da planta de feijão-de-porco, aumentando após a aplicação do quelante (Figura 13). A interação fungo-EDTA também foi significativa e a aplicação de EDTA aumentou a concentração de Cu nas plantas colonizadas por FN e FN+GM, independentemente do solo.



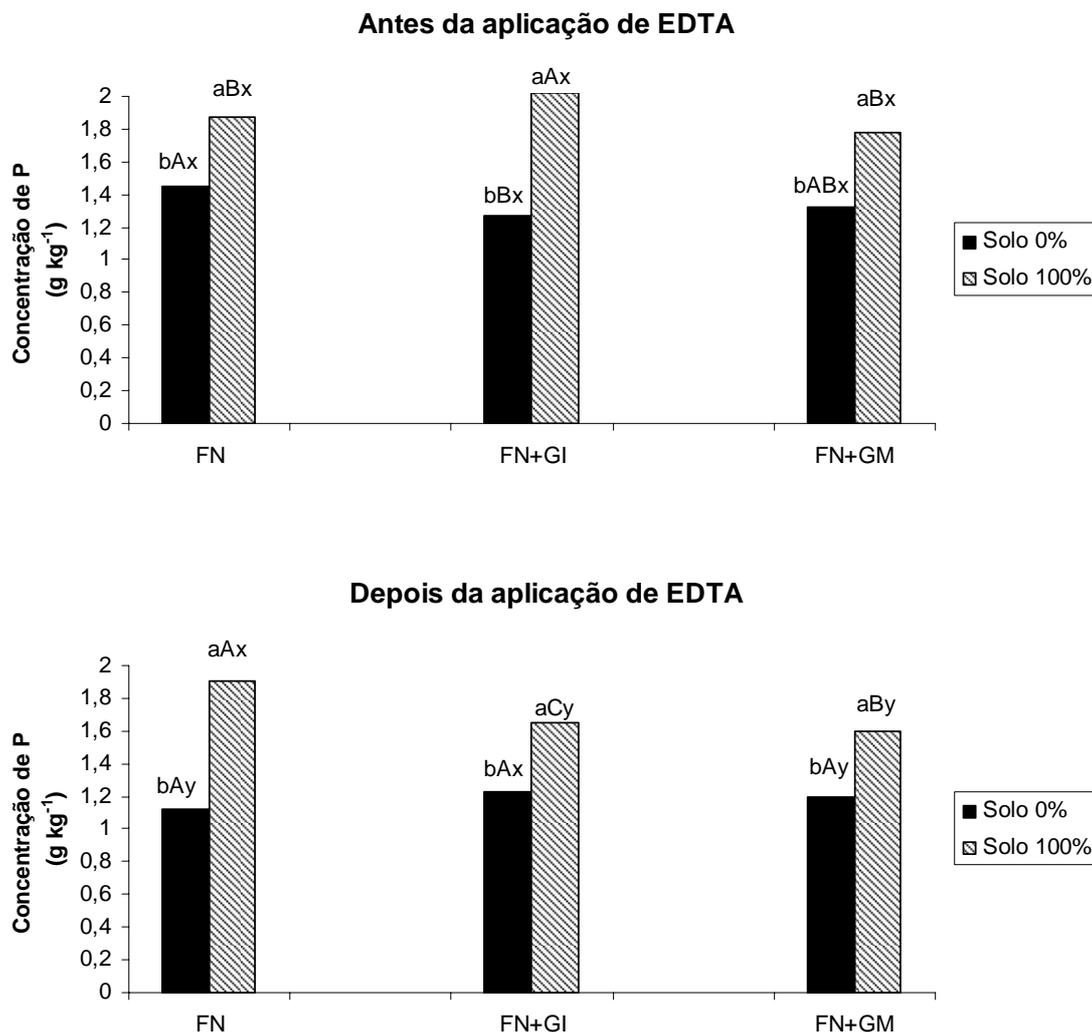
**Figura 13** - Acúmulo Cu na parte aérea de plantas de feijão-de-porco antes e depois da aplicação de EDTA e comparação entre solo controle (solo 0%) e solo contaminado (solo 100%). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%, as minúsculas comparam entre solo e xy comparam entre EDTA.

A concentração de P na parte aérea foi significativamente maior nas plantas obtidas no solo contaminado que nas do solo - controle, em todos os tratamentos (Figura 14).

Antes da aplicação do EDTA, as plantas colonizadas por FN+GI apresentaram maior concentração de P na parte aérea que as colonizadas por FN e FN+GM, no solo contaminado. Já no solo - controle, as plantas colonizadas por FN e FN+GM apresentaram maior concentração de P na parte aérea que as plantas colonizadas por FN+GI, sendo que esta não diferiu significativamente das colonizadas por FN+GM (Figura 14).

Depois da aplicação do EDTA, a concentração de P na parte aérea das plantas colonizadas por FN foi significativamente maior que nas plantas colonizadas por FN+GM e FN+GI, as quais também diferiram entre si, sendo que as plantas deste último tratamento (FN+GI) apresentaram as menores concentrações de P, quando obtidas em solo contaminado. No solo controle, as plantas não diferiram significativamente entre si.

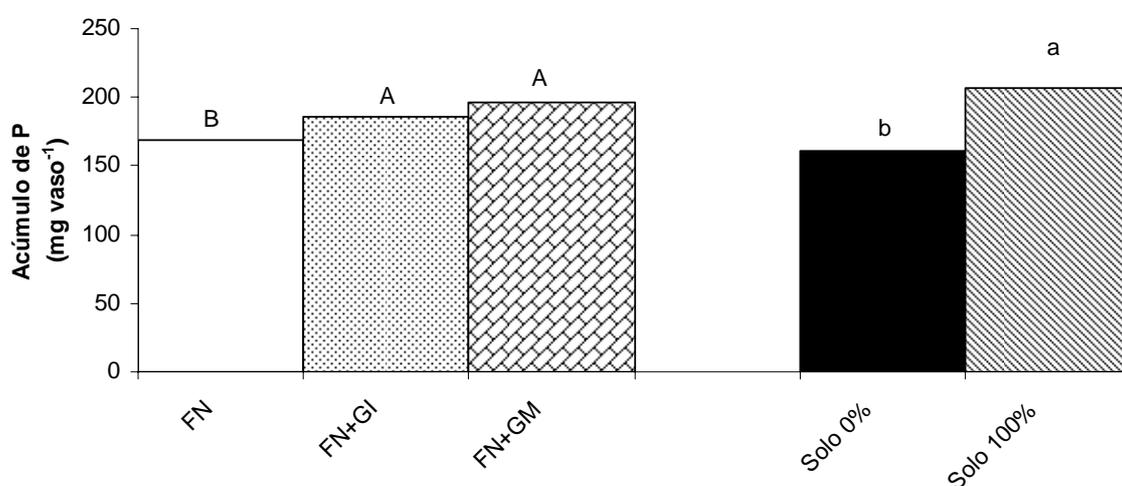
Com a aplicação de EDTA, houve redução significativa na concentração de P na parte aérea das plantas colonizadas por FN+GI e FN+GM, obtidas em solo contaminado, e nas colonizadas por FN e FN+GM, quando cultivadas em solo - controle (Figura 14).



**Figura 14** - Concentração de P na parte aérea em plantas de feijão-de-porco colonizadas por FN (Fungos micorrízicos nativos do solo), FN+GI (*Glomus intraradices*) e, FN+GM (*Glomus macrocarpum*), em dois solos (0% - solo controle e 100% - solo com resíduo), antes e depois da aplicação de EDTA. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Letras maiúsculas comparam entre fungos dentro de solo, as minúsculas comparam entre solo dentro de cada fungo e xy comparam entre EDTA dentro de solo e fungo.

O acúmulo P na parte aérea aumentou em plantas cultivadas em solo contaminado em relação a plantas cultivadas em solo-controle, independentemente da presença de FMA e da aplicação de EDTA (Figura 15).

A interação tripla não apresentou diferença significativa, mas independentemente do solo e da aplicação de EDTA, as plantas colonizadas por FN tiveram menor acúmulo de P na parte aérea que as colonizadas por FN+GI e FN+GM, sendo que estas não diferiram entre si (Figura 15).



**Figura 15** - Acúmulo de P na parte aérea de plantas de feijão-de-porco colonizadas por FN (Fungos micorrízicos nativos do solo), FN+GI (*Glomus intraradices*) e FN+GM (*Glomus macrocarpum*), e comparação entre solo controle (solo 0%) e solo contaminado (solo 100%). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Letras maiúsculas comparam entre fungos, enquanto as minúsculas comparam entre solo.

As concentrações de alguns macro e micronutrientes na parte aérea das plantas são mostradas na tabela 6. Houve efeito da contaminação do solo (solo com resíduo) para todos os nutrientes analisados, exceto o Mn. As concentrações de K, Ca, Mg e Fe tiveram comportamento semelhante, sendo que o teor desses elementos na parte aérea foi maior nas plantas obtidas no solo contaminado que nas cultivadas no solo controle. No geral, a aplicação de EDTA não alterou significativamente o teor de Ca, Fe e Mn na parte aérea (Tabela 6).

**Tabela 6** - Concentração de macro e micronutrientes na parte aérea de plantas de feijão-de-porco colonizadas por FN (Fungos micorrízicos nativos do solo), FN+GI (*Glomus intraradices*) e FN+GM (*Glomus macrocarpum*) antes e depois da aplicação de EDTA, em dois solos, sem (0%) e com (100%) adição de resíduo.

Tratamentos		N	K	Ca	Mg	Fe	Mn
		-----g kg <sup>-1</sup> -----				-----mg kg <sup>-1</sup> -----	
Solo 0 % Antes do EDTA	FN	26,6	14,3	17,1	2,8	129,2	32,0
	FN+GI	27,4	15,8	15,6	2,3	104,0	26,5
	FN+GM	27,2	15,8	14,8	2,3	87,3	27,4
Solo 100 % Antes do EDTA	FN	24,6	23,7	21,8	2,9	122,3	26,8
	FN+GI	27,7	23,8	22,6	3,2	187,8	27,5
	FN+GM	25,0	27,8	22,6	2,9	118,8	28,8
Solo 0 % Depois do EDTA	FN	27,5	14,2	13,2	2,3	94,5	24,8
	FN+GI	26,7	14,2	13,8	2,2	98,5	25,8
	FN+GM	24,8	14,6	14,8	2,2	81,8	28,8
Solo 100 % Depois do EDTA	FN	24,8	23,2	23,9	3,2	224,9	31,8
	FN+GI	23,0	23,7	24,1	2,7	133,8	25,6
	FN+GM	23,0	23,1	26,1	3,1	124,5	29,2
Significância							
Solo		0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*	ns
Fungo		0,031*	0,002*	ns	0,002*	0,0006*	0,015*
EDTA		0,0002*	0,0001*	ns	0,007*	ns	ns
Solo*Fungo		ns	ns	ns	ns	ns	ns
Solo*EDTA		ns	ns	0,0000*	0,015*	0,041*	0,025*
Fungo*EDTA		0,001	0,004*	0,016*	0,029*	0,008*	ns
Solo*Fungo*EDTA		0,046*	0,009*	ns	0,0001*	0,0001*	0,0004*

ns- não significativo; \* significativo a 5%

Os acúmulos de macro e micronutrientes na parte aérea das plantas estão na tabela 7. O acúmulo de N e Mn na parte aérea diminuíram nas plantas cultivadas no solo contaminado, enquanto que de Ca, K e Fe aumentou. Somente houve efeito de FMA no acúmulo de Fe, sendo que as plantas colonizadas por FN tiveram os maiores acúmulos. Após a aplicação de EDTA, houve aumento no acúmulo de N, Ca, Mg, Fe e Mn na parte aérea das plantas, principalmente quando obtidas em solo contaminado.

**Tabela 7** - Acúmulo de macro e micronutrientes na parte aérea de plantas de feijão-deporco colonizadas por FN (Fungos micorrízicos nativos do solo), FN+GI (*Glomus intraradices*) e FN+GM (*Glomus macrocarpum*) antes e depois da aplicação de EDTA, em dois solos, sem (0%) e com (100%) adição de resíduo.

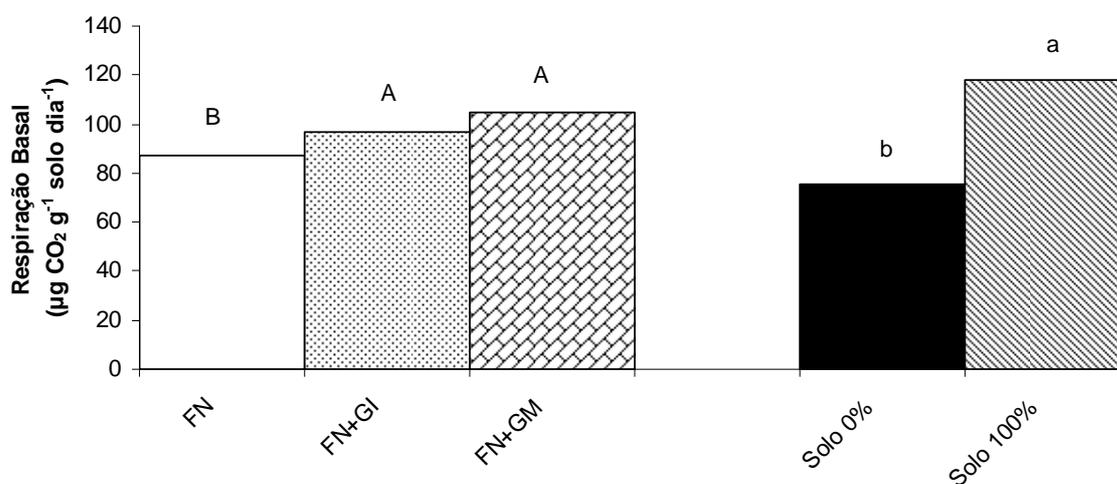
Tratamentos		N	K	Ca	Mg	Fe	Mn
		-----g kg <sup>-1</sup> -----			-----mg kg <sup>-1</sup> -----		
		---					
Solo 0 % Antes do EDTA	FN	261,3	15,3	171,2	24,1	1343,6	320,3
	FN+GI	270,4	13,4	155,6	23,8	1037,2	270,1
	FN+GM	259,9	12,8	146,2	24,4	873,3	271,9
Solo 100 % Antes do EDTA	FN	188,4	14,2	161,0	22,5	920,5	207,3
	FN+GI	203,6	16,6	205,2	25,2	1505,1	214,6
	FN+GM	226,5	15,3	165,2	24,9	998,0	227,8
Solo 0 % Depois do EDTA	FN	290,7	12,9	145,8	25,7	1091,5	286,8
	FN+GI	305,4	14,5	158,3	24,4	1161,9	328,7
	FN+GM	269,8	13,9	182,2	26,2	979,2	332,5
Solo 100 % Depois do EDTA	FN	215,7	14,9	217,3	26,8	1958,7	267,7
	FN+GI	206,2	14,2	217,2	25,1	1214,4	229,7
	FN+GM	193,9	13,8	214,0	27,368	1341,5	275,6
Significância							
Solo		0,0000*	0,0009*	0,0000	ns	0,0001*	0,0000*
Fungo		ns	ns	ns	ns	0,0006*	ns
EDTA		0,027*	ns	0,0000	0,009*	0,003*	0,0000*
Solo*Fungo		ns	ns	0,017*	ns	ns	ns
Solo*EDTA		0,018*	ns	0,0002*	ns	0,002*	ns
Fungo*EDTA		0,009*	ns	0,004*	ns	0,004*	0,033*
Solo*Fungo*EDTA		ns	0,0001*	0,001*	ns	0,0000*	0,0000*

ns- não significativo; \* significativo a 5%

### 4.3 Parâmetros Relacionados à microbiota do solo rizosférico

#### 4.3.1 Respiração basal

A resposta da respiração basal foi significativa somente para os fatores solo e fungo (Figura 16). A menor respiração basal da microbiota foi verificada na presença de FN. Não houve diferença significativa na respiração basal entre os tratamentos FN+GM e FN+GI. Em relação ao fator solo, observou-se que o contaminado liberou significativamente mais CO<sub>2</sub> que o solo - controle.



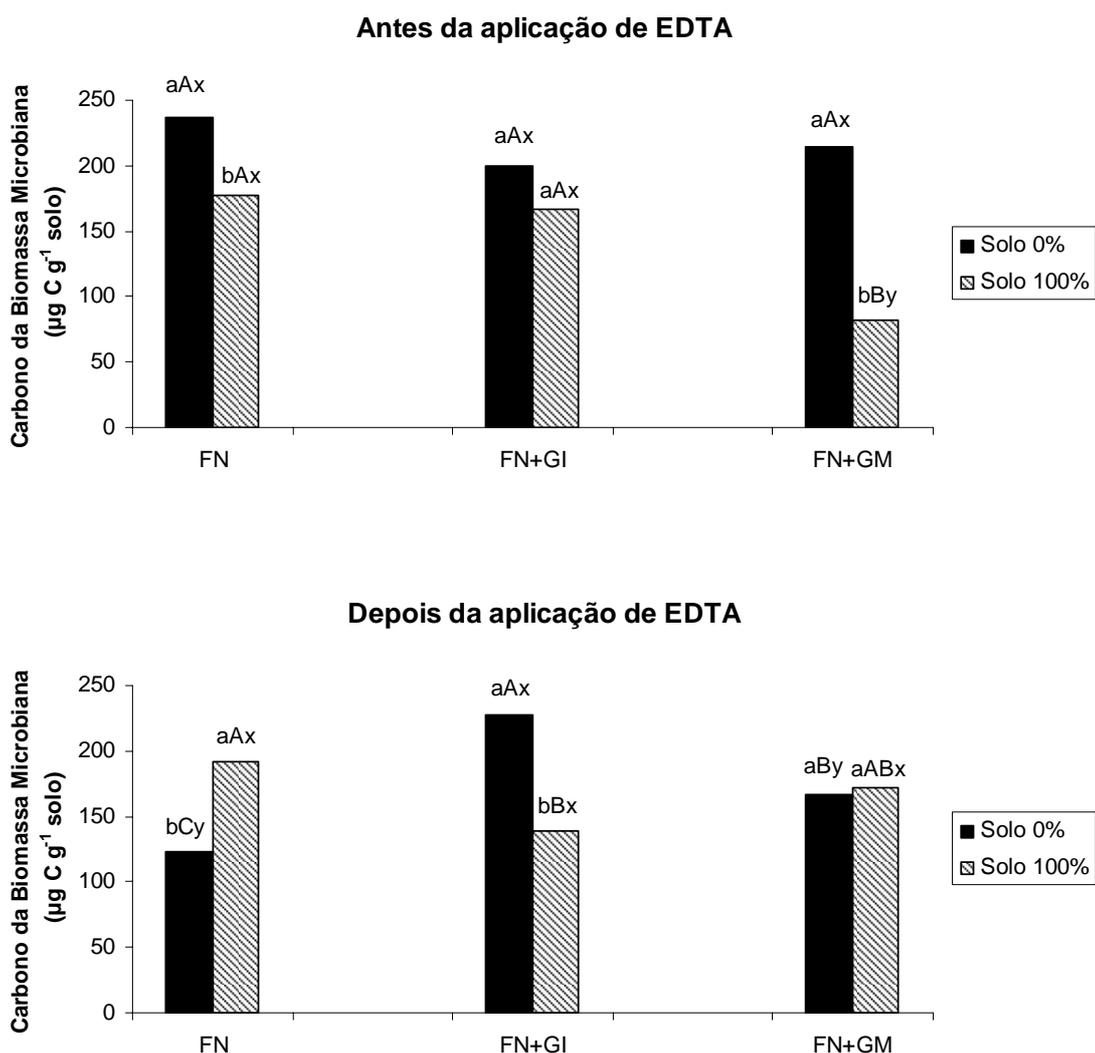
**Figura 16** - Respiração Basal do solo rizosférico do feijão-de-porco colonizado por FN (Fungos micorrízicos nativos do solo), FN+GI (*Glomus intraradices*), FN+GM (*Glomus macrocarpum*) após cultivo no solo controle (solo 0%) e solo contaminado (solo 100%). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Letras maiúsculas comparam entre fungos, enquanto as minúsculas comparam entre solo.

### 4.3.2 Carbono da Biomassa microbiana ( $C_{mic}$ )

Antes da aplicação do EDTA, observou-se que o C da biomassa microbiana foi significativamente maior no solo - controle que no solo contaminado da rizosfera das plantas colonizadas por FN e FN+GM (Figura 17). Em relação aos tratamentos fúngicos, houve diferenças significativas apenas no solo contaminado, no qual a rizosfera das plantas colonizadas por FN+GM apresentou menor C da biomassa que as demais (Figura 17).

Depois da aplicação do EDTA, o C da biomassa microbiana foi menor na rizosfera das plantas colonizadas por FN, crescidas no solo-controle, mas maior na rizosfera das plantas colonizadas por FN+GI, no solo contaminado. Já na rizosfera das plantas colonizadas por FN+GM não houve diferença significativa entre o solo-controle e contaminado (Figura 17). No solo-controle, a rizosfera das plantas colonizadas por FN+GI apresentou maior quantidade de C microbiano que a referente às colonizadas por FN+GM e FN, que também diferiram entre si, sendo significativamente menor na rizosfera das plantas colonizadas por FN. No solo contaminado, por sua vez, o efeito foi contrário, pois na rizosfera das plantas colonizadas por FN houve significativamente maior C da biomassa, enquanto que na das colonizadas por FN+GI, os valores observados foram menores (Figura 17).

A aplicação de EDTA diminuiu significativamente a quantidade de C da biomassa microbiana na rizosfera das plantas colonizadas por FN e FN+GM no solo controle, mas aumentou significativamente no tratamento FN+GM, no solo contaminado (Figura 17).



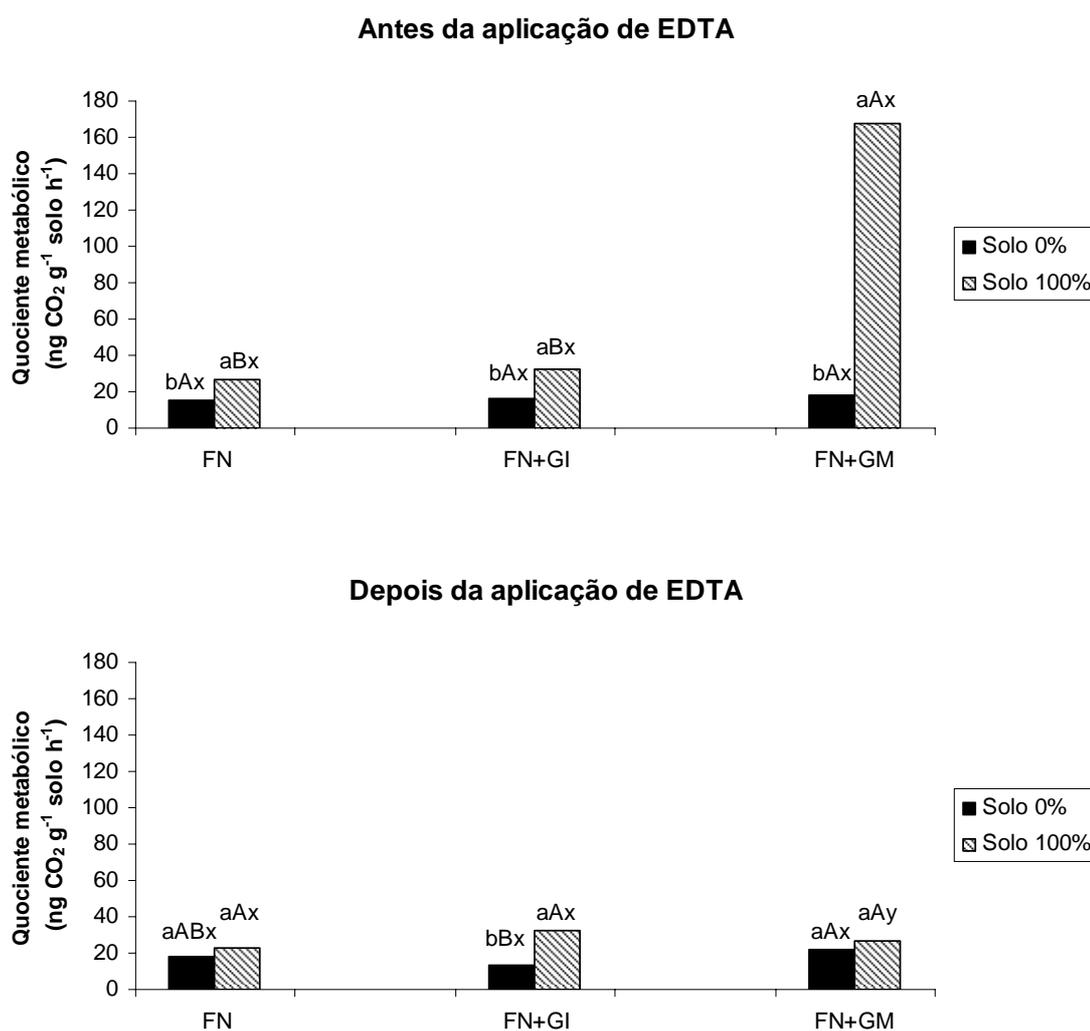
**Figura 17** - Carbono da Biomassa microbiana no solo rizosférico do feijão-de-porco colonizado por FN (Fungos micorrízicos nativos do solo), FN+GI (*Glomus intraradices*) e FN+GM (*Glomus macrocarpum*), cultivado em solo sem resíduo (0%) e com resíduo (100%), antes e depois da aplicação de EDTA. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Letras maiúsculas comparam entre fungos dentro de solo, as minúsculas comparam entre solo dentro de cada fungo e xy comparam entre EDTA dentro de solo e fungo.

### 4.3.3 Quociente metabólico ( $qCO_2$ )

Antes da aplicação do EDTA, o valor  $qCO_2$  foi significativamente maior no solo contaminado (Figura 18). Neste tratamento, o  $qCO_2$  da rizosfera das plantas colonizadas por FN+GM foi maior que dos demais tratamentos. Por outro lado no solo-controle não houve diferença significativa entre os tratamentos fúngicos (Figura 18).

Depois da aplicação de EDTA, o  $qCO_2$  na rizosfera das plantas colonizadas por FN+GI foi significativamente menor no solo-controle e em relação aos outros tratamentos fúngicos. No solo contaminado não foi observada diferença significativa entre os tratamentos fúngicos (Figura 18).

A aplicação de EDTA não interferiu significativamente nos valores de  $qCO_2$ , exceto na rizosfera das plantas colonizadas por FN+GM, no solo contaminado, na qual houve significativa redução em relação ao tratamento sem adição de EDTA.

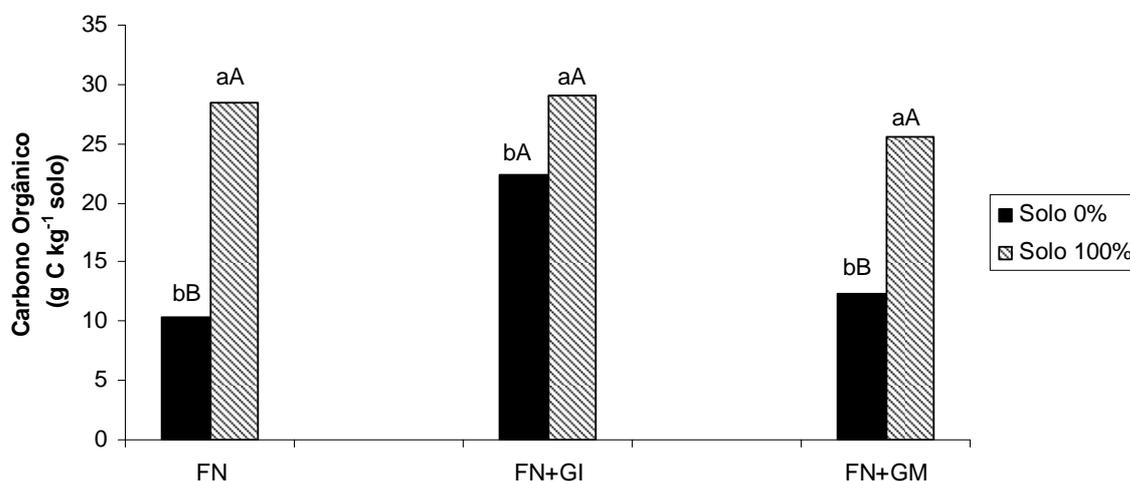


**Figura 18** - Quociente metabólico no solo rizosférico do feijão-de-porco colonizado por FN (Fungos micorrízicos nativos do solo), FN+GI (*Glomus intraradices*) e FN+GM (*Glomus macrocarpum*), cultivado em solo sem resíduo (0%) e com resíduo (100%), antes e depois da aplicação de EDTA. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Letras maiúsculas comparam entre fungos dentro de solo, as minúsculas comparam entre solo dentro de cada fungo e xy comparam entre EDTA dentro de solo e fungo.

#### 4.3.4 Carbono orgânico (C<sub>org</sub>)

O C orgânico do solo diferiu apenas com a contaminação do solo e com os FMAs, independentemente da aplicação de EDTA, sendo que o solo contaminado apresentou significativamente maior quantidade de C orgânico (Figura 19). No solo contaminado, não foi observada diferença significativa entre os tratamentos fúngicos. Contudo, no solo-controle observou-se maior teor de C no solo rizosférico das plantas colonizadas por FN+GI.

A aplicação de EDTA aumentou significativamente o C orgânico do solo rizosférico das plantas independentemente dos FMAs e do tipo de solo.



**Figura 19** - Carbono orgânico do solo rizosférico do feijão-de-porco colonizados por FN (Fungos micorrízicos nativos do solo), FN+GI (*Glomus intraradices*) e FN+GM (*Glomus macrocarpum*) em solo sem (0%) ou com (100%) adição de resíduo. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Letras maiúsculas comparam entre fungos dentro de solo e as minúsculas, entre solo dentro de cada fungo.

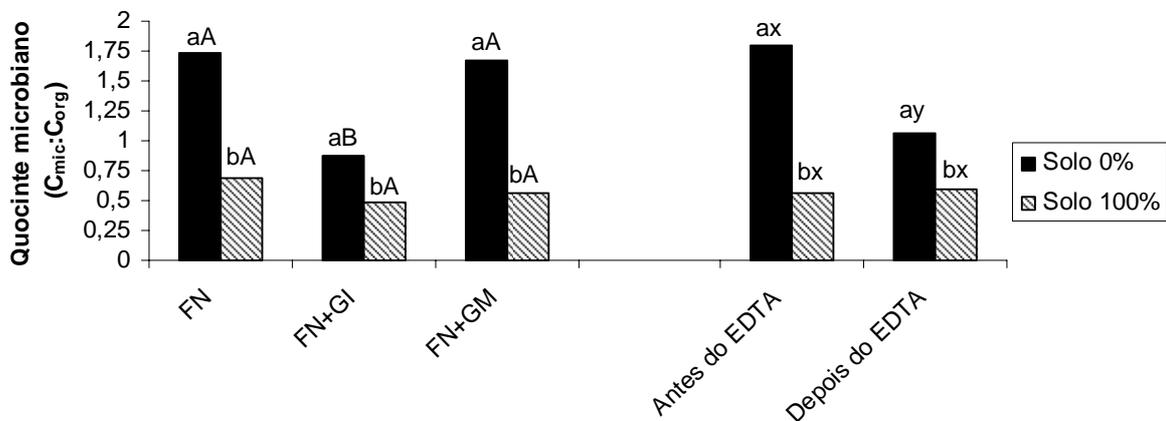
#### 4.3.5 Quociente microbiano ( $qMIC$ )

O quociente microbiano é a razão entre a biomassa microbiana e o carbono orgânico do solo. O  $qMIC$  da rizosfera de plantas colonizadas com FN e FN+GM cultivadas em solo-controle foi maior que as plantas colonizadas por FN+GI. Já para as plantas cultivadas em solo contaminado não houve diferença significativa entre os tratamentos fúngicos (Figura 20).

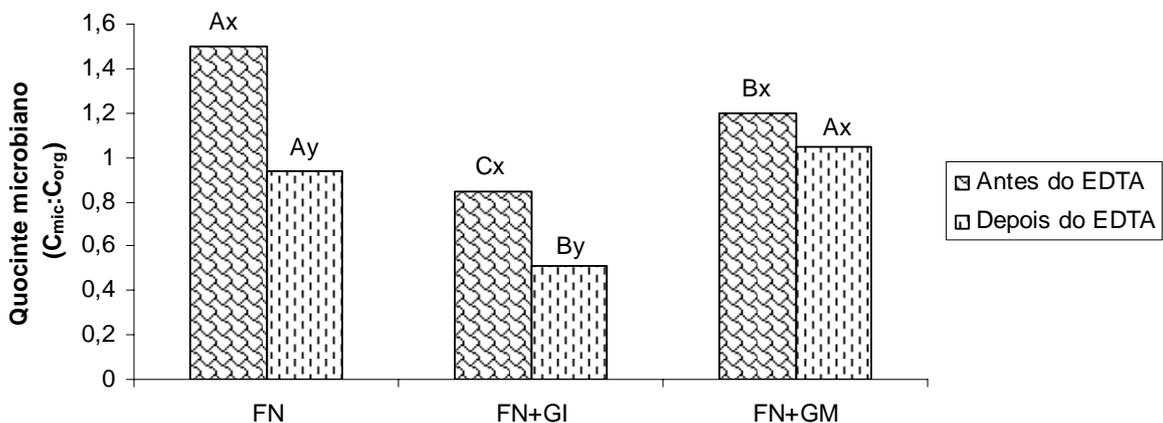
Antes da aplicação do EDTA, o valor  $qMIC$  foi significativamente maior no solo controle que no solo contaminado (Figura 20), na figura 21 observou se que plantas colonizadas por FN antes da aplicação do EDTA apresentou significativamente maior valor que plantas colonizadas por FN+GM e FN+GI, que também diferiram entre si, sendo que este ultimo (FN+GI) apresentou maior valor.

Depois da aplicação de EDTA, o  $qMIC$ , assim como antes da aplicação do EDTA, foi maior no solo-controle que no solo contaminado (Figura 20). A rizosfera das plantas colonizadas por FN e FN+GM não apresentaram diferenças significativas entre si, mais apresentaram maiores valores que a rizosfera de plantas colonizadas por FN+GI (Figura 21).

A aplicação de EDTA diminuiu significativamente os valores de  $qMIC$ , em todos os tratamentos, exceto na rizosfera das plantas colonizadas por FN+GM, na qual não houve diferença significativa em relação ao tratamento sem adição de EDTA (Figura 21).



**Figura 20** - Quociente microbiano no solo rizosférico do feijão-de-porco colonizado por FN (Fungos micorrízicos nativos do solo), FN+GI (*Glomus intraradices*) e FN+GM (*Glomus macrocarpum*), cultivado em solo sem resíduo (0%) e com resíduo (100%) e antes e depois da aplicação de EDTA. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Letras maiúsculas comparam entre fungos dentro de solo, as minúsculas comparam entre solo dentro de cada fungo.

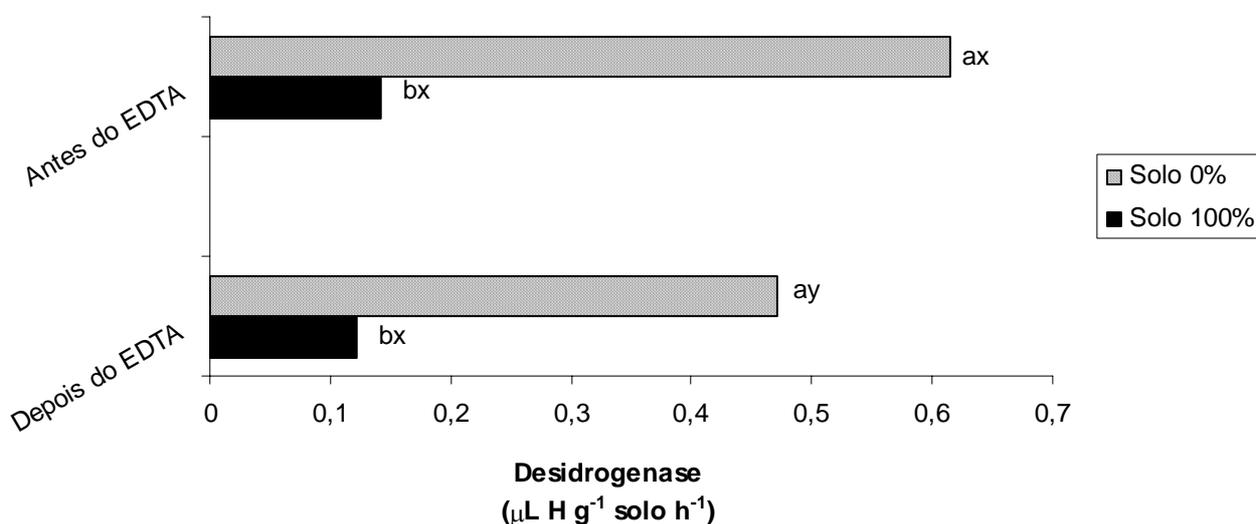


**Figura 21** - Quociente microbiano no solo rizosférico do feijão-de-porco colonizado por FN (Fungos micorrízicos nativos do solo), FN+GI (*Glomus intraradices*) e FN+GM (*Glomus macrocarpum*), antes e depois da aplicação de EDTA. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Letras maiúsculas comparam entre fungos dentro de solo e xy comparam entre EDTA dentro de fungo.

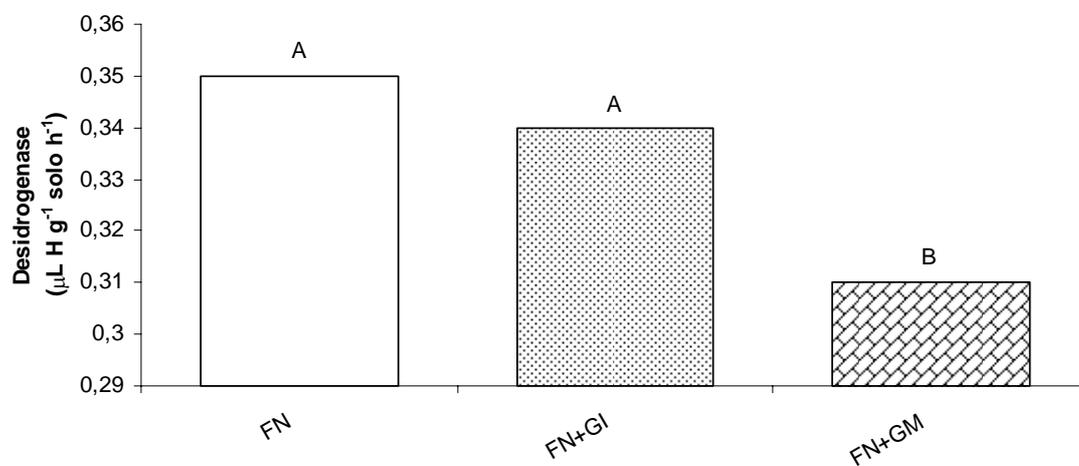
#### 4.3.6 Atividade da enzima desidrogenase no solo rizosférico

A atividade da desidrogenase diminuiu significativamente com a contaminação do solo independentemente dos tratamentos fúngicos. Com a aplicação de EDTA, houve diminuição da atividade da enzima no solo-controle, sem contaminação, enquanto que no solo contaminado não houve diferença significativa (Figura 22).

A atividade da enzima desidrogenase foi influenciada pela colonização das plantas por FMAs, independentemente do tipo de solo e da aplicação de EDTA, sendo que no solo com plantas colonizadas por FN e FN+GI houve maior atividade que nas colonizadas por FN+GM (Figura 23).



**Figura 22** - Atividade da enzima desidrogenase no solo rizosférico do feijão-de-porco cultivado em solo controle (Solo 0%) e solo contaminado (solo 100%) antes e depois da aplicação de EDTA. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Letras minúsculas comparam entre solo e xy comparam entre aplicação de EDTA.



**Figura 23:** Atividade da enzima desidrogenase no solo rizosférico do feijão-de-porco colonizados por FN (Fungos micorrízicos nativos do solo), FN+GI (*Glomus intraradices*) e FN+GM (*Glomus macrocarpum*). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

## 5 DISCUSSÃO

Quando se compara a soma das frações do processo de fracionamento ao teor total obtido por uma extração única, teoricamente deveriam ser obtidos resultados próximos, mas na prática verifica-se que ocorrem desvios, mais ou menos acentuados, em função do material utilizado. Esse procedimento, que reflete o balanço de massas da amostra, é freqüentemente utilizado para aferição da qualidade da extração (PAGOTTO *et al.*, 2001). A abertura total da amostra não foi realizada, pois de acordo com o objetivo do trabalho, o interessante era avaliar as formas dos metais no solo e não testar a recuperação do método e, por isso, usou-se a soma das frações para estimar o teor total ao invés de utilizar a digestão com HF (ácido fluorídrico), devido a dificuldades operacionais e ao perigo no manuseio do ácido. Com isso, a eficiência do fracionamento e do teor total não pode ser comprovada. Contudo, mesmo com essa restrição, resultados de fracionamento de metais são importantes para distinguir a forma de ocorrência dos mesmos no solo. As extrações químicas seqüenciais são úteis para se inferir sobre a biodisponibilidade de metais pesados, como o Cu e o Zn, em diferentes frações do solo (SHUMAN, 1986; OLIVEIRA *et al.*, 1999) e podem ser extremamente úteis no entendimento das alterações decorrentes das mudanças de formas químicas e das variações temporais na biodisponibilidade de metais em solos com adição de resíduo. MELO *et al.* (2006) verificaram aumento nos teores de Pb e Cu na fração trocável com a adição dos quelantes sintéticos. Segundo os autores, esse resultado indica que os quelantes sintéticos são capazes de solubilizar altos teores de metais pouco solúveis, tais como Pb e Cu, por períodos suficientemente longos para a absorção vegetal. Os autores verificaram que a matéria orgânica foi a principal responsável pela retenção de Pb, Cu e Zn no solo. No presente trabalho, a aplicação do EDTA disponibilizou maior porcentagem de Zn e Cu para as frações de matéria orgânica e solúvel+trocável, independentemente se o solo estava ou não contaminado, e o solo contaminado apresentou maior teor de Cu e Zn nas formas mais disponíveis que o solo-controle (Figura 1 e 2).

Observou-se que a matéria seca da parte aérea das plantas de feijão-de-porco diminuiu com o aumento na concentração de MPs e B no solo (Figura 4) e as plantas extraíram MPs (como Zn e Cu) e B do solo e acumularam na parte aérea (Figuras 9, 11 e 13). Inúmeros trabalhos relatam o efeito deletério do excesso de MPs no solo sobre o crescimento das plantas e aumento no teor desses metais. ANDRADE *et al.* (2003)

observaram diminuição na massa da matéria seca da parte aérea de soja micorrizada cultivada em solo contaminado com Pb e aumento no teor de Pb na parte aérea. O aumento da concentração de Zn no solo levou ao acúmulo desse metal na parte aérea de tabaco, *Nicotiana rustica* L. var. Azteca, (AUDET & CHAREST, 2006). CHEN *et al.* (2004) também observaram redução da biomassa na maior dose de Zn (600 mg kg<sup>-1</sup>) aplicada, o que corresponde aproximadamente à concentração de Zn encontrada no solo com maior concentração de resíduo (Tabela 1). O excesso de B no solo reduziu a matéria seca da parte aérea e aumentou o teor de B na parte aérea de plantas de uva (GUNES *et al.*, 2006), trigo (WIMMER *et al.*, 2003) e girassol (KASTORI & PETROVIĆ 1989). LIDON & HENRIQUES (1998) observaram que aumento na concentração de Cu no solo é acompanhado pelo aumento na concentração na parte aérea da planta e pela inibição do seu crescimento.

A capacidade da planta em concentrar metais pesados é um fator importante para o sucesso da fitorremediação (ACCIOLY & SIQUEIRA, 2000). Como já dito, no presente experimento, as plantas conseguiram retirar MPs e B do solo e acumulá-los na parte aérea, mas não podem ser consideradas hiperacumuladoras de Zn e Cu. Plantas hiperacumuladoras são aquelas capazes de acumular mais 1000 mg kg<sup>-1</sup> de Cu ou 10000 mg kg<sup>-1</sup> de Zn na matéria seca, quando crescem em solos ricos nestes metais (ACCIOLY E SIQUEIRA, 2000). Neste experimento, as plantas de feijão-de-porco apresentaram uma concentração média de 850 mg kg<sup>-1</sup> de B na parte aérea, valores superiores em aproximadamente 50 vezes aos encontrados em plantas de feijão comum (15 a 26 mg kg<sup>-1</sup> de B, segundo AMBROSANO *et al.*, 1997). Não foram encontrados na literatura consultada parâmetros que definam plantas hiperacumuladoras de B. No entanto, de acordo com os valores de concentração de B na parte aérea encontrados nesse experimento, o feijoeiro-de-porco pode ser considerado um hiperacumulador de B.

TURNAU & MESJASZ-PRZYBYLOWICZ (2003) reportaram que a planta hiperacumuladora de Ni - *B. coddii* - colonizada por fungos micorrízicos nativos teve aumento da biomassa da parte aérea e no conteúdo de Ni em relação a plantas não colonizadas. Os tratamentos fúngicos, entretanto, influenciaram de forma diferente a produção de matéria fresca de raiz, o que pode estar relacionado à diferença na capacidade de as raízes colonizadas absorverem e reterem os MPs e B, o que, entretanto, não foi analisado neste experimento. AUDET & CHAREST (2006) constataram que o conteúdo total de Zn nas raízes de tabaco aumentou com o aumento da

concentração de Zn no solo. ANDRADE *et al.* (2005) também mostraram que o Cd é acumulado principalmente nas raízes de feijão-de-porco. CHEN *et al.* (2004) demonstraram que, com a adição de 300 mg kg<sup>-1</sup> de Zn, sem aplicação de EDTA ou com aplicação de 2,5 mmol kg<sup>-1</sup> de EDTA, a micorrização diminuiu a concentração de Zn nas folhas e aumentou no colmo e nas raízes.

Nos tratamentos em que houve a adição de EDTA, as plantas mostraram maior produção de biomassa radicular e da parte aérea (Figuras 3 e 4), mas tal resultado deve ser analisado com cautela, pois as plantas foram colhidas após 6 dias da aplicação do quelante, o que pode ter influenciado na medição do crescimento. No entanto, como as plantas de feijão-de-porco já estavam no início do florescimento, ou seja, no término do estágio de crescimento vegetativo, acredita-se que o efeito realmente possa ter ocorrido em função da aplicação do EDTA.

O fenômeno da quelação dos metais no solo é muito importante porque ele aumenta a sua solubilidade no solo, aumentando, conseqüentemente, sua mobilidade tanto por difusão como por fluxo de massa (CAMARGO, 2006). Assim, o EDTA aumenta a solubilidade de metais pesados para a solução do solo (MELO *et al.*, 2006), aumentando sua disponibilidade e, conseqüentemente, sua absorção pela planta. A aplicação de EDTA estimulou o aumento na concentração e no acúmulo de Cu e Zn na parte aérea, tendo influência dos FMAs associados à planta (Figuras 9, 11 e 13). Vários estudos relatam que a aplicação de EDTA aumenta a concentração de Pb na parte aérea (BLAYLOCK *et al.*, 1997; HUANG *et al.*, 1997; ZHUANG *et al.*, 2005; GRĚMAN *et al.*, 2003) e reduz o crescimento das plantas (EPSTEIN *et al.*, 1999). A aplicação de EDTA aumentou o teor de Zn foliar (GRĚMAN *et al.*, 2001) o que corrobora com o resultado deste trabalho (Figuras 8 e 9). CHEN *et al.* (2004) relataram que a micorrização aumentou as concentrações de Zn nas folhas, colmo e raízes quando o EDTA foi aplicado na dose de 10 mmol kg<sup>-1</sup>.

A concentração e o acúmulo de B na parte aérea também aumentaram com o aumento de B no solo (Figura 10 e 11). SALINAS *et al.* (1982), citado por MELLO *et al.* (2002), obtiveram aumento na concentração de B nas folhas com o aumento do conteúdo desse elemento no substrato. Já MELLO *et al.* (2002) obtiveram resultados contrários ao deste experimento. Uma explicação para o aumento na concentração e no acúmulo de B, após a aplicação do EDTA, é o fato das plantas terem sido colhidas com idades diferentes. As plantas dos tratamentos após a aplicação de EDTA foram mantidas 7 dias a mais que as plantas dos tratamentos antes da aplicação do EDTA, e com isso, as

plantas ficaram em contato com o solo por um tempo maior, podendo, então, absorver maior quantidade de B. Outro ponto é a presença de excesso de zinco que reduz a acumulação e a toxicidade de B nas plantas em crescimento em solos contendo quantidade elevadas de B (MORAGHAN & MASCAGNI, 1991 citado por LIMA, 2006). Portanto o aumento do Zn pela aplicação do EDTA pode ter minimizado o efeito da toxicidade de B.

A aplicação de EDTA diminuiu a concentração de P na parte aérea das plantas tanto no solo-controle quanto no contaminado (Figura 14). Esse dado é contrário ao encontrado por CHEN *et al.* (2004), que observaram que a concentração de P nas folhas e raízes tenderam a aumentar com o aumento das doses de EDTA aplicadas (0; 2,5 e 10 mmol kg<sup>-1</sup>), com exceção da concentração de P no colmo, que diminuiu com o aumento das doses de EDTA e com a adição de 600 mg kg<sup>-1</sup> de Zn, que corresponde aproximadamente à concentração de Zn encontrada no solo contaminado no presente experimento.

Plantas cultivadas em solo contaminado mostraram maior concentração e acúmulo de P na parte aérea que as plantas cultivadas em solo-controle (Figuras 14 e 15). MOLTOCARO (2007), em sua revisão, salienta que a solubilização de fosfatos insolúveis por atividade microbiana ou radicular aumenta a disponibilidade de P no solo. Essa pode ser uma explicação para o fato de o solo contaminado ter favorecido a absorção e acúmulo de P na planta, pois o solo contaminado foi retirado de uma área com vegetação rasteira abundante, enquanto que o solo controle, de uma área adjacente onde o solo estava compactado e com pouca vegetação rasteira, somente com presença de eucalipto.

De acordo com SMITH & READ (1997), citado por WANG *et al.* (2005), o mecanismo envolvido na interação entre colonização por FMA e acumulação MPs inclui efeito de diluição dos elementos tóxicos ligados ao aumento do crescimento da planta, devido à nutrição por P, seqüestro dos elementos tóxicos nas estruturas fúngicas e desenvolvimento de tolerância pela presença de FMAs. A colonização micorrízica diminuiu com o aumento da proporção de solo contaminado na mistura solo-controle e solo contaminado (Figura 5). Também se verificou que, no solo contaminado, a colonização micorrízica não variou com o tratamento fúngico aplicado. Estudos realizados por ANDRADE *et al.* (2004) e SIQUEIRA *et al.* (1999) mostraram que o aumento na concentração de MPs no solo pode reduzir a colonização micorrízica. Entretanto, VOGEL-MIKUS *et al.* (2006) observaram resultado contrário, ou seja,

aumento da colonização micorrízica com aumento da concentração de MPs. CHEN *et al.* (2004) verificaram que a colonização radicular excedeu 70% quando não foi adicionado Zn, enquanto que sua adição reduziu a colonização micorrízica para 50%. Uma provável explicação para a diminuição da colonização micorrízica com o aumento da concentração de MPs e B no solo pode ser uma possível sensibilidade dos FMAs à contaminação. ANDRADE *et al.* (2003) observaram sensibilidade da simbiose micorrízica ao excesso de Pb no solo. Alguns metais podem ter efeito fungicida, reduzindo a germinação de esporos e, conseqüentemente, a colonização da raiz de plantas em solos com excesso de metais (NOGUEIRA, 1996). O EDTA não influenciou significativamente a colonização micorrízica. Esses dados estão de acordo com CHEN *et al.* (2004), que observaram que a aplicação de EDTA não teve influência detectável na taxa de colonização radicular.

A redutase do nitrato é uma enzima catalisadora que reduz o nitrato a nitrito no citoplasma das plantas. A atividade da redutase do nitrato aumentou com o aumento da proporção de solo contaminado na mistura solo-controle e solo contaminado, nos tratamentos com plantas colonizadas por FN e FN+GI depois da aplicação de EDTA (Figura 7). Segundo EPSTEIN & BLOOM (2006), a atividade da enzima aumenta com o aumento da concentração de  $\text{NO}_3^-$ . No presente estudo, observou-se que o teor e o acúmulo de N na parte aérea das plantas colonizadas por FN e FN+GI, cultivadas no solo contaminado, aumentou com a aplicação de EDTA (Tabela 6 e 7), o que pode explicar o aumento da atividade da enzima nestes tratamentos. Entretanto, MAHBOOBI *et al.* (2002) e KASTORI & PETROVIĆ (1989) mostraram que tanto a deficiência quanto a toxicidade de B diminuem a atividade da redutase do nitrato. KASTORI & PETROVIĆ (1989) relatam que a diminuição na atividade da redutase do nitrato com aumento da concentração pode ser explicada pelo fato do Mo, ligado à enzima, e o B serem mutuamente antagonistas. Dessa forma, o excesso de B causa uma deficiência de Mo. A redução na atividade da redutase do nitrato também foi observada com o aumento da concentração de Cd, segundo BOUSSAMA *et al.* (1999). No presente estudo, apesar do aumento da atividade da redutase do nitrato em alguns tratamentos, os valores encontrados foram muito baixos.

A fosfatase ácida é uma enzima relacionada à aquisição e eficiência do uso de P nas plantas (YUN & KAEPLER, 2001). Essa enzima é uma hidrolase que promove a hidrólise do fosfato, transformando o fosfato orgânico em fosfato inorgânico (BRESEGHELO *et al.*, 1992). Plantas com deficiência de P mostram geralmente uma

atividade da fosfatase ácida mais elevada, a qual garante suprimento de P dos tecidos mais velhos, por hidrólise do P orgânico e remobilização para as partes apicais em crescimento (FURLANI & MACHADO, 2002). Portanto, a atividade de fosfatase em plantas é comumente mais elevada em condições de deficiência de fósforo que em situação de suprimento adequado (ROSSI & MONTEIRO, 1999).

Os níveis de P no solo, tanto no controle como nas proporções com solo contaminado, estão adequados, na faixa de 38 a 82 mg dm<sup>-1</sup> (Tabela 2), e as concentrações de P na parte aérea das plantas também (Figura 11), não justificando o aumento na atividade da enzima fosfatase ácida (Figura 14). Além disso, apesar da concentração de P nas proporções de solo-controle e solo contaminado maior que 50% ter sido menor que no solo-controle e na proporção de 25% (Tabela 2), ainda foi alta para garantir adequado suprimento à planta. Entretanto, as plantas estavam em uma condição de estresse acentuado devido à alta concentração de Cu, Zn e B no solo contaminado, o que pode ter aumentado sua atividade em função de um desequilíbrio fisiológico da planta. A fosfatase ácida está relacionada à hidrólise intracelular de fosfatos e a sua expressão é regulada por vários fatores ambientais e fisiológicos (DUFF *et al.*, 1994). Esta enzima tem sido relacionada à senescência de folhas (SNAPP & LYNCH, 1996) e já foi observado aumento na sua atividade em folhas de rabanete cultivado sob concentrações excessivas de Cr (DUBE *et al.*, 2004) e também em girassol cultivado sob excesso de Pb (OLIVARES, 2003).

LIDON & HENRIQUES (1998) não observaram inibição da atividade dessa enzima, mas observaram aumento nas concentrações de Cu nos vacúolos e sugeriram que o metal seqüestrado no vacúolo pode estar em uma forma não-reativa. Os autores também verificaram que o conteúdo de grupos SH no vacúolo aumentou com o conteúdo de Cu e sugere que a fração de Cu contida no vacúolo é inativada pela ligação a grupos tiol que o deixam inofensivo à atividade da enzima.

Resumidamente, pode-se constatar que as concentrações de Cu, Zn e B aumentaram com o aumento da porcentagem de solo com resíduo. A análise do fracionamento mostrou que aplicação do EDTA disponibilizou o Zn e o Cu para a solução do solo, facilitando desta forma a absorção dos metais pelas plantas de feijão-de-porco, principalmente pelas cultivadas no solo contaminado, que, em consequência, concentraram e acumularam maior quantidade de Zn e Cu na parte aérea. O aumento no teor de metais e B na parte aérea causou uma redução da massa de matéria seca da parte aérea em função do incremento na concentração de metais e B no solo. Devido ao

estresse causado pela da aplicação do EDTA e pelo aumento da concentração de Cu, Zn e B, as plantas de feijão-de-porco tiveram mudanças no seu metabolismo, verificando aumento nas atividades das enzimas fosfatase ácida e redutase do nitrato nas folhas. A atividade da redutase do nitrato aumentou provavelmente pelo aumento na concentração e no acúmulo de N na parte aérea. De maneira geral, a inoculação de fungos micorrízicos arbusculares não alterou os parâmetros de desenvolvimento e extração dos metais pelas plantas, sendo que os FMAs nativos foram os mais eficientes, e, portanto, desnecessária a inoculação desses FMAs exógenos.

KANDELER *et al.* (1996) relataram que metais pesados têm um efeito negativo nos parâmetros biológicos do solo. ANDRADE & SILVEIRA (2004) observaram que, em solo com propágulos de FMA e amostrado no florescimento da soja, a respiração basal manteve-se constante e a biomassa microbiana reduziu, o que poderia indicar uma menor eficiência de utilização do C pelas populações microbianas. No presente trabalho, a respiração basal do solo foi maior no solo contaminado, o que pode estar relacionado ao estresse da condição do solo, e nos solos em que houve inoculação de FMAs (Figura 16). Já o C da biomassa microbiana (Figura 17) diminuiu no solo contaminado, em quase todos os tratamentos, apresentando, portanto, comportamento contrário ao da respiração. Pode-se inferir, então, que a comunidade microbiana estava em condições de estresse. Solos poluídos por MPs estariam sob estresse, havendo menor eficiência de utilização do C, o que resulta em maior liberação de CO<sub>2</sub> por unidade de substrato (INSAM *et al.*, 1996). Estudos relatam que a respiração basal (TYLER, 1974) e a biomassa microbiana diminuem com o aumento da concentração de metais no solo (HERNÁNDEZ-ALLICA *et al.*, 2006; KANDELER *et al.*, 1996; VALSECCHI *et al.*, 1995). HEMIDA *et al.* (1997) observaram que a adição de Zn e Cu causaram redução na comunidade de microrganismos.

O solo contaminado foi retirado de uma área com cobertura vegetal e o solo-controle de uma área sem cobertura vegetal, ou seja, a área contaminada possuía maior atividade rizosférica, onde há maior concentração de nutrientes orgânicos providos das raízes (CARDOSO & FREITAS, 1992), que a área não contaminada. Isso pode explicar, em parte, o aumento da respiração no solo contaminado, já que o incremento de matéria orgânica aumenta a liberação de CO<sub>2</sub>, principalmente das populações metabolicamente ativas que são as mais afetadas pelo excesso de metais no solo (INSAM *et al.*, 1996).

O carbono orgânico (C<sub>org</sub>) foi maior no solo contaminado que no solo-controle (Figura 19). Os resultados do presente experimento estão de acordo com os de

VALSECCHI *et al.* (1995), que verificaram que o conteúdo de  $C_{org}$  estava extremamente alto nos solos com os maiores teores de metais pesados. Os autores relatam que o nível elevado de MPs dos solos poluídos interfere na mineralização do C, levando a um acúmulo gradual de C orgânico no solo, devido provavelmente à menor eficiência da microbiota na mineralização da matéria orgânica do solo nessas condições.

Segundo MELLONI *et al.* (2001), o quociente metabólico ( $qCO_2$ ) representa a quantidade de C- $CO_2$  liberada por unidade de C-microbiano. No geral, são encontrados maiores valores de  $qCO_2$  em condições adversas à comunidade microbiana, onde se gasta mais C oxidável para sua manutenção. Esses autores verificaram que o  $qCO_2$  aumentou na dose de resíduo com maior teor de MPs. O quociente metabólico foi também maior no solo contaminado do que no solo-controle (Figura 18) e foi acompanhado pela diminuição do C da biomassa microbiana (Figura 17). Esse fato foi observado por BERTON *et al.* (2006), que observaram uma diminuição do C microbiano do solo e aumento no  $qCO_2$  nos tratamentos com altas concentrações de Ni. Esses autores inferiram que a redução da biomassa nos solos com altas doses de Ni ocorre em razão, principalmente, da síntese ineficiente de biomassa e concluem que o  $qCO_2$  foi um indicador adequado do grau de estresse causado pela adição de Ni sobre a comunidade microbiana do solo. Segundo ANDRADE & SILVEIRA (2004), o  $qCO_2$  revelou que a comunidade microbiana do solo sofreu um estresse na dose de  $300\text{ mg dm}^{-3}$  de Pb, aumentando em três vezes em relação ao controle.

Quociente microbiano é um indicador da disponibilidade da matéria orgânica para os microrganismos (LEITE *et al.*, 2003) e tem sido considerado bom indicador das alterações dos processos biológicos no solo (BALOTA *et al.*, 1998). Segundo MARCHIORI JÚNIOR & MELLO (1999), maiores valores de  $qMIC$  indicam uma maior conversão do  $C_{org}$  em  $C_{mic}$ . De acordo com ANDERSON & DOMSCH (1989), citado por FIALHO *et al.* (2006), um maior  $qMIC$  representa maior ciclagem de nutrientes e, portanto, menor acúmulo de carbono; enquanto que um menor  $qMIC$  representa menor ciclagem de nutrientes e, conseqüentemente, maior acúmulo de carbono. Neste estudo, verificou-se que o  $qMIC$  foi maior no solo-controle que no solo contaminado, podendo-se inferir que o solo-controle converteu mais  $C_{org}$  em  $C_{mic}$ , ou seja, houve uma maior ciclagem de nutrientes que no solo contaminado. A aplicação de EDTA no solo-controle provocou comportamento semelhante à contaminação, pois a aplicação diminuiu o valor de  $qMIC$ . Constatou-se que o solo rizosférico de plantas colonizadas por FN (FMAs nativos) apresentou aumento na ciclagem de nutrientes, pois houve maior valor de  $qMIC$ . Isto

mostra que os FMAs associados à raiz interferem na exsudação radicular, variando o efeito rizosférico, que estimula de forma também diferente a atividade microbiana.

A atividade da desidrogenase no solo reflete a atividade oxidativa total da microbiota e, como é intracelular e de baixa atividade quando em estado livre no solo, pode atuar como um bom indicador da atividade microbiana (GARCIA *et al.*, 1997). A atividade da desidrogenase é fortemente alterada pela contaminação com MPs e sua atividade diminui em solos com altos níveis de contaminação (KANDELER *et al.* 1996; SIMONA *et al.* 2004). Esses dados corroboram com os encontrados neste experimento, onde a atividade da enzima foi maior no solo-controle que no solo contaminado (Figura 22). CHANDER & BROOKES (1991a) sugeriram que o ensaio de desidrogenase está sujeito à interferência de Cu no solo porque o Cu previne o desenvolvimento de cor do produto liberado - trifenil formazan. Isso pode explicar a diminuição da atividade da enzima no solo contaminado, pois este continha alta concentração de Cu, que pode ter impedido a coloração, ou a um efeito direto do Cu na atividade da enzima.

Portanto, a comunidade microbiana do solo foi sensível à contaminação pelos metais (Zn e Cu) e B e a aplicação do EDTA. A biomassa microbiana diminuiu no solo contaminado, enquanto a respiração basal aumentou, o que está relacionado ao estresse causado pelo aumento da contaminação. Possivelmente, houve uma menor eficiência na utilização do C, resultando em maior liberação de CO<sub>2</sub>, observando-se, portanto, aumento no quociente metabólico no solo contaminado, o que mostra que este parâmetro é um indicador adequado da qualidade deste solo contaminado. O quociente microbiano também pode ser considerado um indicador sensível ao estresse presente neste solo em estudo, pois o  $qMIC$  foi maior no solo-controle, onde houve maior conversão do C<sub>org</sub> em C<sub>mic</sub>, ou seja, maior ciclagem de nutrientes que no solo contaminado. A aplicação de EDTA no solo-controle provocou comportamento semelhante ao do solo com contaminação, pois a aplicação diminuiu o valor de  $qMIC$ . A maior quantidade de C orgânico foi verificada no solo contaminado e após a aplicação do EDTA, mostrando que houve uma menor conversão para o C microbiano. A atividade da desidrogenase comprovou que a contaminação e a aplicação do quelante são deletérios à microbiota do solo, pois a atividade dessa enzima diminuiu com o excesso de B, Zn e Cu e com a aplicação do EDTA, mostrando-se, portanto, um indicador microbiológico adequado da qualidade do solo em estudo.

## 6 CONCLUSÕES

a) A aplicação de EDTA aumenta a disponibilidade de metais no solo, principalmente na situação e que seus teores já são elevados;

b) As plantas de feijão-de-porco, cultivadas em solo com altos teores de Zn, Cu e B, conseguem extrair e acumular esses metais e o B na parte aérea, apresentando certa tolerância às altas concentrações de Zn, Cu e B no solo;

c) O feijão-de-porco pode ser considerado uma planta hiperacumuladora de B.

d) A inoculação de *G. intraradices* e *G. macrocarpum* não reverteu em maiores benefícios ao desenvolvimento da planta e nem à extração de MPs e B do solo;

e) A atividade das enzimas fosfatase ácida e redutase do nitrato em folhas de plantas de feijão-de-porco aumenta com aplicação do EDTA;

f) A liberação de CO<sub>2</sub> e a biomassa microbiana do solo não são parâmetros microbiológicos sensíveis à aplicação de EDTA;

g) O  $qCO_2$ ,  $qMIC$  e a atividade da desidrogenase são indicadores microbianos adequados do estresse causado pelo excesso de Zn, Cu e B no solo.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. **Contaminação química e biorremediação do solo**. In: NOVAES, R. F.; ALVAREZ, V. H. V.; SCHAEFER, C. E. G. R. (Ed.). *Tópicos em Ciência do Solo*. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 299-352, 2000.

AHNSTROM, Z.S.; PARKER, D.R. Development and Assessment of a Sequential Extraction Procedure for the Fractionation of Soil Cadmium. **Soil Science Society of America Journal**, v. 63, p. 1650-1658. 1999

ALEF, K. Soil respiration. In: Alef K.; Nannipieri P. (Ed). *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. **Academic Press**, London. p. 214-219, 1995.

AMBROSANO, E.J.; TANAKA, R.T.; MASCARENHAS, H.A.A.; RAIJ, B. VAN; QUAGGIO, J.A.; CANTARELA, H. **Leguminosas e Oleaginosas**. In: Raij, B.V.; Cantarela, H.; Quaggio, J.A.; Furlani, A.M.C, *Boletim técnico 100*, Campinas, Instituto Agrônômico, p189-203, 1997.

ANDERSON, T.H. Physiological analysis of microbial communities in soil: applications and limitations. In: Ritz K.; Dighton J.; Giller K.E. (Ed). *Beyond the biomass*. **British Society of Soil Science**, London. p. 67-76, 1994.

ANDRADE, S.A.L.; ABREU, C.A.; ABREU, M.F.; SILVEIRA, A.P.D. Interação de chumbo, da saturação por bases do solo e de micorriza arbuscular no crescimento e nutrição mineral da soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, p. 945-954, 2003.

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

ANDRADE, S.A.L.; JORGE, R.A.; SILVEIRA, A.P.D. Cadmium effect an the association of jackbean (*Canavalia ensiformis*) and arbuscular mycorrhizal fungi. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, n. 4, p. 389-394, 2005.

ANDRADE, S.A.L.; SILVEIRA, A.P.D. Biomassa e atividade microbianas do solo sob influência de chumbo e da rizosfera da soja micorrizada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 12, p. 1191-1198, 2004.

ANDRÉA, M.M.; MORENO HOLLWEG, M.J. Comparação de métodos para determinação de biomassa microbiana em dois solos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, p. 981-986, 2004.

ANDREOLA, F.; FERNADES, S.A.P. **Microbiota do Solo na Agricultura Orgânica e no Manejo das Culturas**. In: Silveira, A.P.D.; Freitas, S.S. (Ed.), *Microbiologia do solo e qualidade ambiental*, Campinas: Instituto Agronômico, p.21-37, 2007.

ARAÚJO, A.S.F.; MONTEIRO, R.T.R. Indicadores biológicos de qualidade do solo. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 23, n. 3, p. 66-75, 2007.

AUDET, P.; CHAREST, C. Effects of AM colonization on “wild tobacco” plants grown in zinc-contaminated soil. **Mycorrhiza**, v. 16, p. 277-283, 2006.

BALOTA, E. L.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D. S.; HUNGRIA, M. Biomassa microbiana e sua atividade em solos sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.22, n.4, p.641-649, 1998.

BATAGLIA, O.C.; FURLANI, A.M.C.; TEIXEIRA, J.P.F.; FURLANI, P.R.; GALLO, J.R. Métodos de análise química de plantas. **Boletim Técnico 78**, Instituto Agronômico, Campinas, 1984. 48p.

BRESEGHELO, M.L.; OLIVEIRA, I.P.; THUNG, M.D.T. Resposta de cultivares de feijão ao teste de fosfatase ácida. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.27, p. 647-654, 1992.

BERTON, R.S.; PIRES, A.M.M.; ANDRADE, S.A.L.; ABREU, C.A. AMBROSANO, E.J.; SILVEIRA, A.P.D. Toxicidade do níquel em plantas de feijão e efeitos sobre a microbiota do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 8, p. 1305-1312, 2006.

BESTFORD, R. T. A rapid tissue test for diagnosing phosphorus deficiency in tomato plant. **Annals of Botany**, London, v. 45, p. 227-335, 1980.

BLAYLOCK, M. J.; SALT, D.E.; DUSHENKOV, S.; ZAKHAROVA, O.; GUSSMAN, C.; KAPULNIK, Y.; ENSLEY, B.D.; RASKIN, I. Enhanced Accumulation of Pb in Indian Mustard by Soil-Applied Chelating Agents. **Environmental Science & Technology**, v. 31, p. 860-865, 1997.

BOUSSAMA, N.; OUARITI, O.; GHORBAL, M.H. Changes in Growth and Nitrogen Assimilation in Barley Seedlings Under Cadmium Stress. **Journal of Plant Nutrition**, v. 22, p. 731–752, 1999.

CAMARGO, O.A. Reações e interações de micronutrientes no solo. **2006**. [http://www.infobibos.com/Artigos/2006\\_3/micronutrientes/Index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2006_3/micronutrientes/Index.htm) (18/01/2008).

CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FIDÊNCIO, P.H. Determinação de matéria orgânica – Método do bloco digestor. IAC-CSRA (uso interno), 1999.

CARDOSO, E.J.B.N.; FREITAS, S.S. **A Rizosfera**. In: Cardoso, E.J.N.; Tsai S.M.; Neves H.C.P. (Ed.), *Microbiologia do solo*, Campinas: SBCS, p.41-57, 1992.

CARNEIRO, M.A.C.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S. Estabelecimento de plantas herbáceas em solo com contaminação de metais pesados e inoculação de fungos micorrizados arbusculares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 12, p. 1443-1452, 2001.

CASIDA, L.E.; KLEIN, D.A.; SANTORO, T. Soil dehydrogenase activity. **Soil Science**, v.98, p. 371-376, 1964.

CHANDER, K.; BROOKES, P.C. Is the dehydrogenase assay invalid as a method to estimate microbial activity in Cu-contaminated soils? **Soil Biology and Biochemistry**, v. 23, p. 909-915, 1991a.

CHANDER, K.; BROOKES, P. Microbial biomass dynamics during the decomposition of glucose and maize in metal-contaminated and non contaminated soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v.23, p.917-925, 1991b.

CHANDER, K.; JOERGENSEN, R.G. Decomposition of <sup>14</sup>C glucose in two soils with different amounts of heavy metal contamination. **Soil Biology and Biochemistry**, v.33, p.1811-1816, 2001.

CHEN, B.; SHEN, H.; LI, X.; FENG, G.; CHRISTIE, P. Effects of EDTA application and arbuscular mycorrhizal colonization on growth and zinc uptake by maize (*Zea mays* L.) in soil experimentally contaminated with zinc. **Plant and Soil**, v. 261, p. 219-229, 2004.

DINARDI, A. L.; FORMAGI, V. M.; CONEGLIAN, C. M. R.; BRITO, N. N.; SOBRINHO, G. D.; TONSO, S.; PELEGRINI, R. Fitorremediação. In: III Fórum de Estudos Contábeis, Faculdades Integradas Claretianas – Rio Claro, São Paulo, 2003.

DORAN, J.W.; PARKIN, T.B. **Defining and assessing soil quality**. In: J.W. Doran, D.C. Coleman, D.F. Bezdicek and B.A. Stewart (eds.). *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment*. SSSA Special Publication Number 35, Madison, Wisconsin, USA, p. 3-21, 1994.

DUBE, B.K.; SINHA, P.; GOPAL, R.; CHATTERJEE, C. Chromium Phytotoxicity Alters Metabolism in Radish. **Journal of Vegetable Crop Production**, v. 10, p. 61-72, 2004.

DUFF, S.M.G.; SARATH, G.; PLAXTON, W.C. The role of acid phosphatases in plant phosphorus metabolism. **Physiologia Plantarum**, v. 90, p. 791-800. 1994.

EPSTEIN, E. BLOOM, A. Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas. 2ed. Londrina: Editora Planta, 2006. 403p.

EPSTEIN, A.L.; GUSSMAN, C.D.; BLAYLOCK, M.J.; YERMIYAHU, U.; HUANG, J.W.; KAPULNIK, Y.; ORSER, C.S. EDTA and Pb-EDTA accumulation in Brassica juncea grown in Pb-amended soil. **Plant and Soil**, v. 208, p. 87-94, 1999.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. **In...**45<sup>a</sup> Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade internacional de Biometria. UFSCar, São Carlos, SP, Julho de 2000. p. 255-258.

FIALHO, J.S.; GOMES, V.F.F.; OLIVEIRA, T.S.; SILVA JÚNIOR, J.M.T. Indicadores da qualidade do solo em áreas sob vegetação natural e cultivo de bananeiras na Chapada do Apodi-CE. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 37, n. 3, p. 250-257, 2006.

FIRME, L.P. Cinética de degradação microbiológica de torta de filtro no solo na presença de Cádmio e Níquel. 2005. 74p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

FUNGARO, D.A.; FUES, M.S.M.; CELEBRONI, A.P. Estabilização de solo contaminado com zinco usando zeólita sintetizadas a partir de cinzas de carvão. **Química Nova**, v. 27, n. 4, p. 582-585, 2004.

FURLANI, A.M.C.; MACHADO, C.T.T. **Variabilidade e herança da eficiência na absorção e utilização de nutrientes em ambientes marginais, em germoplasma de soja, trigo, arroz e milho.** In: ALVAREZ V, V.H.; SCHAEFER, C.E.G.R.; BARROS, N.F.; MELLO, J.W.V.; COSTA, L.M. (Ed.). Tópicos em ciência do solo. Viçosa: SBCS, p. 337- 391, 2002

GALLI, U.; SCHUEPP, H.; BRUNOLD, C. Thiols of Cu- treated maize plants inoculated with the arbuscular-mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. **Physiologia Plantarum**, v. 94, p. 247-253, 1995.

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.

GARCIA, T.C; HERNANDEZ, T.; COSTA, F. Potential use of dehydrogenase activity as index of microbial activity in degraded soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 28, p. 123-134, 1997.

GAUR, A.; ADHOLEYA, A. Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. **Current Science**, v. 86, n. 4, p. 528-537, 2004

GIOVANETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, Cambridge, v. 84, p.489-500, 1980.

GONZÁLES-CHÁVEZ, M. C.; CARRILLO-GONZÁLES, R.; WRIGHT, S. F. & NICHOLS, K. A. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. **Environmental Pollution**, v. 130, p. 317-323, 2004.

GRATÃO, P.L.; PRASAD, M.N.V.; CARDOSO, P.F.; LEA, P.J.; AZEVEDO, R.A. Phytoremediation: green technology for the clean up of toxic metals in the environment. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campinas, v. 17, n. 1, p. 53-64, 2005.

GRĚMAN, H.; VELIKONJA-BOLTA, Š; VODNIK, D.; KOS, B.; LEŠTAN, D. EDTA enhanced heavy metal phytoextraction: metal accumulation, leaching and toxicity. **Environmental Pollution**, v. 235, p. 105-104, 2001.

GRĚMAN, H.; VELIKONJA-BOLTA, Š; VODNIK, D.; KOS, B.; LEŠTAN, D. Ethylenediaminedissuccinate as a new chelate for environmentally safe enhanced lead phytoextraction. **Journal Environmental Quality**, v. 32, p. 500-506, 2003.

GUILHERME, L.R.G. Poluição do solo no ambiente agrícola. In: Resumos da XXV Semana de Ciência e Tecnologia Agropecuária, Jaboticabal, 2000.

GUNES, A.; SOYLEMEZOGLU, G.; INAL, A.; BAGCI, E.G.; COBAN, S.; SAHIN, O. Antioxidant and stomatal responses of grapevine (*Vitis vinifera* L.) to boron toxicity. **Scientia Horticulturae**, v. 110, p. 279–284, 2006.

HAGEMAN, R.H.; FLESHER, D. Nitrate reductase activity in corn seedling as effected by light and nitrate content of nutrient media. **Plant Physiology**, v. 35, p. 700-708, 1960.

HEMIDA, S.K.; OMAR, S.A.; ABDEL-MALLEK, A.Y. Microbial populations and enzyme activity in soil treated with heavy metal. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 95, p. 13-22, 1997.

HERNÁNDEZ-ALLICA, J.; BECERRIL, J.M.; ZÁRATE, O.; GARBISU, C. Assessment of the efficiency of a metal phytoextraction process with biological indicators of soil health. **Plant and Soil**, v. 281, p. 147-158, 2006.

HEWITT, E.J. Physiological and biochemical factors wich control the assimilation of inorganic nitrogen supplies by plants. In "Nitrogen Nutrition of the Plant", E.A. Kirkby (ed.), Un. Leeds, p. 78-203. 1970.

HUANG, J.W.; CHEN, J.; BERTI, W. R.; & CUNNINGHAM, S.D. Phytoremediation of Lead-Contaminated Soils: Role of Synthetic Chelates in Lead Phytoextraction, **Environmental Science & Technology**, v. 31, p. 800-805, 1997.

INSAM, H.; HUTCHINSON, T.C.; REBER, H.H. Effects of heavy metal stress on the metabolic quotient of the soil microflora. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 28, p. 691-694, 1996.

JONER, E. J.; LEYVAL, C. Uptake of <sup>109</sup>Cd by roots and hyphae of a *Glomus mosseae*/*Trifolium subterraneum* mycorrhiza from soil amended with high and low concentrations of cadmium. **New Phytologist**, v. 135, p. 353-360, 1997.

JURKIEWICZ, A.; ORLOWISKA, E.; ANIELSKA, T.; GODZIK, B.; TURNAU, K. The influence of mycorrhiza and EDTA application on heavy metal uptake by different maize varieties. **Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica**, v. 46, p. 7-18, 2004.

KANDELER, E.; KAMPICHLER, C.; HORAL, O. Influence of heavy metal on the functional diversity of soil microbial communities. **Biology and Fertility of Soils**, v. 23, p. 299-306, 1996.

KASTORI, R.; PETROVIĆ, N. Effect of boron on nitrate reductase activity in young sunflower plants. **Journal of Plant Nutrition**, v.12, n. 5, p. 621-632, 1989.

KELLY, J.J.; HÄGGBLUM, M.M.; TATE, R.L. Effects of heavy metal contamination and remediation on soil microbial communities in the vicinity of a zinc smelter as indicated by analysis of microbial community phospholipid fatty acid profiles. **Biology and Fertility of Soils**, v. 38, p. 65-71, 2003.

KIM, S. K.; LEE, B.S.; WILSON, D. B.; KM, E.K. Selective cadmium accumulation using recombinant *Escherichia coli*. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 99, n. 2, p. 109-114, 2005.

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

LEE, Y.J.; GEORGE, E. Contribution of mycorrhizal hyphae to the uptake of metal cations by cucumber plants at two levels of phosphorus supply. **Plant and Soil**, v. 278, p. 361-370, 2005.

LEITE, L.F.C.; MENDONÇA, E.S.; NEVES, J.C.L.; MACHADO, P.L.O.A.; GALVÃO, J.C.C. Estoques totais de carbono orgânico e seus compartimentos em argissolo sob floresta e sob milho cultivado com adubação mineral e orgânica. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, p. 821-832, 2003.

LEUNG, H. M.; YE, Z. H.; WONG, M. H. Interactions of mycorrhizal fungi with *Pteris vittata* (As hyperaccumulator) in As-contaminated soils. **Environmental Pollution**, v. 139, p. 01-08, 2006.

LIDON, F.C.; HENRIQUES, F.S. Role of rice shoot vacuoles in copper toxicity regulation. **Environmental and Experimental Botany**, v.39, p. 197–202, 1998.

LIMA, V.I. Crescimento e produção de gergelim cv. G3 em função de zinco e boro. 2006. 61p. Monografia Graduação - UFPB/CCA, Universidade Federal da Paraíba "Centro de Ciências Agrárias", Areia, 2006.

LOTH, F. G.; HÖFNER, W. Einfluss der VA-mykorrhiza auf Schwermetallaufnahme von Hafer (*Avena sativa* L.) in Abhängigkeit von Kontaminationsgrad der Böden. **Z Pflanzenernaehr Bodenkd**, v. 158, p. 339-345, 1995.

MAHBOOBI, H.; YÜCEL, M.; ÖKTEM, H.A. Nitrate reductase and glutamate dehydrogenase activities of resistant and sensitive cultivars of wheat and barley under boron toxicity. **Journal of Plant Nutrition**, v. 25, n. 8, p. 1829–1837, 2002.

MARCHIORI JÚNIOR, M.; MELO, W. J. Carbono, carbono da biomassa microbiana e atividade enzimática em um solo sob mata natural, pastagem e cultura do algodoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.23, n.2, p.257-263, 1999.

MELLO, S. C.; DECHEN, A. R.; MINAMI, K. Influência do boro no desenvolvimento e na composição mineral do pimentão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 99–102, março 2002.

MELO, E. E. C.; NASCIMENTO, C. W.A.; SANTOS, A. C. Q. Solubilidade, fracionamento e fitoextração de metais pesados após aplicação de agentes quelantes. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, p. 1051-1060, 2006.

MELLONI, R.; SILVA, F.A.M.; MOREIRA, F.M.S.; FURTINI NETO, A.E. Pó de forno de aciaria elétrica na microbiota do solo e no crescimento de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 12, p. 1547-1554, 2001.

MOLTOCARO, R.C.R. Guandu e micorriza no aproveitamento do fosfato natural pelo arroz em condições de casa-de-vegetação. 2007. 49p. Dissertação (Mestrado) – Instituto Agronômico, Campinas.

NASCIMENTO, C.W.A.; XING, B. Phytoextraction: A review on enhanced metal availability and plant accumulation. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 63, n. 3, p. 299-311, 2006.

NAVARRO, S.S.; CARVALHO, W.A. Remediação de solos contaminados por metais pesados. In: I Mostra de trabalhos de conclusão de cursos, 2003. [http://www.puc-campinas.edu.br/pesquisa/i\\_semana\\_cientifica/resumos\\_tcc.aspx](http://www.puc-campinas.edu.br/pesquisa/i_semana_cientifica/resumos_tcc.aspx) (20 dezembro 2005).

NOGUEIRA, A.V. **As micorrizas e o excesso de metais**. In: SIQUEIRA, J.O., (Ed.), *Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas*, Lavras, Universidade Federal de Lavras, p.135-174, 1996.

OLIVEIRA, M.F.G.; NOVAIS, R.F.; NEVES, J.C. L.; VASCONCELOS, C.A. & ALVES, J.C.L. Relação entre o zinco "disponível", por diferentes extratores, e as frações de zinco em amostras de solos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 23:827-836, 1999.

PAGOTTO C., RÉMY N., LEGRET M. E LE CLOIREC P. Heavy metal pollution of road dust and roadside soil near a major rural highway. **Environmental Technology**, v. 22, p. 307-319, 2001.

PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 55, p. 158-60, 1970.

PIRES, F. R.; SOUZA, C. M.; CECON, P. R.; SANTOS, J. B.; TÓTOLA, M. R.; PROCÓPIO, S. O.; SILVA, A. A., SILVA, C. S. W. Inferências sobre atividade rizosférica de espécies com potencial para fitorremediação do herbicida tebuthiuron. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, p. 627-634, 2005.

PIRES, F.R.; SOUZA, C.M.; SILVA, A.A.; PROCÓPIO, S.O.; FERREIRA, L.R. Fitorremediação de solos contaminados com herbicidas. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 21, n. 2, p. 335-341, 2003.

QUENTAL, N. A biorremediação de solos contaminados. **2002**. [http://www.escolasverdes.org/quem\\_solos/nuno/naturlink](http://www.escolasverdes.org/quem_solos/nuno/naturlink) (20 dezembro 2005).

RAIJ, B. VAN; QUAGGIO, J.A. Métodos de análise de solo para fins de fertilidade. Boletim técnico 81, Campinas, Instituto Agrônomo, 1983. 31p.

ROSSI, C.; MONTEIRO, F.A. Doses de fósforo, épocas de coleta e o crescimento e diagnose nutricional nos capins braquiária e colônia. **Scientia Agricola**, v. 56, n. 4, p. 1101-1110, 1999. Suplemento

SALT, D.E.; SMITH, R.D.; RASKIN, I. Phytoremediation. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 49, p. 643–668, 1998.

SHUMAN, L.M. Effect of liming on the distribution of manganese, copper, iron, and zinc among soil fractions. **Soil Science Society of America Journal**, v. 50, p. 1236-1240, 1986.

SILVA, G. A.; TRUFEM, S. F. B.; SAGGIN JUNIOR, O. J.; MAIA, L. C. Arbuscular mycorrhizal fungi in a semiarid copper mining in Brazil. **Mycorrhiza**, v. 15, p. 47-53, 2005.

SILVA, M.; SIQUEIRA, E.R.; COSTA, J.L.S. Hidrólise de diacetato de fluoresceína como bioindicador da atividade microbiológica de um solo submetido a reflorestamento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 5, p. 1493-1496, 2004.

SIMONA, C.; ANGELA, R.F.; AMALIA, V.S. Suitability of soil microbial parameters as indicators of heavy metal pollution. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 158, p. 21-35, 2004.

SIQUEIRA, J.O.; POUYFFL, E.; MOREIRA, F.M.S. Micorrizas arbusculares no crescimento pós-transplante de mudas de árvores em solo com excesso de metais pesados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 23, p.569- 580, 1999.

SMYTH, A.J.; DUMANSKI, J. A framework for evaluating sustainable land management. **Can J Soil Sci**, v. 75, p. 401-406, 1995.

SNAPP, S.S.; LYNCH, J.P. Phosphorus distribution and remobilization in bean plants as influenced by phosphorus nutrition. **Crop Science**, v. 36, p. 929-935, 1996.

SPARLING, G.P. Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter. **Australian Journal of Soil Research**, v. 30, p. 195- 207, 1992.

SOARES, C.R.F.S.; ACCIOLY, A.M.A.; MARQUES, T.C.L.L.S.M.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S. Acúmulo e distribuição de metais pesados nas raízes, caule e folhas de mudas de árvores em solo contaminado com rejeitos de indústria de zinco. **Revista Brasileira de fisiologia vegetal**, v. 13, n. 3, p. 302-315, 2001.

SOARES, C.R.F.S.; ACCIOLY, A.M.A.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S. Diagnóstico e reabilitação de área degradada pela contaminação por metais pesados. <http://www.cemac-ufla.com.br/trabalhospdf/Palestra/Palestra%20Jose20Oswaldo.pdf> (20 dezembro 2005).

TURNAU, K. Heavy metal content and localization in mycorrhizal *Euphorbia cyparissias* from Zn waste in Southern Poland. **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**, v. 67, p. 105-113, 1998.

TURNAU, K.; KOTTKE, L.; OBERWINKLER, F. Element localization in mycorrhizal roots of *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn collected from experimental plots treated with cadmium dust. **New Phytologist**, v. 123, p. 313-324, 1993.

TURNAU, K.; MESJASZ-PRZYBYLOWICZ, J. Arbuscular mycorrhiza of *Berkheya coddii* and other Ni-hyperaccumulating members of Asteraceae from ultramafic soils in South Africa. **Mycorrhiza**, v.13, p. 185–190, 2003.

TYLER, G. Heavy metal pollution and soil enzymatic activity. **Plant and Soil**, v. 41, p. 301-311, 1974.

UFPA. TITRIMETRIA DE COMPLEXAÇÃO. <http://www.ufpa.br/quimicanalitica/triti-complexacao.htm>. (10 de março de 2008).

VALARINI, P.J.; ALVAREZ, M.C.D.; GASCÓ, J.M.; GUERRERO, F.; TOKESHI, H. Integrated evolution of soil quality after the incorporation of organic matter and microorganisms. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, n. 33, p. 35-40, 2002.

VALARINI, P.J.; ALVAREZ, M.C.D.; GASCÓ, J.M.; GUERRERO, F.; TOKESHI, H. Assessment of soil properties by organic matter and EM- microorganism incorporation. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, p.519-525, 2003.

VALSECCHI, G.; GIGLIOTTI, C.; FARINI, A. Microbial biomass, activity, and matter accumulation in soils contaminated with heavy metals. **Biology and Fertility of Soils**, v. 20, p. 253–259, 1995.

VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. Na extraction method for measuring soil microbial biomass carbon. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 19, p.703-707, 1987.

VOGEL-MIKUŠ, K.; PONGRAC, P.; KUMP, P.; NEČEMER, M.; REGVAR, M. Colonisation of a Zn, Cd e Pb hyperaccumulator *Thlaspi praecox* Wulfen with indigenous arbuscular mycorrhizal fungal mixture induces changes in heavy metal e nutrient uptake. **Environmental Pollution**, v. 139, p. 362-371, 2006.

WANG, F.; LIN, X.; YIN, R. Heavy metal uptake by arbuscular mycorrhizas of *Elsholtzia splendens* and the potential for phytoremediation of contaminated soil. **Plant and Soil**, v. 269, p. 225-232, 2005.

WIMMER, M.A.; MÜHLING, K.H.; LÄUCHLI, A.; BROWN, P.H.; GOLDBACH, H.E. The interaction between salinity and boron toxicity affects the subcellular distribution of ions and proteins in wheat leaves. **Plant, Cell and Environment**, v. 26, p. 1267–1274, 2003.

YUN, S.J.; KAEPLER, S.M. Induction of maize acid phosphatase activities under phosphorus starvation. **Plant and Soil**, v. 237, p. 109–115, 2001.

ZEITOUNI, C. P. Eficiência de espécies vegetais como fitoextratoras de cádmio, chumbo, cobre, níquel e zinco de um latossolo vermelho amarelo distrófico. 2003. 91p. Dissertação (Mestrado) – Instituto Agrônomo, Campinas.

ZHUANG, P.; YE, Z.H.; LAN, C.Y; XIE, Z.W.; SHU, W.S. Chemically assisted phytoextraction of heavy metal contaminated soils using three plants species. **Plant and Soil**, v. 276, p. 153-162, 2005.

ZILLI, J.É.; RUMJANEK, N.G.; XAVIER, G.R.; COUTINHO, H.L.C.; NEVES, M.P.C. Diversidade microbiana como qualidade de solo. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v. 20, n. 3, p. 391-411, 2003.

# 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](#)