

**FOSFATO E MICORRIZA ARBUSCULAR NA
TOXICIDADE DE METAIS PESADOS PARA A
TREMA (*Trema micrantha* (L.) Blum.) E
BRAQUIÁRIA (*Brachiaria decumbens* Stapf)**

CLÁUDIO ROBERTO FONSÊCA SOUSA SOARES

2004

CLÁUDIO ROBERTO FONSÊCA SOUSA SOARES

FOSFATO E MICORRIZA ARBUSCULAR NA TOXICIDADE DE
METAIS PESADOS PARA A TREMA (*Trema micrantha* (L.) Blum.) E
BRAQUIÁRIA (*Brachiaria decumbens* Stapf)

Tese apresentada à Universidade Federal de
Lavras como parte das exigências do curso
de doutorado em Agronomia, área de
concentração em Solos e Nutrição de
Plantas, para a obtenção do título de Doutor

Orientador:

Prof. José Oswaldo Siqueira

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2004

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Soares, Cláudio Roberto Fonsêca Sousa

Fosfato e micorriza arbuscular na toxicidade de metais pesados para tremema (*Trema micrantha* L.) Blum.) e braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf) / Cláudio Roberto Fonsêca Sousa Soares. -- Lavras : UFLA, 2004.
143 p. : il.

Orientador: José Oswaldo Siqueira.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

I. Recuperação de área degradada. 2. Fitotoxidez. 3. Tolerância. 4. Fungo micorrízico. 5. Nutrição mineral – Absorção. I. Universidade Federal de Lavras.
II. Título.

CDD-631.64

CLÁUDIO ROBERTO FONSÊCA SOUSA SOARES

**FOSFATO E MICORRIZA ARBUSCULAR NA TOXICIDADE DE
METAIS PESADOS PARA A TREMA (*Trema micrantha* (L.) Blum.) E
BRAQUIÁRIA (*Brachiaria decumbens* Stapf)**

Tese apresentada à Universidade Federal
de Lavras, como parte das exigências do
curso de doutorado em Agronomia, área
de concentração em Solos e Nutrição de
Plantas, para obtenção do título de Doutor

APROVADA em 12 de novembro de 2004

Profa. Janice Guedes de Carvalho – DCS/UFLA

Profa. Fátima Maria de Souza Moreira – DCS/UFLA

Profa. Ângela Maria Soares – DBI/UFLA

Prof. Sidney Luiz Sturmer – DCN/FURB



Prof. José Oswaldo Siqueira
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

*Aos meus familiares, em especial a
minha mãe Hilda Fonsêca Sousa, pela
educação, incentivo e carinho.*

Dedico

*“A função da ciência não é acrescentar mais anos à vida,
mas acrescentar mais vida aos anos”.*

(John Osborn)

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e à Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela oportunidade de realização do curso e concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Dr. José Oswaldo Siqueira, pela amizade, orientação segura, conselhos e ensinamentos atualizados.

Aos professores Sidney Luiz Sturmer (DCN-FURB) e Ângela Maria Soares (DBI-UFLA), pela colaboração e sugestões.

A todos os professores do Departamento de Ciência do Solo (DCS) da UFLA, em especial a Fátima Maria S. Moreira, Janice Guedes de Carvalho, Luiz Roberto G. Guilherme e Nilton Curi, pelos ensinamentos ao longo do curso e agradável convivência.

A todos os funcionários do DCS-UFLA que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, principalmente ao técnico de laboratório Manoel Aparecido da Silva, pela imprescindível contribuição em todas as etapas das atividades práticas.

Aos colegas de pós-graduação com quem convivi durante o curso, especialmente Adriana M. A. Accioly, Alessandra Monteiro, Alexandre Barberi, Alexandre Fonseca d'Andréa, Ana Rosa R. Bastos, Edílson C. Brasil, Gilvan C. Martins, Gislene Aparecida dos Santos (Gigi), Jonas Jacob Chiaradia, Juliano Malty, Júlio Nóbrega, Marcos Koiti Kondo, Maria Aparecida P. Pierangeli (Dedé), Mateus R. Ribeiro Filho, Rafaela Nóbrega, Renato F. de Souza, Rubens R. da Silva, Sérgio Gualberto Martins e Silvana da Silva.

Aos amigos, companheiros de viagem e parceiros da boa música, Alexandre Fonseca d'Andréa, Rosi d'Andréa e Sérgio Gualberto Martins, pela sincera e duradoura amizade. Espero que possamos nos encontrar em breve para fazermos aquelas peixadas, tocarmos violão e curtirmos as praias do Nordeste.

Aos companheiros de pescaria Benito, Bátia, Pedrinho, Adriano, Valdir e ao meu sogro Valderico José Guimarães, os quais me proporcionaram momentos descontraídos à beira dos rios Capivari e Grande.

À minha namorada Kamilla Cristiny Guimarães, pela paciência durante a fase final deste trabalho e, principalmente, pelo seu amor e companheirismo sempre presentes na minha vida nestes últimos anos.

À Rosenéia Aparecida Nazaré Guimarães e Valderico José Guimarães, meus sogros, pelo carinho e inestimável apoio que me proporcionaram em Lavras.

À cidade de Lavras e a todos os lavrenses com quem convivi durante todos esses anos.

BIOGRAFIA

CLÁUDIO ROBERTO FONSÊCA SOUSA SOARES nasceu em Salvador, BA, a 11 de maio de 1974, filho de Hilda Fonsêca Sousa e Humberto Teixeira Soares.

Cursou o todo o colegial em Salvador, o primeiro grau no Instituto Bom Pastor e o segundo grau no Colégio 2 de Julho. Ingressou no curso de graduação em Agronomia em 1992 na Universidade Federal de Viçosa (UFV), graduando-se em fevereiro de 1997. Durante este período participou de várias atividades de pesquisa como Bolsista de Iniciação Científica do CNPq no Departamento de Ciência do Solo desta instituição.

Em março de 1997 iniciou o curso de Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas na Universidade Federal de Lavras (UFLA) sob orientação do Professor José Oswaldo Siqueira, concluindo-o em abril de 1999. Neste mesmo ano ingressou no Doutorado em Agronomia na mesma instituição e área de concentração, obtendo o título de Doutor em novembro de 2004.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO GERAL.....	i
GENERAL ABSTRACT.....	iii
CAPÍTULO 1.....	1
1 Introdução geral.....	1
2 Referencial teórico.....	3
2.1 Metais pesados em plantas.....	3
2.2 Fósforo na amenização da toxicidade de metais pesados.....	6
2.3 Micorrizas na amenização da toxicidade de metais pesados.....	8
3 Referências bibliográficas.....	12
CAPÍTULO 2: Nutrição fosfática e micorriza arbuscular na toxicidade de zinco para <i>Trema micrantha</i>	18
1 Resumo.....	18
2 Abstract.....	20
3 Introdução.....	21
4 Material e métodos.....	23
4.1 Ensaio 1: efeito do "status" nutricional de P e micorriza arbuscular (MA) na toxicidade de Zn.....	23
4.2 Ensaio 2: efeito da adição de P em solução na toxicidade de Zn.....	27
4.3 Colheita das plantas e análises.....	28
5 Resultados e discussão.....	29
5.1 Ensaio 1: efeito do "status" nutricional de P e micorriza arbuscular (MA) na toxicidade de Zn.....	29
5.2 Ensaio 2: efeito do P em solução nutritiva na toxicidade de Zn.....	39

6 Conclusões.....	48
7 Referências bibliográficas.....	49

CAPÍTULO 3: Nutrição fosfática e micorriza arbuscular na toxicidade de cádmio para *Trema micrantha*..... 54

1 Resumo.....	54
2 Abstract.....	56
3 Introdução.....	57
4 Material e métodos.....	59
5 Resultados e discussão.....	59
5.1 Ensaio 1: efeito do “status” nutricional de P e micorriza arbuscular (MA) na toxicidade de Cd.....	59
5.2 Ensaio 2: efeito do P em solução nutritiva na toxicidade de Cd.....	70
6 Conclusões.....	78
7 Referências bibliográficas.....	79

CAPÍTULO 4: Fosfato e micorriza arbuscular no crescimento de *Brachiaria decumbens* Stapf em solo contaminado por metais pesados..... 83

1 Resumo.....	83
2 Abstract.....	85
3 Introdução.....	87
4 Material e métodos.....	89
5 Resultados e discussão.....	94
5.1 Características químicas do solo.....	94
5.2 Colonização micorrízica e crescimento da <i>B. decumbens</i>	96
5.3 Metais pesados e P na planta.....	100
6 Conclusões.....	111

7 Considerações finais.....	112
8 Referências bibliográficas.....	114
Anexos.....	119

RESUMO GERAL

SOARES, Cláudio Roberto Fonsêca Sousa. Fosfato e micorriza arbuscular na toxicidade de metais pesados para a trema (*Trema micrantha* (L.) Blum.) e braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf). 2004. 143 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

A contaminação ambiental por metais pesados é um problema crescente e que exige avanços no conhecimento de seus impactos sobre os organismos e ecossistemas e no desenvolvimento de alternativas remediadoras. Avaliaram-se os efeitos de fosfato e de micorriza arbuscular na toxicidade de Cd e Zn em solução nutritiva e em solo contaminado por estes elementos, por meio de vários estudos em casa de vegetação. Em um primeiro experimento, mudas de *Trema micrantha* foram formadas em substratos contendo doses crescentes de P (0, 100, 200 e 400 mg dm⁻³ P) e um tratamento de inoculação com *Glomus etunicatum*. Após crescimento por 60 dias, foram transferidas para solução nutritiva de Clark contendo, separadamente, doses de Cd (0, 5, 15 e 45 µM) e de Zn (2, 75, 150 e 225 µM), sendo mantidas por mais 40 dias, quando foram colhidas e avaliadas. Os efeitos do P na amenização da fitotoxicidade de Cd e Zn também foram avaliados em outro experimento, aplicando-se simultaneamente e de forma combinada em solução doses de P (0,07; 0,5; 1 e 2 mM), Cd (0, 5, 10 e 15 µM) e de Zn (2, 75, 150 e 225 µM), onde foram cultivadas mudas de trema por 40 dias. Constatou-se que a melhoria da nutrição fosfática reduziu a translocação de Cd e Zn das raízes para a parte aérea. Entretanto, a melhoria nutricional de P só teve efeito na amenização da toxicidade do Cd. Este efeito foi relacionado com a redução dos teores do metal na parte aérea das plantas. No segundo experimento, a elevação na concentração de P em solução nutritiva promoveu melhoria no estado nutricional de P da trema, conferindo proteção à planta ao excesso de Cd e Zn em solução. A especiação química da solução indicou que a adição de P não interferiu de modo significativo nas formas disponíveis de Cd e Zn em solução. Os resultados deste experimento sugerem que a ação amenizante do P ocorre na planta, reduzindo a translocação destes metais das raízes para a parte aérea. Em um terceiro experimento, verificou-se a influência da adição de P e inoculação com fungos micorrízicos arbusculares no crescimento da *Brachiaria decumbens* em misturas de solo contaminado com Zn, Cd, Cu e Pb. O aumento no fornecimento de P de 25 para 400 mg dm⁻³ P

* Comitê Orientador: José Oswaldo Siqueira – UFLA (orientador), Janice Guedes de Carvalho – UFLA, Fátima Maria de Souza Moreira – UFLA, Ângela Maria Soares – UFLA, Sidney Luiz Sturmer – FURB.

(superfosfato triplo) e a inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) contribuíram para o crescimento da *B. decumbens* em condições de baixa contaminação. O efeito benéfico destes tratamentos relacionou-se com a redução dos teores de metais pesados na parte aérea da *B. decumbens*. Em condições de baixa contaminação e com baixo P, as plantas não inoculadas apresentaram teores de Cd e Zn de 173 e 5.113 mg kg⁻¹, respectivamente, enquanto que nas micorrizadas estes foram reduzidos para 23 e 2.173 mg kg⁻¹, correspondendo a uma redução de mais de 85% e 50% nos teores de Cd e Zn na parte aérea da *B. decumbens*, respectivamente. A elevação da quantidade de P de 25 para 400 mg dm⁻³ P também reduziu em mais de 40% os teores de Cd e Zn na parte aérea da *B. decumbens*. No entanto, a micorrização não favoreceu a absorção de P pela *B. decumbens* no solo contaminado, não sendo este, portanto, o mecanismo envolvido na proteção das plantas micorrizadas em solo contaminado com metais pesados.

GENERAL ABSTRACT

SOARES, Cláudio Roberto Fonsêca Sousa. **Phosphate and arbuscular mycorrhiza on heavy metal toxicity to trema (*Trema micrantha* (L.) Blum.) and braquiaria grass (*Brachiaria decumbens* Stapf).** 2004. 143 p. Thesis (Doctorate on Soil Science and Plant Nutrition) – Federal University of Lavras, MG, Brazil.*

Environmental contamination by heavy metal is an expanding problem that requires advances on knowledge of its impacts on living organisms and ecosystems and on the development of remediation alternatives. In the present study, the effects of phosphate and arbuscular mycorrhiza (AM) on Cd and Zn toxicities were evaluated through several experiments in nutrient solution and in a contaminated soil under greenhouse conditions. In a first experiment, seedlings of *Trema micrantha* were raised in soil-mix as substrate enriched with available P (0, 100, 200 and 400 mg dm⁻³) and with an additional AM treatment inoculated with *Glomus etunicatum*. After 60 days of growth, plants were transferred to nutrient solution containing increasing levels of Cd (0, 5, 15 and 45 µM) and Zn (2, 75, 150 and 225 µM) and allowed to growth for another 40 days, when they were harvested. Phytotoxicity ameliorated effects of P were also evaluated in a second experiment in which P an concentration of 0.07, 0.5, 1 and 2 mM P were simultaneously applied with Cd (0, 5, 10 and 15 µM) and Zn (2, 75, 150 and 225 µM) in the growing solution. The results showed that enhanced phosphate nutrition of trema reduced Cd and Zn translocation to the shoots, whereas these treatments had significant benefit for plant growth under the excess of Cd in solution. In the second experiment, the increased concentration of P in solution resulted in plants with higher P content which in term reduced the adverse effect of toxic Cd and Zn in solution. Chemical speciation of the growing solution indicated that P even at high concentration had no significant effect on available forms of these metals. The results of this experiment indicate that the ameliorating effect of P results from its effects “*in plant*”, causing a reduction in metal translocation from roots to shoots. In a third experiment, the influence of P addition and inoculation of AM fungi on growth and metal uptake of *Brachiaria decumbens* was studied. *B. decumbens* was grown in heavy metal contaminated soil-mixes under low and high P conditions and mycorrhiza. It was found that high P situation and AM inoculation enhanced

* Guidance Committee: José Oswaldo Siqueira – UFLA (Major Professor), Janice Guedes de Carvalho – UFLA, Fátima Maria de Souza Moreira – UFLA, Ângela Maria Soares – UFLA, Sidney Luiz Sturmer – FURB.

plant growth under low contamination. Such benefit related to reduction of heavy metals in plant shoots. Under low contamination and low P addition, AM inoculation reduced Cd concentration from 173 to 23 mg kg⁻¹ and Zn concentration from 5,113 to 2,173 mg kg⁻¹ dry matter, therefore a reduction of over 85% and 50% for Cd and Zn, respectively. The enhanced growth resulted from of the reduced translocation of these metals from root to shoots. Increased addition of P from 25 to 400 mg dm⁻³ also reduced Cd and Zn concentration in *B. decumbens* shoots by 40%. Because AM inoculation did not enhanced P uptake by *B. decumbens*, this mechanism appears not being involved in the *B. decumbens* mycorrhiza protection in heavy metal contaminated soil.

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

O aumento das atividades industriais e de mineração, aliado ao crescente emprego de fertilizantes e pesticidas no solo, tem alterado o fluxo natural dos metais pesados, aumentando a liberação destes elementos na biosfera. Estudos em locais próximos a complexos industriais e de refino de minério indicam concentrações elevadas de metais pesados no solo, os quais podem afetar a funcionalidade, a biodiversidade e a sustentabilidade dos ecossistemas, causando danos, às vezes irreversíveis, às propriedades químicas, físicas e biológicas do solo.

Atualmente, grandes esforços têm sido feitos visando à recuperação de solos contaminados com metais pesados. Uma das alternativas que têm sido empregadas com esse objetivo é a fitorremediação. Para se obter sucesso com esse processo, é necessário conhecer a toxicidade dos diferentes contaminantes para as espécies vegetais. A maior parte dos estudos relacionados a metais pesados em plantas trata dos elementos zinco (Zn), cobre (Cu), cádmio (Cd), chumbo (Pb) e níquel (Ni). Alguns destes, como o Zn e o Cu, são elementos essenciais para os seres vivos, enquanto que o Cd e o Pb não tiveram comprovação de essencialidade em qualquer organismo. Independentemente da participação dos diferentes metais pesados no metabolismo vegetal, pode-se observar muitos graus de sensibilidade e de resistência à toxicidade destes elementos, tanto do ponto de vista dos mecanismos como da amplitude e distribuição entre as diferentes espécies.

O melhor conhecimento dos mecanismos de absorção e translocação específicos dos metais podem ajudar a explicar a habilidade de muitas plantas a

desenvolver tolerância a estes elementos. Nesse sentido, conhecer os mecanismos de tolerância a metais pesados, em âmbito molecular, celular, fisiológico, bioquímico e genético, reveste-se da maior importância, assim como compreender a influência da simbiose planta-fungo na toxicidade destes elementos.

Os efeitos da simbiose micorrízica na absorção de metais pesados resultam em respostas distintas, conforme revelam os recentes estudos desenvolvidos sobre esse assunto. Alguns indicam que as micorrizas podem aumentar a absorção de metais pesados pela planta hospedeira, enquanto outros evidenciam decréscimo na concentração desses elementos nas plantas devido à micorrização. Além dos efeitos diretos das micorrizas arbusculares (MAs) sobre a absorção e translocação de metais pesados, tem sido proposto que os fungos micorrízicos podem contribuir indiretamente na proteção das plantas, devido ao aumento na absorção de P que, normalmente, ocorre em resposta à colonização das raízes por estes fungos. Com isso, espera-se o envolvimento interativo de P e micorriza arbuscular na relação planta-metal, interferindo principalmente na absorção, translocação e nos efeitos adversos dos metais pesados para as plantas.

Objetiva-se, com este trabalho, avaliar a influência da nutrição fosfática e da presença de micorriza arbuscular na toxicidade de metais pesados em solução nutritiva e em solo contaminado por estes elementos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Metais pesados em plantas

O termo metais pesados é amplamente utilizado na literatura científica para designar os elementos que apresentam uma densidade relativa maior que 5 g cm^{-3} (Alloway, 1993). Os metais pesados, tais como Fe, Cu, Mn, Zn, Mo e Co, são há muito tempo conhecidos como essenciais às plantas. Por serem requeridos em pequenas quantidades, são chamados de micronutrientes (Marschner, 1995) e desempenham importante papel em eventos metabólicos, tais como reações de oxirredução, configuração estrutural de várias enzimas e metabolismo de ácidos nucléicos (Ali et al., 1999). No entanto, em altas concentrações, estes elementos exibem toxicidade e impedem o crescimento das plantas, assim como os membros do grupo de metais pesados não essenciais ao crescimento das plantas, tais como Cd, Pb e Hg (Kabata-Pendias & Pendias, 2001).

A toxidez de metais pesados pode influenciar direta e indiretamente todos os processos metabólicos das plantas. O mecanismo primário de toxicidade envolve alteração da função catalítica de enzimas por meio da complexação a grupos sulfidrílicos e danos às membranas celulares, causando inibição no crescimento das raízes (Shen et al., 1998). As membranas e o núcleo são, seguramente, os locais primários de ação destes elementos, embora também sejam evidentes alterações sobre a estrutura e a funcionalidade da parede celular, provavelmente devido a alterações enzimáticas na biossíntese de constituintes da parede e disposição de microtúbulos ou devido ao aumento da adesão celular da lamela média (Barceló & Poschenrieder, 1992). A toxicidade de metais pesados também promove redução na atividade da enzima peroxidase (Oliveira et al., 1994), redução no conteúdo de clorofila *a* e *b* (Kastori et al., 1998), redução da

integridade das membranas de modo a causar efluxo de íons (Murphy & Taiz, 1997) e demais efeitos adversos sobre o citossol e orgânulos, principalmente cloroplastos, mitocôndrias e Complexo de Golgi (Barceló & Poschenrieder, 1992). Em geral, os sintomas de toxidez mais visíveis são a redução do crescimento, sobretudo do sistema radicular (Breckle & Kahle, 1992), clorose foliar semelhante àquelas indicativas da deficiência de Fe (Fontes & Cox, 1998), necrose das folhas e, posteriormente, sintomas típicos de senescência e abscisão (Punz & Sieghardt, 1993).

As plantas apresentam ampla variabilidade nos processos de absorção, translocação e acúmulo de metais pesados do solo e, assim, a toxicidade desses elementos pode variar amplamente de um elemento para outro e também entre as espécies e cultivares (Davis et al., 1978; Marchiol et al., 1996). Para definir as estratégias de fitorremediação de solos contaminados por metais pesados, torna-se necessário o conhecimento dos padrões de absorção e dos limites de tolerância das plantas com potencial para se estabelecerem nestas áreas (Accioly & Siqueira, 2000). Em relação à absorção de metais, as plantas podem ser categorizadas como exclusoras e acumuladoras quando expostas a um gradiente de concentração destes no solo (Baker, 1981). Nas exclusoras, a concentração do metal na parte aérea das plantas é mantida em nível constante até que a concentração crítica no solo seja alcançada. Nas acumuladoras, os metais são continuamente concentrados nos tecidos das plantas, implicando numa fisiologia altamente especializada de modo a tolerar o excesso dos metais.

A adaptação das plantas ao excesso de metais pesados pode ser conseguida por exclusão dos elementos, pela imobilização nas raízes ou compartimentalização específica ou pela desintoxicação desses elementos na planta (Shaw, 1989). Segundo Bergmann (1992), a capacidade de complexação de cátions na parede celular representa um importante fator na tolerância das plantas a metais pesados. Certamente, a alta capacidade de troca de cátions da

parede celular não é suficiente para demonstrar a tolerância a estes elementos. As diferenças estruturais e funcionais de membranas e a expressão diferencial de genes por meio de diferentes rotas bioquímicas também representam importantes fatores na tolerância a metais pesados (Shaw, 1989; Ali et al., 1999).

A absorção de metais essenciais geralmente exhibe cinética de absorção compatível com o sistema de transportadores na membrana. Lasat et al. (1996) estudaram a cinética de absorção de Zn em *Thlaspi caerulescens* e *Thlaspi arvense* e observaram constantes de Michaelis-Menten (K_m) similares. Já a velocidade máxima de absorção ($V_{m\acute{a}x}$) para o influxo de Zn^{2+} foi 4,5 vezes maior em *Thlaspi caerulescens*, indicando que em ambas as espécies o transporte através da membrana é mediado por proteínas com similar afinidade por Zn^{2+} , mas que a capacidade de influxo é muito maior nas raízes de *Thlaspi caerulescens*. No entanto, os mesmos autores alertam que o aumento do transporte de Zn nas células das raízes pode não ser necessariamente associado com maior translocação para a parte aérea. Neste mesmo estudo, ao final de 96 horas do período de absorção, *Thlaspi arvense* acumulou mais Zn nas raízes, enquanto *Thlaspi caerulescens* apresentou grande acúmulo na parte aérea. Esses resultados indicam que outros sítios de transporte de Zn, além do influxo das raízes, são também alterados em *Thlaspi caerulescens* e que contribuem para uma excessiva translocação de Zn para a parte aérea desta espécie (Lasat et al., 1996). É concebível que mudanças na composição ou no arranjo molecular das membranas, que previnem a passagem passiva de íons, possam desempenhar algum papel na resistência a metais (Verkleij & Shat, 1990), embora existam poucas evidências que comprovem esta idéia, principalmente no que se diz respeito ao P como constituinte de membranas celulares.

2.2 Fósforo na amenização da toxicidade de metais pesados

A adição de fosfatos em solos contaminados por metais pesados constitui uma das medidas para remediar elevados teores disponíveis desses elementos no solo (Ayati & Madsen, 2001). Mench et al. (1998) citam diversos trabalhos envolvendo a ação do fosfato na imobilização de metais e ressalta que os processos envolvidos são a adsorção e a coprecipitação. A maior parte dos estudos que tratam da participação do P na disponibilidade e toxicidade de metais pesados para as plantas, enfoca a amenização da contaminação por Pb (Hettiarachchi et al., 2000; Yang et al., 2001; Hettiarachchi & Pierzynski, 2002; Cao et al., 2003), pois os fosfatos de Pb são as formas mais estáveis deste metal no solo (Kabata-Pendias & Pendias, 2001). O efeito da fosfatagem sobre a disponibilidade de metais pesados também foi testado em ambientes multicontaminados, obtendo-se resultados promissores (Maenpaa et al., 2002; Paim et al., 2003).

A participação do P na amenização da toxidez de metais pesados em organismos vivos é relatada em alguns trabalhos, sendo poucos realizados com plantas. Alguns estudos com diferentes organismos demonstram o papel do P contra a toxicidade de metais pesados. Aiking et al. (1984), trabalhando com estirpes de *Klebsiella aerogenes*, demonstraram que tal bactéria apresenta diferentes mecanismos de desintoxicação a Cd quando crescida em condições de limitação do fornecimento de glicose, sulfato e fosfato. Em meio com limitação de glicose, verificou-se a ocorrência de acúmulo extra de P celular, sendo este um mecanismo apresentado para adaptação ao meio contendo Cd. Quando crescidas em condições limitadas de P, as células tornaram-se mais sensíveis e não apresentaram adaptação a 0,6 mM de Cd, sendo a formação de CdS o mecanismo de desintoxicação envolvido (Aiking et al., 1984). A ocorrência de metais pesados precipitados na forma de fosfato também tem sido descrita na superfície de células de *Acinetobacter* sp., *Citrobacter* sp. e *Escherichia coli*

(Basnakova et al., 1998). Recentemente, microanálises de raios X de energia dispersiva em células de *Acinetobacter johnsonii* crescidas em meio contendo Cd, indicaram a presença de grânulos intracelulares de P (Boswell et al., 1999). Estes estudos revelam que o acúmulo de fosfato pode ser considerado um mecanismo de desintoxicação, uma vez que fosfato de cádmio é pouco solúvel sendo precipitado no interior das células bacterianas (Aiking et al., 1984).

Assim como observado para outros organismos, alguns estudos apontam que a melhoria da nutrição fosfática pode promover benefícios na amenização da toxicidade de metais pesados para as plantas. Van Steveninck et al. (1992) verificaram que altas doses de Zn inibiram crescimento de plantas de *Lemna minor*, mas a inibição foi menos acentuada quando foram aplicadas altas doses de P em solução nutritiva. Em estudo com *Thlaspi caerulescens*, verificou-se que a concentração de P nas raízes aumentou em doses superiores a 316 μM Zn, indicando que houve precipitação deste elemento na forma de $\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$ (Brown et al., 1995).

A mais recente descoberta da interação de P com metais pesados em plantas é a de que quantidades apreciáveis de Zn podem ser complexadas por ácido fítico (mio-inositol-cis-hexafosfato) no córtex de raízes de *Deschampsia caespitosa* exposta a elevadas doses de Zn (400 e 1.000 μM Zn; Van Steveninck et al., 1987). Os autores concluíram que, embora o P não seja um componente de fitoquelatinas ou de qualquer ácido orgânico implicado em mecanismos de tolerância a metais pesados, este pode estar envolvido em algum tipo de sistema de tolerância secundário. A formação dos depósitos de Zn-fitado também foi identificada na endoderme de rabanete, repolho e soja e no periciclo de milho e trigo, por meio da comparação de espectros de raios X obtidos de padrões de ácido fítico (Van Steveninck et al., 1993, 1994). No entanto, estes depósitos não foram observados em girassol, ervilha e centeio (Van Steveninck et al., 1994).

Uma importante questão, a saber, é se a formação desses depósitos insolúveis de metal na forma de metal-fitato nas células especializadas da endoderme ou periciclo pode funcionar como filtro efetivo contra o transporte excessivo de metal para a parte aérea. Além disso, a condição nutricional de P das plantas e as interações metal-P podem alterar os padrões de absorção e translocação de metais pesados, influenciando a toxicidade destes elementos para as plantas. Isso, entretanto, ainda não foi demonstrado experimentalmente e merece ser avaliado.

2.3 Micorrizas na amenização da toxicidade de metais pesados

Estudos recentes têm mostrado que a inoculação com fungos micorrízicos arbusculares promove benefícios para o crescimento das plantas em solos contaminados com metais pesados, como verificado para o milho (Weissenhorn et al., 1995; Siqueira et al., 1999a), plantas herbáceas (Gildon & Tinker, 1983; Hetrick et al., 1994; Klauberg Filho, 1999; Carneiro et al., 2001) e para espécies arbóreas (Siqueira et al., 1999b; Graziotti, 1999). Apesar dos mecanismos de proteção em fungos micorrízicos arbusculares (FMA) não serem claros, pode ocorrer retenção de metais pesados pela adsorção à parede celular do micélio fúngico e ou fixação em grânulos de polifosfato (Galli et al., 1994). Assim, os fungos micorrízicos podem desempenhar importante papel nos mecanismos de tolerância de plantas a metais pesados, o que se reveste de extremo interesse, visto que a maioria das plantas forma associação micorrízica, além do que, o efeito dos metais pesados ocorre principalmente no sistema radicular (Nogueira, 1996).

De acordo com Gaur & Adholeya (2004), existem evidências de que as associações micorrízicas podem exercer uma função na tolerância das plantas

hospedeiras aos metais pesados, promovendo uma efetiva “barreira exclusora” ao transporte desses elementos para a parte aérea. Em estudo com ^{109}Cd , Joner & Leyval (1997) verificaram que plantas de *Trifolium subterraneum* inoculadas com *G. mosseae* apresentaram menor translocação de Cd em comparação àquelas não inoculadas, sugerindo ser este um importante mecanismo de proteção das plantas. Segundo Leyval et al. (1997), para se obter informações conclusivas do efeito das micorrizas arbusculares (MAs) na absorção de metais pesados pelas plantas, é necessário considerar e estimar: (i) as taxas de absorção por unidade de biomassa ou comprimento de raiz; (ii) a intensidade de colonização radicular pelos fungos MA e sua atividade; (iii) a interação entre metais e outros cátions; (iv) o nível de disponibilidade de metais e (v) diferenças no tamanho de plantas micorrizadas e não micorrizadas

Além da complexação a grupos funcionais da parede celular de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) tais como hidroxila, carboxila, amino e sulfídrico (Galli et al., 1994), alguns estudos apontam para a participação do P, via FMA, na restrição da translocação de metais pesados para a parte aérea das plantas. Díaz et al. (1996) observaram que o teor de P na parte aérea de *Anthyllis cytisoides* micorrizada com *G. macrocarpum* e *G. mosseae* foi negativamente correlacionada com a concentração de Zn na parte aérea dessa espécie, sugerindo que a quantidade extra do P absorvido compensou a quantidade tóxica de Zn na planta, beneficiando indiretamente o crescimento da mesma. Nesse mesmo estudo, os autores concluíram que as MAs desempenham importante papel na restauração de solos contaminados por metais pesados, protegendo as plantas de altas concentrações desses elementos e que este efeito pode ser devido ao melhor estado nutricional de P na planta.

Recentemente, Christie et al. (2004) apontaram as possíveis relações entre a colonização micorrízica e a nutrição de P na tolerância das plantas ao excesso de Zn. Segundo estes autores, a melhoria na nutrição de P favorece o

crescimento das plantas, podendo indiretamente aumentar a tolerância das mesmas em solos com elevada contaminação por Zn. Além disso, interações diretas entre Zn e P também ocorrem durante os processos de absorção e transporte do metal na simbiose micorrízica, podendo haver precipitação do Zn nas hifas fúngicas e raízes.

Assim, a tolerância de plantas micorrizadas a metais pesados está associada a fungos de crescimento rápido e que produzem grande massa de micélio, com constante renovação do mesmo, visto que a tolerância a metais está associada ao acúmulo desses elementos no micélio fúngico (Nogueira, 1996). Além disso, é possível que as micorrizas, ao aumentarem o acesso das plantas a nutrientes como o P (Díaz et al., 1996), possam minimizar o efeito fitotóxico de metais pesados como resultado do aumento do crescimento vegetativo das plantas colonizadas e melhoria da nutrição fosfática (Leyval et al., 1997; Christie et al., 2004). As relações entre P e MA são muito complexas e envolvem vários mecanismos que afetam a toxicidade dos metais pesados para as plantas, como mostrado na Figura 1.

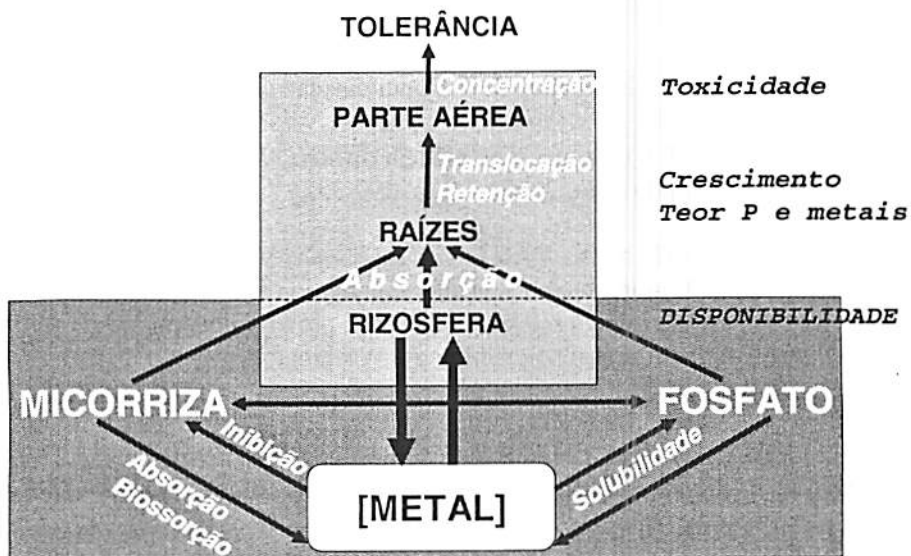


FIGURA 1 Relação entre P e micorrizas arbusculares e os mecanismos pelos quais estes fatores afetam a toxicidade de metais pesados em plantas.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R. F. A.; ALVAREZ V., V. H.; SCHAEFER, C. E. (Ed.). **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. v. 1, p. 299-351.

AIKING, H.; STIJNMAN, A.; VAN GARDEREN, C.; VAN HEERIKHUIZEN, H.; VAN'T RIET, J. Inorganic phosphate accumulation and cadmium detoxification in *Klebsiella aerogenes* NCTC 418 growini in continuous culture. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 47, n. 2, p. 374-377, Feb. 1984.

ALI, G.; SRIVASTAVA, P. S.; IQBAL, M. Morphogenic and biochemical responses of *Bacopa monniera* cultures to zinc toxicity. **Plant Science**, Clare, v. 143, n. 2, p. 187-193, May 1999.

ALLOWAY, B. J. **Heavy metals in soils**. New York: John Wiley, 1993. 339 p.

AYATI, M.; MADSEN, H. E. L. Crystallization of some heavy metal phosphates alone and in the presence of calcium ion. **Journal of Crystal Growth**, Amsterdam, v. 208, n. 1/4, p. 579-591, Jan. 2001. Disponível em: <<http://www.periodicos.-capes.gov.br>>. Acesso em: 20 ago. 2004.

BAKER A. J. M. Accumulators and excluders – strategies in the response of plants to heavy metals. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 3, n. 1/4, p. 643-654, 1981.

BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, Ch. Respuestas de las plantas a la contaminación por metales pesados. **Suelo y Planta**, Madrid, v. 2, p. 345-361, 1992.

BASNAKOVA, G.; SPENCER, A. J.; PALSGARD, E.; GRIME, G. W.; MACASKIE, L. E. Identification of the nickel uranyl phosphate deposits on *Citrobacter* sp. cells by electron microscopy with electron probe X-ray microanalysis and by proton-induced X-ray emission analysis. **Environmental Science and Technology**, Washington, v. 32, n. 6, p. 760-765, Mar. 1998.

BERGMANN, W. **Nutritional disorders of plants – development, visual and analytical diagnosis**. New York: G. Fischer, 1992. 741 p.

BOSWELL, C. D.; DICK, R. E.; MACASKIE, L. E. The effect of heavy metals and other environmental conditions on the anaerobic phosphate metabolism of *Acinetobacter johnsonii*. *Microbiology*, Great Britain, v. 145, Reading, n. 7, p. 1711-1720, July 1999.

BRECKLE, S. W.; KAHLE, H. Effects of toxic heavy metals (Cd, Pb) on growth and mineral nutrition of beech (*Fagus sylvatica* L.). *Vegetatio*, Dordrecht, v. 101, n. 1, p. 43-53, July 1992.

BROWN, S. L.; CHANEY, R. L.; ANGLE, J. S.; BAKER, A. J. M. Zinc and cadmium uptake by hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* grown in nutrient solution. *Soil Science Society of America Journal*, Madison, v. 59, n. 1, p. 125-133, Jan./Feb. 1995.

CAO, R. X.; LENA, L. Q.; CHEN, M.; SINGH, S. P.; HARRIS, W. G. Phosphate-induced metal immobilization in a contaminated site. *Environmental Pollution*, Oxford, v. 122, n. 1, p. 19-28, Jan. 2003.

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 micorrízicos arbusculares. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 36, n. 11, p. 1443-1452, nov. 2001.

CHRISTIE, P.; LI, X.; CHEN, B. Arbuscular mycorrhiza can depress translocation of zinc to shoots of host plants in soils moderately polluted with zinc. *Plant and Soil*, Dordrecht, v. 261, n. 2/3, p. 209-217, 2004.

DAVIS, R. D.; BECKETT, P. H. T.; WOLLAN, E. Critical levels of twenty potentially toxic elements in young spring barley. *Plant and Soil*, Dordrecht, v. 49, n. 2, p. 395-408, 1978.

DÍAZ, G.; AZEÓN-AGUILAR, C.; HONRUBIA, M. Influence of arbuscular mycorrhizae on heavy metal (Zn and Pb) uptake and growth of *Lygeum spartum* and *Anthyllis cytisoides*. *Plant and Soil*, Dordrecht, v. 180, n. 2, p. 241-249, Mar. 1996.

FONTES, R. L. F.; COX, R. Iron deficiency and zinc toxicity in soybean grown in nutrient solution with different levels of sulfur. *Journal of Plant Nutrition*, New York, v. 21, n. 8, p. 1715-1722, 1998.

GALLI, U.; SCHUEPP, H.; BRUNOLD, C. Heavy metal binding by mycorrhizal fungi. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v. 92, n. 2, p. 364-368, Oct. 1994.

GAUR, A.; ADHOLEYA, A. Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Current Science*, Bangalore, v. 86, n. 4, p. 528-534, Feb. 2004.

GILDON, A.; TINKER, P. B. Interactions of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and heavy metals in plants. I. The effects of heavy metals on the development of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *New Phytologist*, Cambridge, v. 95, n. 2, p. 247-261, 1983.

GRAZZIOTTI, P. H. Comportamento de fungos ectomicorrízicos, *Acacia mangium* e espécies de *Pinus* e *Eucalyptus* em solo contaminado por metais pesados. 1999. 177 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

HETRICK, B. A. D.; WILSON, G. W. T.; FIGGE, D. A. H. The influence of mycorrhizal symbiosis and fertilizer amendments on establishment of vegetation in heavy metal mine spoil. *Environmental Pollution*, Oxford, v. 86, n. 2, p. 171-179, 1994.

HETTIARACHCHI, G. M.; PIERZYNSKI, G. M. In situ stabilization of soil lead using phosphorus and manganese oxide: influence of plant growth. *Journal of Environmental Quality*, Washington, v. 31, n. 2, p. 564-572, Mar./Apr. 2002.

HETTIARACHCHI, G. M.; PIERZYNSKI, G. M.; RANSON, M. D. In situ stabilization of soil lead using phosphorus and manganese oxide. *Environmental Science & Technology*, Washington, v. 34, n. 21, p. 4614-4619, Nov. 2000.

JONER, E. J.; LEYVAL, C. Uptake of ^{109}Cd by roots and hyphae of a *Glomus mosseae*/*Trifolium subterraneum* mycorrhiza from soil amended with high and low concentrations of cadmium. *New Phytologist*, Cambridge, v. 135, n. 2, p. 353-360, Feb. 1997.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants.** Boca Raton: CRC Press, 2001. 413 p.

- KASTORI, R.; PLESNICAR M.; SAZAC, Z.; PANCOVIC D.; ARSENIJEVIC-MAKSIMOVIC, I. Effect os excess lead on sunflower growth and photosynthesis. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 21, n. 1, p. 75-85, 1998.
- KLAUBERG FILHO, O. **Ecologia e atividade de fungos micorrízicos arbusculares em solo poluído com metais pesados**. 1999. 161 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- LASAT, M. M.; BAKER, J. M.; KOCHIAN, L. V. Physiological characterization of root Zn²⁺ absorption and translocation to shoots in Zn hyperaccumulator and nonaccumulator species of *Thlaspi*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 112, n. 4, p. 1715-1722, Dec. 1996.
- LEYVAL, C.; TURNAU, K.; HASELWANDTER, K. Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. **Mycorrhiza**, New York, v. 7, n. 3, p. 139-153, Sept. 1997.
- MAENPAA, K. A.; KUKKONEN, J. V. K.; LYDY, M. J. Remediation of heavy metal-contaminated soils using phosphorus: evaluation of bioavailability using an earthworm bioassay. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 43, n. 4, p. 389-398, Nov. 2002.
- MARCHIOL, L.; LEITA, L.; MARTIN, M.; PERESSOTTI, A; ZERBI, G. Physiological responses of two soybean cultivars to cadmium. **Journal Environmental Quality**, Madison, v. 25, n. 3, p. 562-566, May/June 1996.
- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed. san Diego: Academic Press, 1995. 902 p.
- MENCH, M.; VANGRONSVELD, J.; LEPP, N. W.; EDWARDS, R. Physico-chemical aspects and efficiency of trace element immobilization by soil amendments. In: VANGRONSVELD, J.; CUNNINGHAM, D. D. (Ed.) **Metal contaminated soils: in situ inactivation and phytorestoration**. Berlin: Springer-Verlag, 1998. p. 151-181.
- MURPHY, A.; TAIZ, L. Correlation between potassium efflux and copper sensitivity in 10 *Arabidopsis* ecotypes. **New Phytologist**, Cambridge, v. 136, n. 2, p. 211-222, June 1997.

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

OLIVEIRA, J. A.; OLIVA, M. A.; CAMBRAIA, J. Effects of cadmium on chlorophyll contents and on peroxidase activity in soybean. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, São Carlos, v. 6, n. 2, p. 97-1001, dez. 1994.

PAIM, L. A.; CARVALHO R.; MELO, W. C.; FURTINI NETO, A. E. Efeito do silício e do fósforo na disponibilidade de metais pesados do solo pelo extrator Mehlich-1. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 4, p. 780-787, jul./ago. 2003.

PUNZ, W. F.; SIEGHARDT, H. The response of roots of herbaceous plant species to heavy metals. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 44, n. 1, p. 85-98, Jan. 1993.

SHAW, A. J. **Heavy metal tolerance in plants: evolutionary aspects**. New York: CRC Press, 1989. 355 p.

SHEN, Z.; ZHANG, F.; ZHANG, F. Toxicity of copper and zinc in seedlings of mung bean and inducing accumulation of polyamine. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 21, n. 6, p. 1153-1162, 1998.

SIQUEIRA, J. O.; PEREIRA, M. A. M.; SIMÃO, J. B. P.; MOREIRA, F. M. S. Efeito da formononetina (7 Hidroxi, 4' metoxi Isoflavona) na colonização micorrízica e crescimento do milho em solo contendo excesso de metais pesados. **Revista Brasileira de Ciência Solo**, Viçosa, v. 23, n. 3, p. 561-567, jul./set. 1999b.

SIQUEIRA, J. O.; POUYÚ, 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**, Viçosa, v. 23, n. 3, p. 569-580, jul./set. 1999a.

VAN STEVENINCK, R. F. M.; BABARE, A.; FERNANDO, D. R.; VAN STEVENINCK, M. E. The binding of zinc in root cells of crop plants by phytic acid. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 155/156, p. 525-528, Oct. 1993.

VAN STEVENINCK, R. F. M.; BABARE, A.; FERNANDO, D. R.; VAN STEVENINCK, M. E. The binding of zinc, but not cadmium, by phytic acid in roots of crop plants. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 167, n. 1, p. 157-164, Nov. 1994.

VAN STEVENINCK, R. F. M.; VAN STEVENINCK, M. E.; FERNANDO, D. R. Heavy-metal (Zn, Cd) tolerance in selected clones of duck weed (*Lemna minor*). **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 146, n. 1/2, p. 271-280, Oct. 1992.

VAN STEVENINCK, R. F. M.; VAN STEVENINCK, M. E.; FERNANDO, D. R.; HORST, W. J.; MARSCHNER, H. Deposition of zinc phytate in globular bodies in roots of *Deschampsia caespitosa* ecotypes: a detoxification mechanisms? **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 131, n. 3/4, p. 247-257, Dec. 1987.

VERKLEIJ, J. A. C.; SCHAT, M. T. Mechanisms of metal tolerance in higher plants. In: SHAW, A. J. (Ed.). **Heavy metal tolerance in plants: evolutionary aspects**. Boca Raton: CRC Press, 1990. p. 179-193.

WEISSENHORN, I.; LEYVAL, C.; BELGY, G.; BERTHELIN, J. Arbuscular mycorrhizal contribution to heavy metal uptake by maize (*Zea mays* L.) in pot culture with contaminated soil. **Mycorrhiza**, New York, v. 5, n. 4, p. 245-251, 1995.

YANG, J.; MOSBY, D. E.; CASTEEL, S. W.; BLANCHAR, R. W. Lead immobilization using phosphoric acid in a smelter-contaminated urban soil. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 35, n. 17, p. 3553-3559, Sept. 2001.

eucalipto, ocasionando deficiência induzida deste elemento na parte aérea das plantas. A forma predominante de absorção de Zn pelas plantas é o Zn^{2+} , mas sabe-se que outras formas hidratadas desse elemento e complexos e quelatos orgânicos de Zn podem também ser absorvidas pelas raízes (Marschner, 1995; Kabata-Pendias & Pendias, 2001).

Estudos recentes têm mostrado que a inoculação com fungos micorrízicos beneficia para o crescimento de plantas em solos contaminados com metais pesados, como verificado para o milho (Weissenhorn et al., 1995; Siqueira et al., 1999a), para plantas herbáceas (Gildon & Tinker, 1983; Hetrick, Wilson & Figge, 1994; Klauberg Filho, 1999; Carneiro et al., 2001) e para espécies arbóreas (Siqueira et al., 1999b; Graziotti, 1999). Apesar dos evidentes benefícios da micorrização, os mecanismos envolvidos nestas respostas são ainda objetos de especulação e precisam ser mais estudados.

Para Whitfield et al. (2004a) a imobilização dos metais no micélio constitui o provável mecanismo de proteção das micorrizas às plantas, reduzindo a transferência do metal para a parte aérea e, conseqüentemente, a fitotoxidez para a planta. Também é possível que as micorrizas, ao aumentarem o acesso das plantas a nutrientes como o P (Diaz et al., 1996) possam minimizar o efeito fitotóxico de metais pesados como resultado do aumento do crescimento vegetativo das plantas colonizadas e melhoria da nutrição fosfática (Christie et al., 2004).

Alguns estudos têm demonstrado que o suprimento adequado de P possibilita também o aumento da retenção de metais pesados nas raízes das plantas por meio da formação de compostos insolúveis com metais, restringindo o transporte desses elementos para a parte aérea (Van Steveninck et al., 1987; Van Steveninck et al., 1994; Brown et al., 1995). Van Steveninck et al. (1992) verificaram que o aumento de P à solução nutritiva de 0,01 mM para 1 mM reduziu a toxicidade de Zn para diferentes clones de *Lemna minor*. De acordo

com esses autores, esse efeito está relacionado com a formação de complexos de fitato de Zn nas raízes, reduzindo a translocação desse elemento para a parte aérea das plantas. Além desses efeitos, sabe-se que o aumento na disponibilidade de P reduz a absorção de Zn (Malavolta, 2004) e isto poderia contribuir na redução da toxicidade do metal para as plantas. Assim, o “status” nutricional de P das plantas e as interações P-metal podem alterar os padrões de absorção e translocação de Zn, influenciando, dessa forma, a toxicidade do metal para as plantas. Como o principal efeito nutricional das micorrizas é o aumento da absorção de P, este pode ser um mecanismo de amenização da fitotoxidez de Zn em plantas micorrizadas.

No presente estudo, avaliou-se a influência do “status” nutricional de P, da micorrização e de concentrações crescentes de P em solução nutritiva na toxicidade de Zn para mudas de uma espécie arbórea pioneira dos trópicos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo constou de dois ensaios distintos conduzidos com mudas de *Trema micrantha* (L.) Blum, os quais serão descritos a seguir.

4.1 Ensaio 1: efeito do “status” nutricional de P e micorriza arbuscular (MA) na toxicidade de Zn

Mudas de trema foram desenvolvidas em substrato contendo tratamentos distintos para a obtenção de plantas com diferentes “status” nutricional de P e colonização com fungos micorrízicos arbusculares (micorriza). Posteriormente

essas mudas foram transferidas para solução nutritiva contendo doses crescentes de Zn.

Este ensaio foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Ciência do Solo (DCS) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), no período de abril a agosto de 2002. Utilizaram-se mudas de trema selecionadas com base no comportamento desta espécie em estudos com solo multi-contaminado por metais pesados já desenvolvidos neste departamento (Marques et al., 2000; Soares et al., 2001b), no qual observou-se a alta sensibilidade dessa espécie ao excesso destes elementos. Além disso, esta espécie responde positivamente à inoculação com fungos micorrízicos e a doses de P (Paron et al., 1997) e por ser uma espécie arbórea pioneira de grande interesse tropical em programas de revegetação de áreas degradadas.

Para a obtenção das mudas, sementes de trema foram tratadas com H_2SO_4 concentrado durante 20 minutos e, em seguida, lavadas em água corrente de modo a facilitar a germinação. Em seguida, as sementes foram colocadas em bandejas com capacidade de 6 dm^3 contendo substrato composto de 40% de um Latossolo Vermelho-Amarelo, 40% de areia e 20% de vermiculita, o qual foi autoclavado a 120°C durante 60 minutos e cujas características químicas encontram-se na Tabela 1.

TABELA 1 Características químicas do substrato (após autoclavagem) utilizado para a produção de mudas de trema e aplicação dos tratamentos.

pH (H_2O)	6,1	H+Al (cmolc dm^{-3})	1,3
P (mg dm^{-3})	12,8	SB (cmolc dm^{-3})	3,0
K (mg dm^{-3})	72,0	t (cmolc dm^{-3})	3,1
Ca ²⁺ (cmolc dm^{-3})	1,7	T (cmolc dm^{-3})	4,3
Mg ²⁺ (cmolc dm^{-3})	1,1	V (%)	69,6
Al ³⁺ (cmolc dm^{-3})	0,1	m (%)	3,0

Após a semeadura, o substrato recebeu doses de 0, 100, 200 e 400 mg dm⁻³ de P (Ca(H₂PO₄)₂.H₂O p.a.) por meio da aplicação de solução nutritiva, constituindo os tratamentos prévios de P. Além desses, obteve-se um tratamento de infestação com fungo micorrízico arbuscular (FMA) e sem adição de P, pela aplicação de suspensão de esporos de *Glomus etunicatum* ao substrato, o qual apresentou densidade final de, aproximadamente, 3 esporos mL⁻¹ de solo. Os esporos foram extraídos de vasos de cultivo da coleção deste laboratório por meio do peneiramento via úmida e centrifugação em solução de sacarose (Gerdemann & Nicolson, 1963). Em cada bandeja foram semeadas cerca de 500 sementes que, após a germinação, foram mantidas por 60 dias nos tratamentos de P e MA. Após esse período, coletaram-se 10 plantas de cada bandeja para análise dos teores de nutrientes, de modo a verificar o efeito inicial da aplicação dos tratamentos, cujos resultados encontram-se na Tabela 2. Também foram coletadas amostras de raízes frescas (2g) do tratamento contendo MA para avaliação da colonização micorrízica das mudas a serem transplantadas para os vasos contendo as doses de Zn. Para isso, as raízes foram clarificadas e coloridas com azul de tripan (Koske & Gemma, 1989) e colocadas em placas de petri para avaliação do percentual do comprimento de raiz colonizada pelo método das intersecções em placas reticuladas (Giovannetti & Mosse, 1980). As mudas apresentaram taxa média de colonização de 48% ± 9%.

TABELA 2 Teores dos nutrientes na parte aérea de mudas de *Trema micrantha* desenvolvidas em diferentes condições de P e inoculação com *G. etunicatum* (MA).

	TRATAMENTOS				MA
	sem P	100 mg dm ⁻³ P	200 mg dm ⁻³ P	400 mg dm ⁻³ P	
Zn (mg kg ⁻¹)	95,9	39,6	51,3	52,9	37,4
Cu (mg kg ⁻¹)	5,6	5,3	6,2	4,7	4,9
Fe (mg kg ⁻¹)	267	386	553	417	248
Mn (mg kg ⁻¹)	197	169	219	142	187
K (g kg ⁻¹)	17,7	19,8	19,5	16,8	17,4
S (g kg ⁻¹)	2,2	2,7	2,9	3,2	2,1
Mg (g kg ⁻¹)	2,9	2,9	3,0	3,0	2,3
Ca (g kg ⁻¹)	28,8	29,9	35,8	31,2	22,7
P (g kg ⁻¹)	2,1	4,0	4,1	4,2	3,0

Mudas selecionadas e padronizadas foram transplantadas para bandejas com capacidade de 35 L contendo solução nutritiva de Clark (1975), com a concentração de todos os nutrientes reduzidos à metade, aeração constante e pH ajustado em 5,5 pela adição de NaOH ou HCl 0,1N e onde foram mantidas por quatro dias. Após nova padronização quanto à altura e vigor, transplantou-se uma muda por vaso de 1,7 L contendo a solução nutritiva de Clark com a concentração normal dos nutrientes e as doses de Zn, constituindo-se na parcela experimental. Os tratamentos foram dispostos em esquema fatorial 5x4: cinco tratamentos prévios (doses de P e inoculação com *G. etunicatum*) e 4 concentrações de Zn à solução (2, 75, 150 e 225 µM Zn, fornecido como ZnSO₄.7H₂O), em delineamento em blocos casualizados com três repetições. As soluções foram renovadas semanalmente e o pH ajustado em 5,5 pela adição de NaOH ou HCl 0,1N.

4.2 Ensaio 2: efeito da adição de P em solução na toxicidade de Zn

Este ensaio foi conduzido no período de março a julho de 2003, também em casa de vegetação do DCS-UFLA, consistindo da aplicação simultânea de doses de P e Zn em solução nutritiva, visando avaliar o efeito do aumento da concentração de P na toxicidade do metal.

As mudas de trema foram preparadas conforme descrito para o ensaio 1, porém, foram colocadas para germinar em bandejas contendo 6 dm³ de vermiculita, as quais após emergência do primeiro par de folhas, receberam semanalmente solução nutritiva de Clark com a concentração de todos os nutrientes reduzida à metade (½ força). Sessenta dias após a germinação, as mudas foram transplantadas para bandejas coletivas de 35 L contendo esta mesma solução e permanecendo nesta situação por um período de 20 dias, quando atingiram altura média de 30 cm, considerada ideal para o transplante para o campo.

Após padronização quanto à altura e vigor, transplantou-se uma muda por vaso de 1,7 L contendo a solução nutritiva de Clark com a concentração normal dos nutrientes, ajustando-a de forma a obter diferentes concentrações de P (0,07; 0,5; 1 e 2 mM P) e Zn (2, 75, 150 e 225 µM Zn) aplicados simultaneamente à solução. As doses de P foram definidas com base nas concentrações desse nutriente encontradas em soluções nutritivas comumente encontradas em estudos de nutrição mineral, enquanto que as doses de Zn foram definidas conforme as concentrações em solução nutritiva empregadas em ensaio com espécies de cedro e ipê-roxo (Paiva, 2000). A composição básica das soluções nas diferentes concentrações de P empregadas neste ensaio encontra-se na Tabela 1A. Os tratamentos foram dispostos em esquema fatorial 4x4 (4 doses de Zn e 4 doses de P), em delineamento formado por blocos casualizados com três repetições. As soluções de todos os tratamentos foram renovadas semanalmente e o pH ajustado em 5,5 pela adição de NaOH ou HCl 0,1N.

4.3 Colheita das plantas e análises

Em ambos os ensaios, após 40 dias de exposição das plantas às doses de Zn, realizou-se a colheita das mesmas, separando-as em parte aérea e raízes. No caso do ensaio 1, retiraram-se amostras de raízes para avaliação da colonização micorrízica, como já descrito no item 4.1. O restante das amostras foi colocado em estufa com circulação de ar a 65°C até massa constante para determinação da matéria seca, moído em moinho tipo Wiley equipado com peneira com malha de 0,38 mm para digestão nítrico-perclórica e posterior análise das concentrações de Fe, Mn, Cu, Zn, Ca e Mg nos tecidos por espectrofotometria de absorção atômica, de P por colorimetria pelo método fosfo-molibdato, de K por fotometria de chama e S por turbidimetria (Malavolta et al., 1989). As quantidades acumuladas de Zn na parte aérea e raízes das plantas foram calculadas com base nas concentrações e produção de matéria seca.

Além da colheita e avaliação das plantas, no ensaio 2 realizou-se também a análise da especiação iônica da solução nutritiva de Clark contendo os diferentes tratamentos de P e Zn por meio do software Visual Minteq v. 2.23 para avaliar o efeito do aumento da concentração de P na disponibilidade de Zn para as plantas. Para isso foram utilizadas as concentrações iniciais de todos os nutrientes e metais desta solução de modo a determinar a atividade iônica das principais formas dos elementos.

Os resultados dos dois ensaios foram submetidos à análise de variância por meio do uso do programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2000). As equações de regressão foram determinadas pelo programa Table Curve 2D for Windows v. 5.01 (SYSTAT Software Inc). Correlações de Pearson foram realizadas por meio do programa estatístico SAEG. As doses críticas de toxidez de Zn em solução para redução da produção de matéria seca da parte aérea e raízes (concentração de Zn na solução nutritiva que reduz em 50% o crescimento) foram estimadas

com base nas equações de regressão obtidas em resposta às concentrações dos elementos em solução.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Ensaio 1: efeito do “status” nutricional de P e micorriza arbuscular (MA) na toxicidade de Zn

Os sintomas de fitotoxidez de Zn para a trema foram observados já aos 15 dias após a exposição das plantas ao metal. Ao final dos 40 dias do transplante para a solução contendo Zn, observou-se que as doses de 150 e 225 μM Zn promoveram acentuada redução no crescimento das plantas e clorose foliar generalizada (Figuras 1 e 2). Não se verificou comportamento diferenciado dos tratamentos de P e MA na evolução e na intensidade da toxidez de Zn. Em relação às raízes, houve redução na massa radicular e escurecimento das raízes que se tornaram finas e quebradiças.

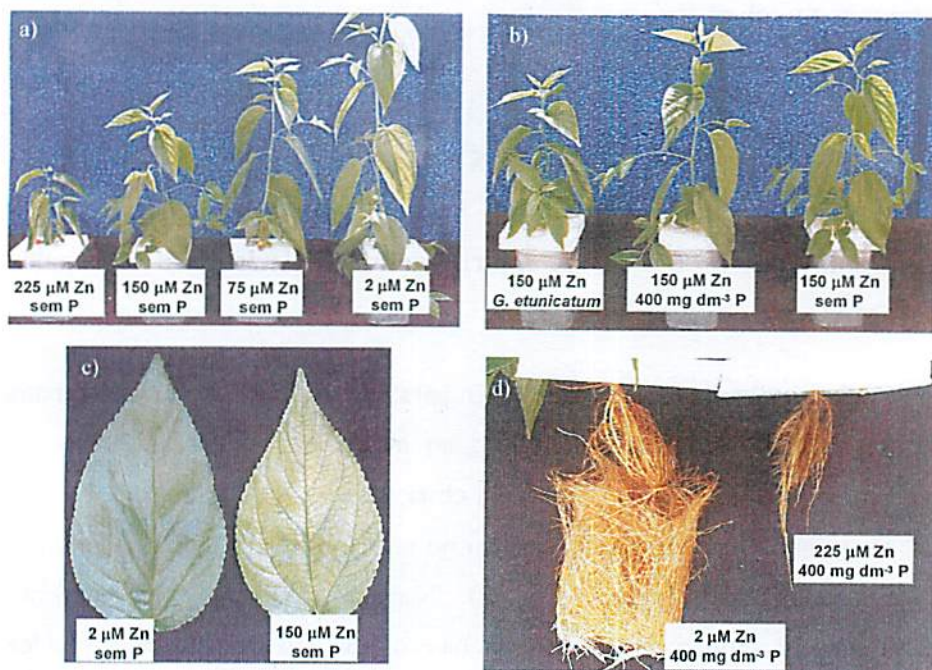


FIGURA 1 Sintomas de toxidez de Zn em mudas de *Trema micrantha* em solução nutritiva (ensaio 1). a) efeito do aumento da dose de Zn; b) efeito dos pré-tratamentos de P e inoculação com *G. etunicatum*; c) clorose foliar; d) redução de crescimento e escurecimento das raízes.

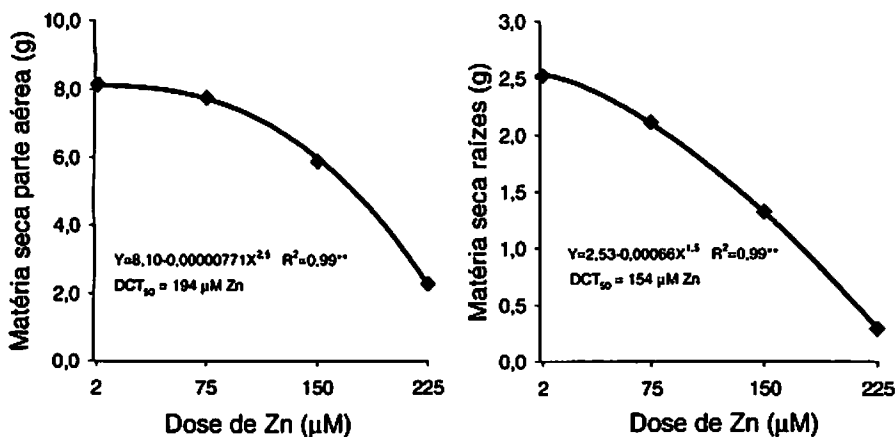


FIGURA 2 Matéria seca da parte aérea e raízes de mudas de *Trema micrantha*, em resposta ao aumento de doses de Zn em solução nutritiva e DCT_{50} = Concentração de Zn na solução requerida para inibir em 50% a produção de matéria seca (** $p \leq 0,01$).

A elevação nas doses de Zn em solução nutritiva influenciou a produção de matéria seca da parte aérea e raízes, não sendo verificado efeito significativo dos tratamentos prévios de P e MA e interação dose x tratamentos sobre estas variáveis (Tabela 2A). O aumento das doses de Zn em solução ocasionou decréscimo de até 72% e 88% na matéria seca da parte aérea e raízes, respectivamente, independente dos pré-tratamentos aplicados na formação das mudas (Figura 3). As doses críticas de toxidez de Zn em solução (DCT_{50}) para a matéria seca da parte aérea e raízes foram de 194 e 154 μM Zn, respectivamente, o que confirma o maior efeito tóxico deste elemento na redução da massa radicular da trema. As DCT_{50} de Zn estimadas neste estudo são inferiores aos valores encontrados em estudo semelhante para mudas de *Eucalyptus maculata* e *Eucalyptus urophylla* (Soares et al., 2001a), evidenciando a maior susceptibilidade da trema à toxidez de Zn em relação ao eucalipto.

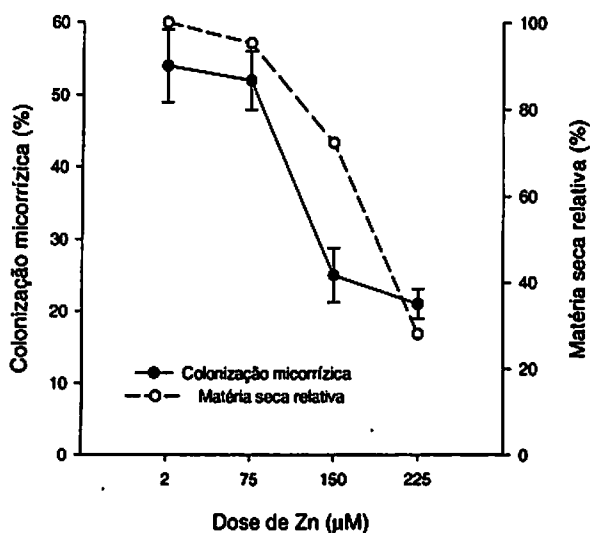


FIGURA 3 Matéria seca relativa e colonização micorrízica de mudas de *Trema micrantha* pré-colonizadas com *G. etunicatum* após 40 dias de crescimento em solução nutritiva contendo doses crescentes de Zn. Barras verticais representam o erro padrão da média.

A colonização micorrízica também foi inibida pelo excesso de Zn, sendo esta reduzida de 54%, na concentração normal de Zn, para apenas 21% na dose mais elevada em solução (225 μM) (Figura 3). O efeito negativo acentuou-se a partir da dose de 75 μM Zn evidenciando a alta toxicidade do Zn para o *G. etunicatum*, fato já relatado em outros estudos com diversas espécies (Siqueira et al., 1999b; Klauberg Filho, 1999; Carneiro et al., 2001; Whitfield et al., 2004b). Assim como observado para a colonização micorrízica, verifica-se que o crescimento das plantas foi pouco influenciado até a dose de 75 μM Zn. O efeito inibitório para a matéria seca e colonização micorrízica na dose de 150 μM Zn foi de 23% e 52%, respectivamente, indicando que a colonização micorrízica mostrou-se mais sensível ao excesso de Zn do que o crescimento da parte aérea da trema.

Para avaliar melhor a relação entre o "status" nutricional de P das plantas e a produção de matéria seca da parte aérea nas diferentes doses de Zn em solução (Figura 4), utilizaram-se os pré-tratamentos que proporcionaram teores diferenciados de P nas plantas. Foram selecionados os tratamentos sem adição de P, inoculação com *G. etunicatum* e plantas com 200 mg dm⁻³ P ao substrato, os quais permitiram a obtenção de teores na parte aérea das mudas de 2,1, 3,0 e 4,1 g kg⁻¹ P, respectivamente (Tabela 2). Como apresentado na Figura 4, houve inibição significativa da produção da matéria seca da parte aérea na dose de 225 µM Zn em solução e a melhoria no "status" nutricional de P não contribuiu para a amenização do efeito tóxico das doses de Zn na produção de matéria seca da trema.

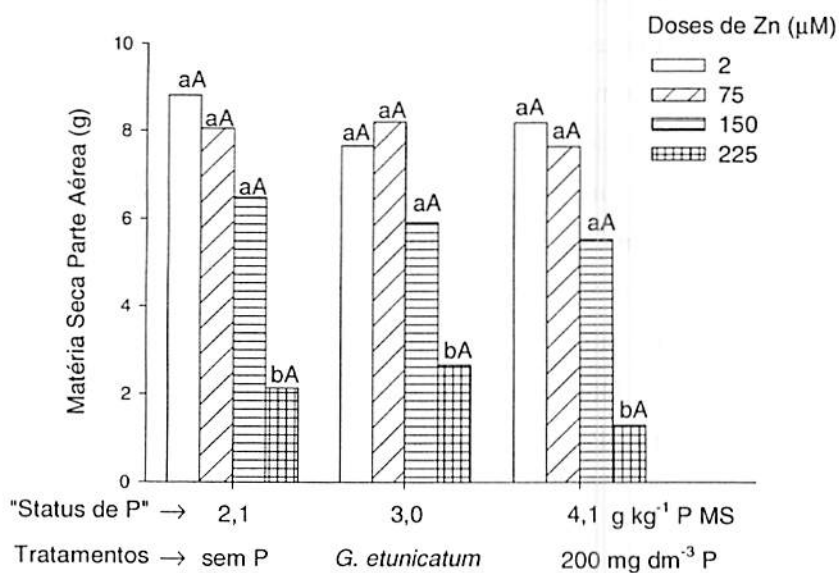


FIGURA 4 Relação entre o "status" nutricional de P e a produção de matéria seca da parte aérea de mudas de *Trema micrantha* em solução nutritiva contendo doses de Zn. Letras minúsculas comparam doses dentro do mesmo tratamento e letras maiúsculas comparam tratamentos dentro da mesma dose de Zn (Scott-Knott 5%).

As doses de Zn influenciaram os teores desse metal na parte aérea e raízes das plantas (Tabela 3A), conforme mostrado na Figura 5. Os teores de Zn na parte aérea apresentaram resposta quadrática com incrementos de até 1.878% em relação ao controle com 2 μM Zn, independentemente dos pré-tratamentos aplicados, verificando-se uma clara relação inversa entre os teores de Zn na matéria seca da parte aérea e o crescimento das plantas (Figura 2 versus Figura 5). Enquanto isso nota-se que os teores de Zn nas raízes aumentaram linearmente com as doses do metal em solução e com comportamento diferenciado para os pré-tratamentos, sendo estes efeitos mais evidentes quanto maior as doses de Zn em solução. Na dose de 225 μM Zn, a aplicação prévia de maiores doses de P e inoculação com *G. etunicatum* possibilitaram teores mais elevados de Zn nas raízes, em comparação ao tratamento sem adição de P.

Da mesma forma que na produção de matéria seca, avaliou-se a relação entre a condição nutricional de P das plantas e os teores de Zn na parte aérea e raízes das plantas (Figura 6). Nas concentrações mais elevadas de Zn, os teores deste nas raízes foram mais elevados nas plantas com teores de 3 e 4 g kg^{-1} P em comparação ao tratamento sem P. No entanto, este aumento na absorção de Zn das plantas com teores mais elevados de P não refletiu nos teores deste elemento na parte aérea das plantas, uma vez que não houve efeito significativo dos tratamentos prévios de P e MA sobre esta variável (Figura 6).

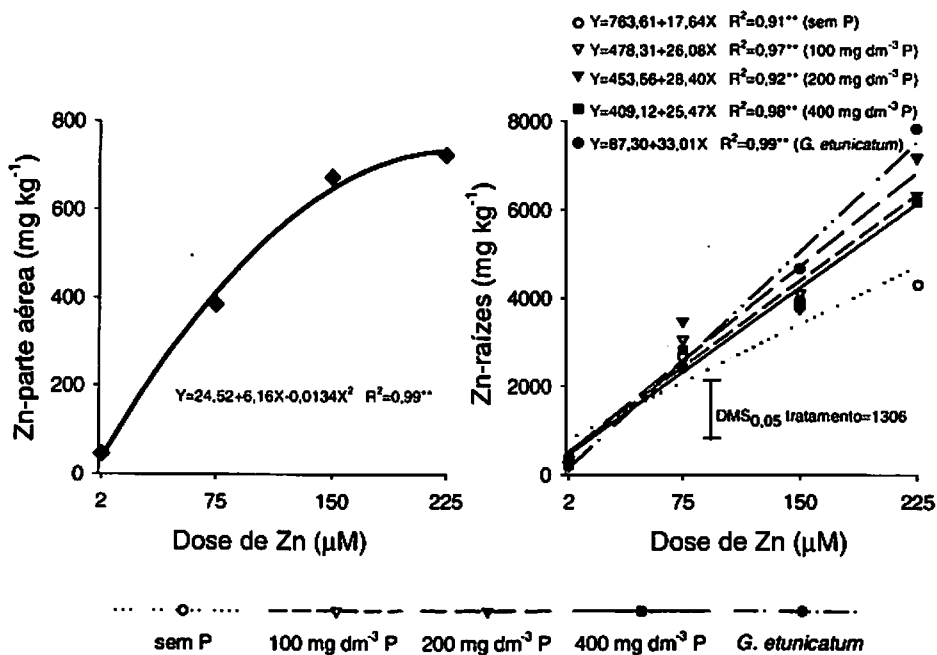


FIGURA 5 Teores de Zn na parte aérea e raízes de mudas de *Trema micrantha* em resposta ao aumento de doses de Zn em solução nutritiva e pré-tratamentos de P e inoculação com *G. etunicatum* (** $p \leq 0,01$; * $p \leq 0,05$).

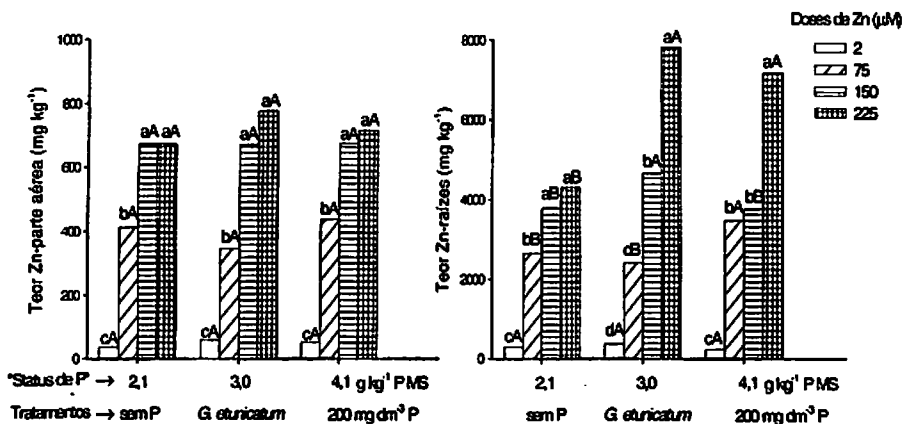


FIGURA 6 Relação entre o “status” nutricional de P e os teores de Zn na matéria seca da parte aérea e raízes de mudas de *Trema micrantha* em solução nutritiva contendo doses de Zn. Letras minúsculas comparam doses dentro do mesmo tratamento e letras maiúsculas comparam tratamentos dentro da mesma dose de Zn (Scott-Knott 5%).

Houve efeito das doses de Zn sobre o acúmulo de Zn na matéria seca da parte aérea e raízes das plantas (Tabela 3A). Conforme mostrado na Figura 7, verifica-se que, independentemente dos tratamentos prévios aplicados, houve incremento no acúmulo de Zn na parte aérea somente até a dose de 150 μM Zn, em função do aumento dos teores deste elemento nos tecidos (Figura 5) e devido à acentuada queda na produção de matéria seca em 225 μM Zn (Figura 2). Enquanto isso, o acúmulo de Zn nas raízes apresentou resposta raiz-quadrática, com elevado decréscimo deste nas doses superiores a 75 μM Zn, como resultado da elevada inibição na produção de matéria seca das raízes.

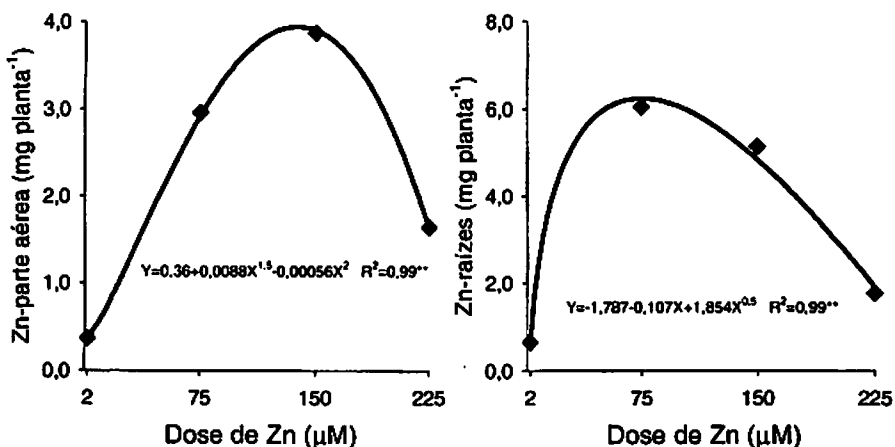


FIGURA 7 Acúmulo de Zn na parte aérea e raízes de mudas de *Trema micrantha* em resposta ao aumento de doses de Zn em solução nutritiva (** $p \leq 0,01$).

A razão do acúmulo relativo de Zn entre a parte aérea e raízes (PA/R) também foi influenciada pelas doses desse elemento em solução e pelos pré-tratamentos de P e MA aplicados (Tabela 3). O aumento das doses de Zn promoveu incrementos na razão de acúmulo deste elemento, principalmente nas plantas com baixo suprimento de P e pré-colonizadas com MA, as quais apresentaram razão de acúmulo média de Zn de 1,31 quando crescidas em solução contendo 225 µM Zn, evidenciando que houve elevada distribuição relativa deste elemento na parte aérea das plantas. Enquanto isso, nas mudas que apresentavam maiores teores de P na parte aérea (4,1 g kg⁻¹) a razão de Zn foi de apenas 0,66, indicando que o aumento no suprimento de P propicia uma maior imobilização do zinco absorvido nas raízes, restringindo sua translocação para a parte aérea.

TABELA 3 Razão dos acúmulos de Zn na parte aérea e raízes (PA/R) em mudas de *Trema micrantha* com diferentes "status" nutricional de P após crescimento em solução nutritiva contendo doses de Zn.

Dose Zn (μM)	"Status" de P das plantas (g kg^{-1})/Tratamentos		
	2,1 (sem P)	3,0 (<i>G. etunicatum</i>)	4,1 (200 mg dm^{-3} P)
2	0,44bB	0,55bB	0,97aA
75	0,68bA	0,54bA	0,52aA
150	0,84bA	0,73bA	0,85aA
225	1,24aA	1,37aA	0,66aB

Letras minúsculas comparam doses dentro do mesmo "status" de P e letras maiúsculas comparam "status" de P dentro da mesma dose de Zn (Scott-Knott 5%).

Os teores de P na matéria seca das plantas também foram influenciados pelo aumento das doses de Zn em solução (Tabela 3A). Em relação aos teores de P na matéria seca da parte aérea, verificou-se não ter havido comportamento diferenciado dos pré-tratamentos aplicados, obtendo-se teores variando de 1,0 a 2,2 g kg^{-1} P (Figura 8). A baixa influência dos tratamentos prévios de P e inoculação com *G. etunicatum* sobre os teores de P na parte aérea das plantas ao final deste ensaio, pode ser devido ao fato da baixa concentração de P presente na solução nutritiva de Clark, a qual contém somente 0,07 mM P, fornecida durante os 40 dias de crescimento das plantas em solução contendo doses de Zn. Para os teores de P nas raízes, na maioria dos casos, foi verificada resposta exponencial para os teores desse nutriente em função do aumento das doses de Zn (Figura 8). Neste caso, houve elevação nos teores de P apenas na dose mais alta de Zn (225 μM), o que pode estar relacionado com o efeito de concentração, uma vez que houve decréscimo acentuado na produção de matéria seca das raízes.

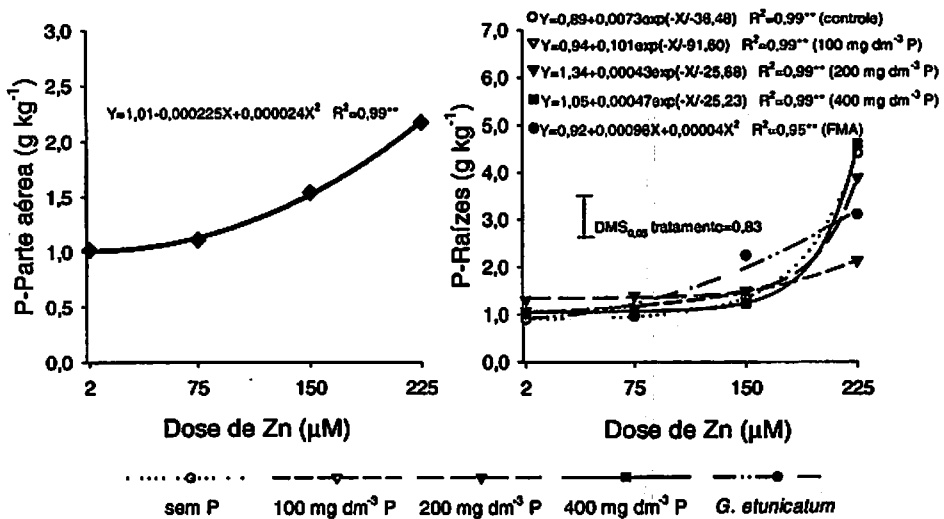


FIGURA 8 Teores de P na parte aérea e raízes de mudas de *Trema micrantha* em resposta ao aumento de doses de Zn em solução nutritiva e pré-tratamentos de P e inoculação com *G. etunicatum* (** p ≤ 0,01).

5.2 Ensaio 2: efeito do P em solução nutritiva na toxicidade de Zn

Alguns sintomas de fitotoxicidade de Zn observados para a trema neste ensaio foram semelhantes aos observados no ensaio 1, ou seja, verificou-se redução no crescimento das plantas, aparecimento de clorose foliar e inibição do crescimento das raízes (Figura 9). Além desses, observou-se também que a dose mais elevada de Zn (225 µM) promoveu murchamento das folhas, tendo o aumento da concentração de P em solução retardado o aparecimento destes sintomas, evidenciando um efeito protetor do P sobre a toxicidade de Zn nas plantas.

O aumento das doses de Zn e P em solução influenciaram a produção de matéria seca da parte aérea e raízes das plantas (Tabela 5A), sendo verificada

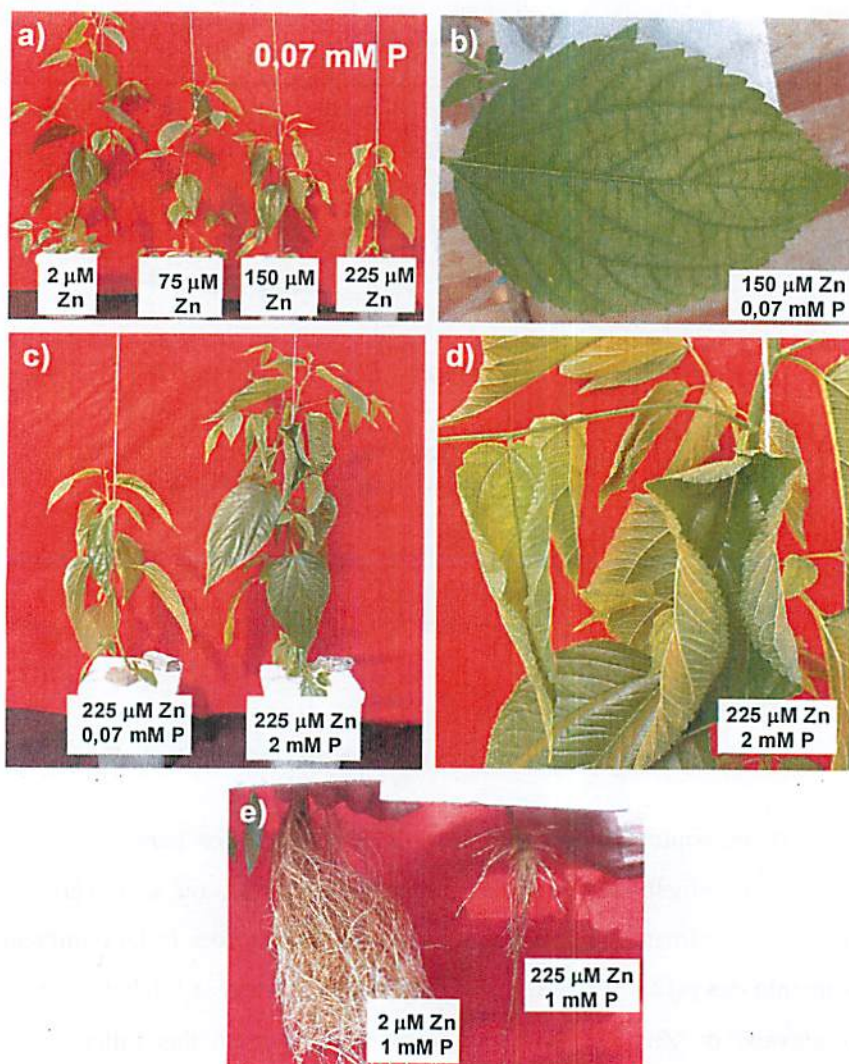


FIGURA 9 Sintomas de toxidez de Zn em mudas de *Trema micrantha* em solução nutritiva (ensaio 2). a) efeito do aumento das doses de Zn; b) clorose foliar; c) efeito da aplicação de P em solução; d) murchamento das folhas e) inibição do crescimento das raízes.

redução acentuada na produção de matéria seca da parte aérea e raízes das plantas em todas as doses de P aplicadas (Figura 10). Na dose de 2 μM de Zn, que é a concentração normal da solução nutritiva de Clark, o aumento do fornecimento de P promoveu incrementos na produção de matéria seca da trema, evidenciando a resposta positiva da aplicação deste nutriente no crescimento desta espécie. No entanto, o aumento das doses de Zn em solução limitou a resposta ao P. Mesmo na dose mais elevada de P em solução (2 mM P), foi observado decréscimo de até 51% na produção de matéria seca da parte aérea das plantas crescendo em 225 μM Zn em relação ao controle. Apesar disso, notou-se que, mesmo em concentrações tóxicas de Zn, a adição de altas doses de P possibilitou uma maior produção de matéria seca das plantas em comparação àquelas em baixo fornecimento de P.

As doses críticas de toxidez de Zn em solução (DCT_{50}) estimadas para as raízes foram inferiores àquelas obtidas para a parte aérea (Tabela 4), o que confirma a maior susceptibilidade das raízes ao Zn, como verificado no ensaio I. Além disso, pôde-se perceber que o aumento na concentração de P em solução de 0,07 mM para 2 mM P, aumentou as DCT_{50} estimadas para as raízes de 101 μM para 203 μM Zn, respectivamente. O aumento das doses de P também promoveu incrementos para as DCT_{50} estimadas para a parte aérea, indicando que o aumento no fornecimento de P à solução tem efeito amenizante da fitotoxidez de Zn para a trema.

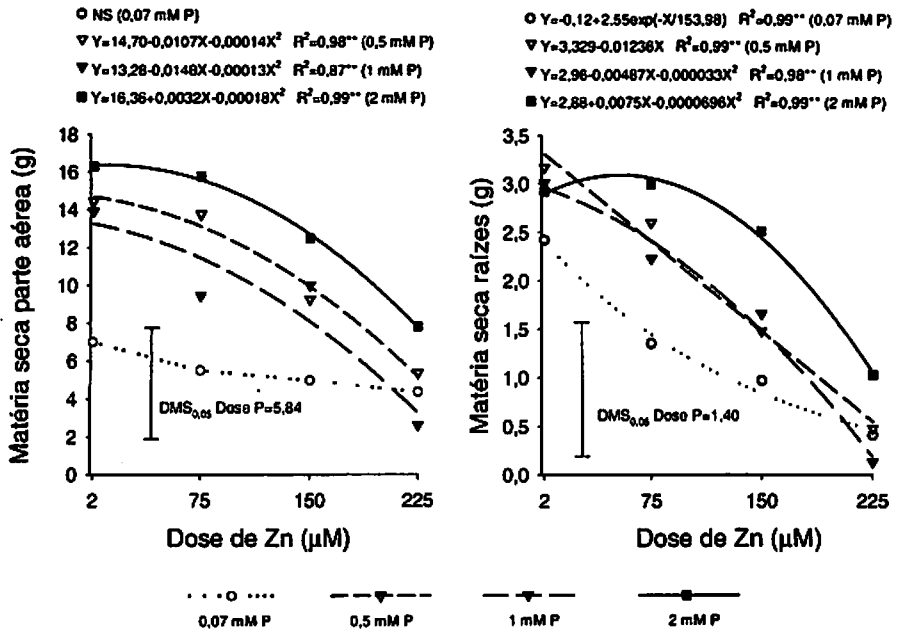


FIGURA 10 Matéria seca da parte aérea e raízes de mudas de *Trema micrantha* em resposta ao aumento de doses de Zn e aplicação de P em solução nutritiva (** $p \leq 0,01$; NS = efeito não significativo).

TABELA 4 Doses críticas de toxidez (DCT_{50})¹ de Zn em solução nutritiva para a matéria seca da parte aérea e raízes de *Trema micrantha* nas diferentes doses de P (ensaio 2).

	Parte aérea	Raízes
	-----µM-----	
0,07 mM P	n.e.	101
0,5 mM P	194	135
1,0 mM P	175	150
2,0 mM P	220	203

¹Concent. de Zn em solução requerida para inibir em 50% o parâmetro de crescimento
n.e. = não estimado devido ao efeito não significativo das doses de Zn

As doses de Zn e P em solução influenciaram os teores e acúmulos de Zn na matéria seca da parte aérea e raízes das plantas (Tabela 6A). Os teores de Zn nas raízes aumentaram exponencialmente com a elevação da dose deste elemento em solução, não tendo sido verificado comportamento diferenciado entre as doses de P (Figura 11). Isto pode ser devido à baixa influência da adição de P sobre a percentagem das principais formas de Zn disponíveis para a planta (Zn^{2+} e $ZnEDTA^{2-}$), conforme revelou o estudo de especiação (Tabela 5). Estas formas representaram mais de 90% da concentração total de Zn em solução, enquanto que formas consideradas menos disponíveis para a absorção ($ZnHPO_4$) não ultrapassaram os 2%. Estes dados mostram que o aumento das doses de P não interfere de modo relevante na disponibilidade de Zn para as plantas, nas condições deste estudo. Apesar disso, pôde-se notar que a adição de 1 mM P à solução contendo 225 µM Zn foi capaz de reduzir em mais de 40% o teor de Zn na matéria seca da parte aérea, em comparação com às demais doses de P aplicadas (Figura 11, Tabela 7A). Isto sugere que o fornecimento de P está influenciando a translocação do Zn absorvido, fato este salientado por Olsen (1972) e também observado no ensaio 1.

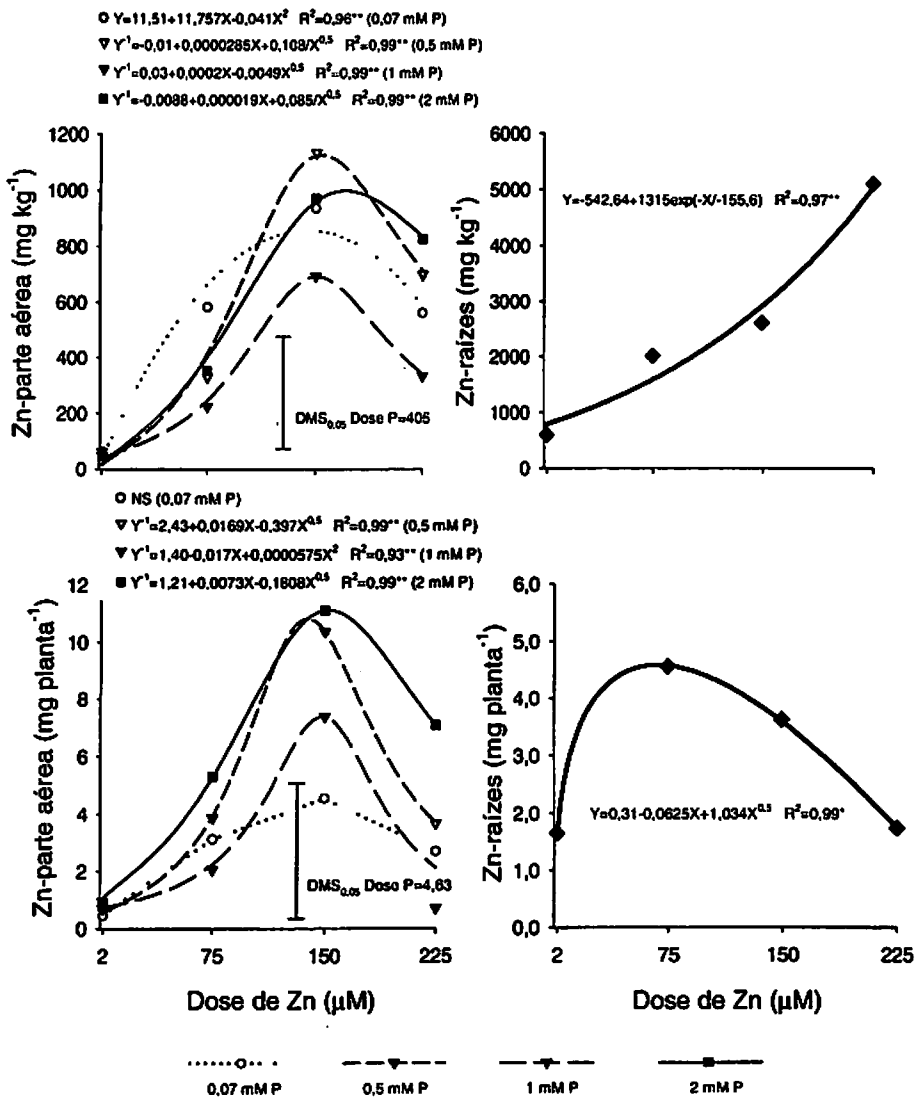


FIGURA 11 Teor e acúmulo de Zn na parte aérea e raízes de mudas de *Trema micrantha* em resposta ao aumento de doses de Zn e aplicação de P em solução nutritiva (** $p \leq 0,01$; * $p \leq 0,05$; NS = efeito não significativo).

TABELA 5 Atividade iônica e percentagem das principais formas de Zn e P adicionados simultaneamente à solução nutritiva (ensaio 2).

Doses em solução	Atividade de íons ($\mu\text{mol L}^{-1}$)†			
	Zn ²⁺	ZnEDTA ²⁻	ZnHPO ₄	H ₂ PO ₄ ⁻
2 μM Zn				
+ 0,07 mM P	0,0014 (0,1)	1,26 (99)	< 0,1 (-)	52 (92)
+ 0,5 mM P	0,0014 (0,1)	1,26 (99)	< 0,1 (-)	408 (92)
+ 1,0 mM P	0,0013 (0,1)	1,27 (99)	< 0,1 (-)	601 (93)
+ 2,0 mM P	0,0013 (0,1)	1,29 (99)	< 0,1 (-)	1123 (94)
75 μM Zn				
+ 0,07 mM P	24,2 (48)	23,6 (48)	< 0,1 (-)	51 (92)
+ 0,5 mM P	23,9 (48)	23,6 (48)	0,4 (0,5)	407 (92)
+ 1,0 mM P	24,0 (48)	23,8 (48)	0,6 (0,8)	604 (93)
+ 2,0 mM P	23,9 (47)	24,2 (48)	1,1 (1,5)	1126 (94)
150 μM Zn				
+ 0,07 mM P	69,5 (71)	23,5 (25)	0,2 (0,1)	51 (92)
+ 0,5 mM P	68,8 (70)	23,5 (25)	1,2 (0,8)	406 (92)
+ 1,0 mM P	68,9 (70)	23,7 (25)	1,7 (1,1)	607 (93)
+ 2,0 mM P	68,7 (68)	24,1 (25)	3,2 (2,0)	1128 (94)
225 μM Zn				
+ 0,07 mM P	114 (78)	23,5 (16)	0,2 (0,1)	51 (92)
+ 0,5 mM P	113 (77)	23,4 (16)	1,9 (0,8)	406 (92)
+ 1,0 mM P	113 (77)	23,6 (17)	2,9 (1,3)	610 (93)
+ 2,0 mM P	76 (70)	24,0 (23)	3,5 (2,0)	1106 (94)

† Valores entre parênteses representam a percentagem da concentração total do componente

O aumento das doses de Zn e a aplicação de P à solução exerceram efeitos significativos sobre os teores de P na matéria seca da parte aérea e raízes (Tabela 6A). Na Figura 12, verifica-se que o aumento das doses de Zn pouco influenciou os teores de P nas raízes, enquanto que na parte aérea os teores desse nutriente foram reduzidos, de maneira geral, nas doses mais elevadas de Zn em solução. Em ambos os casos, o aumento da concentração de P em solução proporcionou teores mais elevados deste nutriente nos tecidos em comparação às plantas submetidas a baixo P, obtendo-se mudas com melhor condição nutricional de P, mesmo em concentrações tóxicas de Zn. A contribuição do “status” nutricional de P pôde ser constatada por meio da correlação positiva existente entre os teores de P na planta e a produção de matéria seca da parte aérea ($r = 0,83^{**}$) e raízes ($r = 0,69^{**}$) (Tabela 6). Assim, a melhoria da condição nutricional de P pelo aumento do fornecimento deste elemento em solução, favorece o crescimento da trema e reduz os efeitos adversos do excesso de Zn para esta espécie.

Não foi observada correlação significativa entre os teores de P e Zn na planta, mas a adição de 1 mM P na solução reduziu os teores de Zn na matéria seca da parte aérea da trema, evidenciando o clássico antagonismo entre estes dois elementos (Loneragan et al., 1982; Marschner, 1995). Estudos adicionais em âmbito celular, molecular e fisiológico são necessários para delinear os mecanismos pelos quais a nutrição fosfática interage com a absorção e efeitos do excesso de Zn na planta. Van Steveninck et al. (1987) consideram que o P pode atuar diretamente na amenização da toxicidade de Zn devido à sua participação na estrutura da molécula de fitato, a qual seria capaz de complexar quantidades apreciáveis de Zn no córtex das raízes, limitando assim o transporte do metal para a parte aérea das plantas.

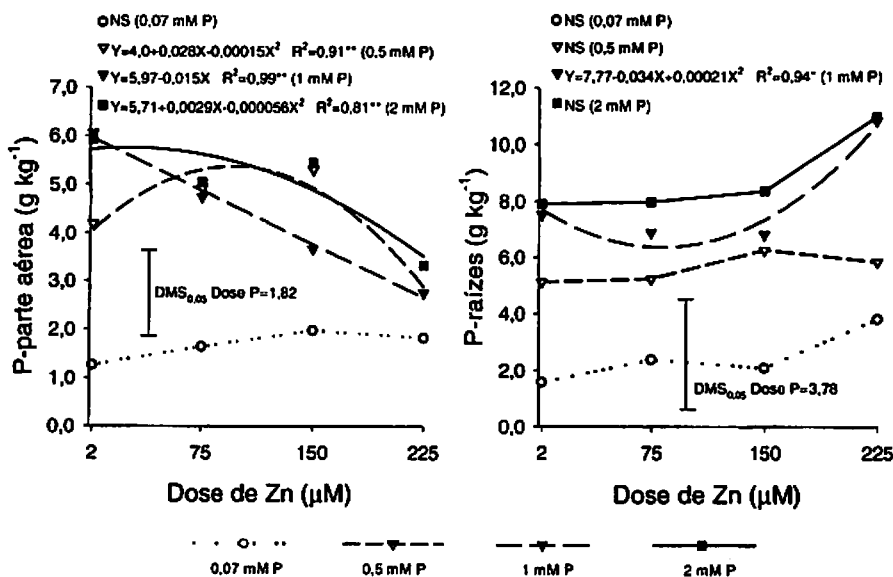


FIGURA 12 Teor de P na parte aérea e raízes de mudas de *Trema micrantha* em resposta ao aumento de doses de Zn e aplicação de P em solução nutritiva (** $p \leq 0,01$; * $p \leq 0,05$; NS = efeito não significativo).

TABELA 6 Coeficientes de correlação de Pearson (n=16) envolvendo os teores de P na planta, produção de matéria seca da parte aérea (MSPA) e raízes (MSR) e os teores de Zn nos tecidos de *Trema micrantha* crescendo em solução nutritiva contendo doses crescentes de Zn e P (ensaio 2).

	Teor de P na planta	
	P (MSPA)	P (MSR)
Matéria seca parte aérea (MSPA)	0,83 **	0,24 ^{ns}
Matéria seca raízes (MSR)	0,66 **	-0,01 ^{ns}
Teor Zn (MSPA)	-0,14 ^{ns}	0,03 ^{ns}
Teor de Zn (MSR)	-0,39 ^{ns}	0,25 ^{ns}

** $p \leq 0,01$; ns = não significativo

6 CONCLUSÕES

O excesso de Zn mostrou-se muito inibitório para o crescimento e colonização micorrízica da trema, sendo a colonização mais sensível ao excesso de Zn em solução do que o crescimento da planta.

Os pré-tratamentos com P e a inoculação com o fungo micorrízico *Glomus etunicatum* não exerceram efeito protetor da toxidez de Zn para a trema, mas plantas com melhor suprimento de P têm reduzida translocação de Zn das raízes para a parte aérea.

O aumento da concentração de P em solução nutritiva melhorou o estado nutricional de P e conferiu proteção da fitotoxidez de Zn para a trema.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLOWAY, B. J. **Heavy metals in soils**. New York: John Wiley, 1993. 339 p.

BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, Ch. Respuestas de las plantas a la contaminación por metales pesados. **Suelo y Planta**, Madrid, v. 2, p. 345-361, 1992.

BROWN, S. L.; CHANEY, R. L. , ANGLE, J. S.; BAKER, A. J. M. Zinc and cadmium uptake by hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* grown in nutrient solution. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 59, n. 1, p. 125-133, Jan./Feb. 1995.

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 micorrízicos arbusculares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 11, p. 1443-1452, nov. 2001.

CHRISTIE, P.; LI, X.; CHEN, B. Arbuscular mycorrhiza can depress translocation of zinc to shoots of host plants in soils moderately polluted with zinc. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 261, n. 2, p. 209-217, Mar. 2004.

CLARK, R. B. Characterization of phosphates in intact maize roots. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 23, n. 3, p. 458-460, May/June 1975.

DÍAZ, G.; AZEÓN-AGUILAR, C.; HONRUBIA, M. Influence of arbuscular mycorrhizae on heavy metal (Zn and Pb) uptake and growth of *Lygeum spartum* and *Anthyllis cytisoides*. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 180, n. 2, p. 241-249, Mar. 1996.

FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45, 2000, São Carlos, SP. **Programas e Resumos...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 235.

FONTES, R. L. F.; COX, R. Iron deficiency and zinc toxicity in soybean grown in nutrient solution with different levels of sulfur. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 21, n. 8, p. 1715-1722, 1998.

GERDEMANN, J. B.; NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions British Mycological Society**, London, v. 46, p. 235-246, 1963.

GILDON, A.; TINKER, P. B. Interactions of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and heavy metals in plants. I. The effects of heavy metals on the development of vesicular-arbuscular mycorrhizas. **New Phytologist**, Cambridge, v. 95, n. 2, p. 247-261, Feb. 1983.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular infection in roots. **The New Phytologist**, Oxford, v. 84, n. 3, p. 489-500, Mar. 1980.

GRAZZIOTTI, P. H. **Comportamento de fungos ectomicorrízicos, *Acacia mangium* e espécies de *Pinus* e *Eucalyptus* em solo contaminado por metais pesados.** 1999. 177 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

HETRICK, B. A. D.; WILSON, G. W. T.; FIGGE, D. A. H. The influence of mycorrhizal symbiosis and fertilizer amendments on establishment of vegetation in heavy metal mine spoil. **Environmental Pollution**, Oxford, v. 86, n. 2, p. 171-179, 1994.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants.** Boca Raton: CRC Press, 2001. 413 p.

KLAUBERG FILHO, O. **Ecologia e atividade de fungos micorrízicos arbusculares em solo poluído com metais pesados.** 1999. 161 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

KOSKE, R. E.; GEMMA, J. N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. **Mycological Research**, New York, v. 92, n. 4, p. 486-488, June 1989.

LEYVAL, C.; TURNAU, K.; HASELWANDTER, K. Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. **Mycorrhiza**, New York, v. 7, n. 3, p. 139-153, Sept. 1997.

LONERAGAN, J. F.; GRUNES, D. L.; WELCH, R. M.; ADUAYI, E. A.; TENGAH, A.; LAZAR, V. A.; CARY, E. E. Phosphorus accumulation and toxicity in leaves in relation to zinc supply. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 46, n. 2, p. 345-352, Mar./Apr. 1982.

MALAVOLTA, E. O fósforo na planta e interações com outros elementos. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S.R.S. (Ed.) **Fósforo na agricultura brasileira**. Piracicaba: POTAFOS, 2004. p. 35-105.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: POTAFÓS, 1989. 201 p.

MARQUES, T. C. L. L. S. M.; MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Crescimento e absorção de metais em mudas de espécies arbóreas em solo contaminado com metais pesados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 1, p. 121-132, Jan. 2000.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed. San Diego: Academic Press, 1995. 902 p.

OLSEN, S. R. Micronutrient interactions. In: MORTVEDT, J. J.; GIORDANO, P. M.; LINDSAY, W. L. (Ed.) **Micronutrients in agriculture**. Madison: SSSA, 1972. p. 243-264.

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

PARON, M. E.; SIQUEIRA, J. O.; CURI, N. Fungos micorrízicos, fósforo e nitrogênio no crescimento inicial da trema e do fededoso. **Revista Brasileira de Ciência Solo**, Viçosa, v. 21, n. 4, p. 567-574, out./dez. 1997.

PIERZYNSKI, G. M.; SIMS, J. T.; VANCE, G. F. **Soils and Environmental Quality**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1994. 313 p.

SHAW, A. J. **Heavy metal tolerance in plants: evolutionary aspects**. New York, CRC Press, 1989. 355 p.

SINGH, B. R.; STEINNES, E. Soil and water contamination by heavy metal. In: LAL, R.; STEWART, B. A. (Ed.). **Soil process and water quality**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1994. p. 233-271.

SIQUEIRA, J. O.; PEREIRA, M. A. M.; SIMÃO, J. B. P.; MOREIRA, F. M. S. Efeito da formononetina (7 Hidroxi, 4' metoxi Isoflavona) na colonização micorrízica e crescimento do milho em solo contendo excesso de metais pesados. **Revista Brasileira de Ciência Solo**, Viçosa, v. 23, n. 3, p. 561-567, jul./set. 1999a.

SIQUEIRA, J. O.; POUYÚ, 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 Solo**, Viçosa, v. 23, n. 3, p. 569-580, jul./set. 1999b.

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 por rejeitos de indústria de zinco. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 13, n. 3, p. 302-315, dez. 2001a.

SOARES, C. R. F. S.; GRAZZIOTTI, P. H.; SIQUEIRA, J. O.; CARVALHO, J. G. de; MOREIRA, F. M. S. Toxidez de zinco no crescimento e nutrição de *Eucalyptus maculata* e *Eucalyptus urophylla* em solução nutritiva. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 3, p. 339-348, mar. 2001b.

VAN STEVENINCK, R. F. M.; BABARE, A.; FERNANDO, D. R.; VAN STEVENINCK, M. E. The binding of zinc, but not cadmium, by phytic acid in roots of crop plants. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 167, n. 1, p. 157-164, Nov. 1994.

VAN STEVENINCK, R. F. M.; VAN STEVENINCK, M. E.; FERNANDO, D. R. Heavy-metal (Zn, Cd) tolerance in selected clones of duck weed (*Lemna minor*). **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 146, n. 1/2, p. 271-280, Oct. 1992.

VAN STEVENINCK, R. F. M.; VAN STEVENINCK, M. E.; FERNANDO, D. R.; HORST, W. J.; MARSCHNER, H. Deposition of zinc phytate in globular bodies in roots of *Deschampsia caespitosa* ecotypes: a detoxification

mechanisms? **Journal of Plant Physiology**, New York, v. 131, n. 3/4, p. 247-257, Dec. 1987.

WEISSENHORN, I.; LEYVAL, C.; BELGY, G.; BERTHELIN, J. Arbuscular mycorrhizal contribution to heavy metal uptake by maize (*Zea mays* L.) in pot culture with contaminated soil. **Mycorrhiza**, New York, v. 5, n. 4, p. 245-251, 1995.

WHITFIELD, L.; RICHARDS, A. J.; RIMMER, D. L. Effects of mycorrhizal colonisation on *Thymus polytrichus* from heavy-metal-contaminated sites in northern England. **Mycorrhiza**, New York, v. 14, n. 1, p. 47-54, Feb. 2004a.

WHITFIELD, L.; RICHARDS, A. J.; RIMMER, D. L. Relationships between soil heavy metal concentration and mycorrhizal colonisation in *Thymus polytrichus* in northern England. **Mycorrhiza**, New York, v. 14, n. 1, p. 55-62, Feb. 2004b.

CAPÍTULO 3

NUTRIÇÃO FOSFÁTICA E MICORRIZA ARBUSCULAR NA TOXICIDADE DE CÁDMIO PARA *TREMA MICRANTHA*

1 RESUMO

SOARES, Cláudio Roberto Fonsêca Sousa. *Nutrição fosfática e micorriza arbuscular na toxicidade de cádmio para *Trema micrantha**. 2004. Cap. 3, 29p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, MG.*

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos de micorriza arbuscular, do “status” nutricional de P da planta e de níveis crescentes de P em solução nutritiva na toxicidade de Cd para *Trema micrantha* (L.) Blum. Em um primeiro experimento, mudas de trema foram formadas em substrato contendo doses crescentes de P (0, 100, 200 e 400 mg dm⁻³ P) e um tratamento de inoculação com *Glomus etunicatum* (Ge). Após crescimento por 60 dias, estas mudas foram transferidas para vasos com solução nutritiva de Clark contendo 0, 5, 15 e 45 µM de Cd e mantidas por mais 40 dias, quando foram colhidas e avaliadas. Os efeitos do P na amenização da fitotoxicidade de Cd foram avaliados em outro experimento, aplicando-se simultaneamente e de forma combinada em solução, doses de P (0,07; 0,5; 1 e 2 mM) e de Cd (0, 5, 10 e 15 µM), tendo sido cultivadas mudas de trema por 40 dias. Houve acentuada inibição no crescimento e colonização micorrizica da trema mesmo na dose mais baixa de Cd em solução (5 µM). Constatou-se que a melhoria da nutrição fosfática reduziu a translocação do Cd das raízes para a parte aérea e isto contribuiu para reduzir a toxicidade de Cd para a trema. No segundo experimento, verificou-se que a elevação na concentração de P em solução nutritiva promoveu melhoria no estado nutricional de P, conferindo proteção à planta contra o excesso de metal. Como a especiação química da solução indicou que a aplicação de P não

* Comitê Orientador: José Oswaldo Siqueira – UFLA (orientador), Janice Guedes de Carvalho – UFLA, Fátima Maria de Souza Moreira – UFLA, Ângela Maria Soares – UFLA, Sidney Luiz Sturmer – FURB.

interferiu de modo significativo nas formas disponíveis de Cd em solução, os resultados sugerem que a ação amenizante do P ocorre na planta, possivelmente reduzindo a translocação do Cd das raízes para a parte aérea das plantas.

2 ABSTRACT

SOARES, Cláudio Roberto Fonsêca Sousa. **Phosphate nutrition and arbuscular mycorrhiza on cadmium toxicity to *Trema micrantha***. 2004. Cap. 3, 29p. Thesis (Doctorate on Soil and Plant Nutrition) – Federal University of Lavras, MG, Brazil.*

In the present study the effects of arbuscular mycorrhiza and P nutritional status of plant and increasing levels of P in nutrient solution on Cd toxicity to *Trema micrantha* (L.) Blum. were evaluated. In a first experiment trema seedlings were raised in substrate enriched with increasing rates of P (0, 100, 200 and 400 mg dm⁻³ P) and a mycorrhizal treatment inoculated with *Glomus etunicatum* (Ge). After grow for 60 days plants were transferred to pot with Clark's nutrient solution containing 0, 5, 15 and 45 µM of Cd and allowed to grow for 40 days, when they were harvested and evaluated for treatment effects. In a second experiment the ameliorating effects of P on Cd phytotoxicity were also evaluated in nutrient solution containing increasing rates of P (0.07; 0.5; 1 and 2 mM) and Cd (0, 5, 10 and 15 µM) combined and simultaneously applied to solution, where trema seedlings were allowed to grow for 40 days. It was found that high concentrations of Cd were highly inhibitory to plant growth and mycorrhizal colonization even in the lowest concentration of Cd in solution (5 µM). Enhanced P nutrition of the plants reduced translocation of the absorbed Cd from roots to shoots and this contributed to reduce the Cd toxicity to trema. In the second experiment elevated concentration of P in solution improved plant nutritional status and protected the plant against the excess of Cd. Considering that chemical speciation of the solution showed no significant effect on Cd available forms, the results suggested that the ameliorating effects of P happen *in planta*, possibly by reducing Cd translocation from root to shoots.

* Guidance Committee: José Oswaldo Siqueira – UFLA (Major Professor), Janice Guedes de Carvalho – UFLA, Fátima Maria de Souza Moreira – UFLA, Ângela Maria Soares – UFLA, Sidney Luiz Sturmer – FURB.

3 INTRODUÇÃO

A ciclagem biogeoquímica de metais pesados e o fluxo natural desses elementos na biosfera têm sido alterados em função da crescente atividade antrópica nos ecossistemas (Alloway, 1993; Kabata-Pendias & Pendias, 2001). Alguns metais pesados, tais como cádmio (Cd), chumbo (Pb) e mercúrio (Hg), não apresentam funções fisiológicas ou nutricionais para os seres vivos, mas são bem conhecidos como poluentes ambientais devido à possibilidade de bioacumulação na cadeia alimentar, causando danos aos mesmos (Singh & Steinnes, 1994).

O Cd é universalmente conhecido pela sua elevada toxicidade para as plantas e animais (Barceló & Poschenrieder, 1992). Contaminações ambientais com Cd são freqüentes em áreas de processamento de rejeitos de minérios, composto de lixo e lodo de esgoto, indústrias de plástico e lubrificante e, em alguns casos, pela aplicação de fertilizantes fosfatados ricos em Cd (Bergmann, 1992). No solo, a maior parte do Cd apresenta-se na forma trocável (Ribeiro Filho et al., 1999), sendo facilmente absorvido pelas raízes e causando sérios danos às plantas.

A fitotoxicidade de Cd manifesta-se normalmente exibindo cloroses foliares, acompanhada pela diminuição da taxa fotossintética, inibição da respiração e transporte de elétrons nas mitocôndrias e pela diminuição da atividade enzimática (Arduini et al., 1996; Sanità di Toppi & Gabrielli, 1999). As espécies vegetais e mesmo cultivares de uma mesma espécie diferem amplamente na habilidade de absorver, acumular, translocar e tolerar o excesso de Cd (Yang et al., 1995; Hart et al., 1998). Os principais mecanismos de tolerância das plantas ao Cd envolvem a produção de fitoquelatinas e a compartimentalização deste elemento no vacúolo (Shaw, 1989), mas há muitas

este elemento. Os sintomas progrediram com o tempo, de modo que ao final dos 40 dias de exposição das plantas ao metal, foi observada a ocorrência de clorose internerval nas folhas mais jovens, semelhantemente à deficiência de Fe, com grande reflexo na redução do crescimento das plantas, mesmo nas doses mais baixas de Cd em solução (5 e 15 μM Cd) (Figura 1). Apesar disso, verificou-se que estes sintomas foram menos acentuados nas plantas pré-tratadas com 200 e 400 mg dm^{-3} P, do que naquelas com baixo P e inoculação com *G. etunicatum*. A dose de 45 μM Cd foi muito fitotóxica para a trema, acarretando em acentuada queda das folhas e morte das plantas, independentemente dos pré-tratamentos aplicados na formação das mudas.

A colonização micorrízica das plantas pré-inoculadas com *G. etunicatum* foi severamente inibida na presença do Cd em solução, reduzindo de 52% no controle para apenas 12% após transferência das plantas para a solução contendo 5 μM Cd, evidenciando o elevado efeito tóxico deste elemento para as micorrizas arbusculares (Figura 2). Esses resultados são importantes, pois, na literatura, não existem estudos que indiquem a concentração de Cd em solução capaz de reduzir a taxa de colonização micorrízica. O efeito tóxico de metais pesados sobre a simbiose micorrízica já foi relatado em outros estudos com diversas espécies, na maioria dos casos realizados em solos multicontaminados (Grazziotti, 1999; Siqueira et al., 1999; Klauberg Filho, 1999; Carneiro et al., 2001; Whitfield et al., 2004), dificultando a avaliação do potencial de inibição para os diferentes contaminantes.

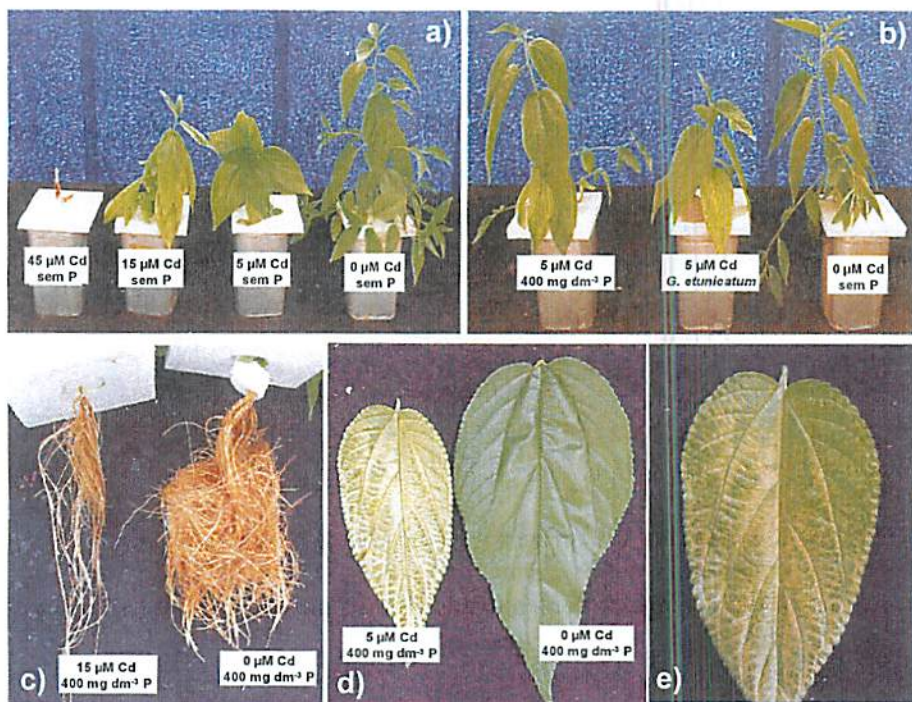


FIGURA 1 Síntomas de toxidez de Cd em mudas de *Trema micrantha* em solução nutritiva (ensaio 1). a) efeito do aumento da dose de Cd; b) efeito dos pré-tratamentos de P e inoculação com *G. etunicatum*; c) redução no crescimento de raízes; d) clorose foliar; e) detalhe da clorose internerval.

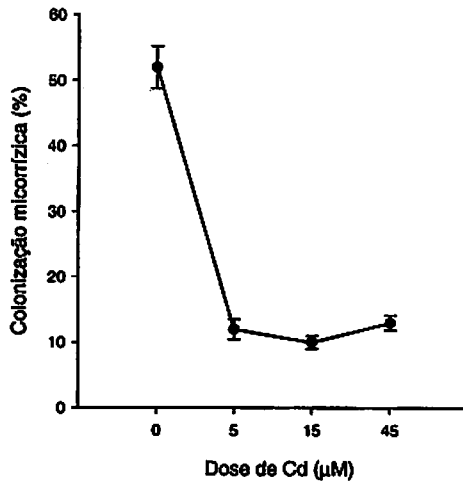


FIGURA 2 Colonização micorrízica de mudas de *Trema micrantha* pré-colonizadas com *G. etunicatum*, após 40 dias de crescimento em solução nutritiva contendo doses crescentes de Cd. Barras verticais representam o erro padrão da média.

As doses de Cd e os pré-tratamentos de P e MA influenciaram de modo significativo a produção de matéria seca da parte aérea e raízes (Tabela 8A). Houve decréscimo acentuado na produção de matéria seca das plantas com o aumento das doses de Cd em solução, sendo esse efeito diferenciado para os pré-tratamentos de P e MA aplicados na formação das mudas (Figura 3). Os pré-tratamentos com 200 e 400 mg dm⁻³ P possibilitaram maior crescimento das plantas nas doses mais baixas de Cd em solução, em comparação aos demais pré-tratamentos. As doses críticas de toxidez em solução (DCT₅₀) para a matéria seca da parte aérea e raízes foram de 12,0 e 8,7 µM Cd, respectivamente, para o pré-tratamento de 200 mg dm⁻³ P, enquanto nas plantas sem a adição de P, os valores de DCT₅₀ foram de apenas 4,5 e 5,0 µM Cd (Tabela 1), indicando que o fornecimento de P confere proteção às plantas. As DCT₅₀ estimadas para o Cd

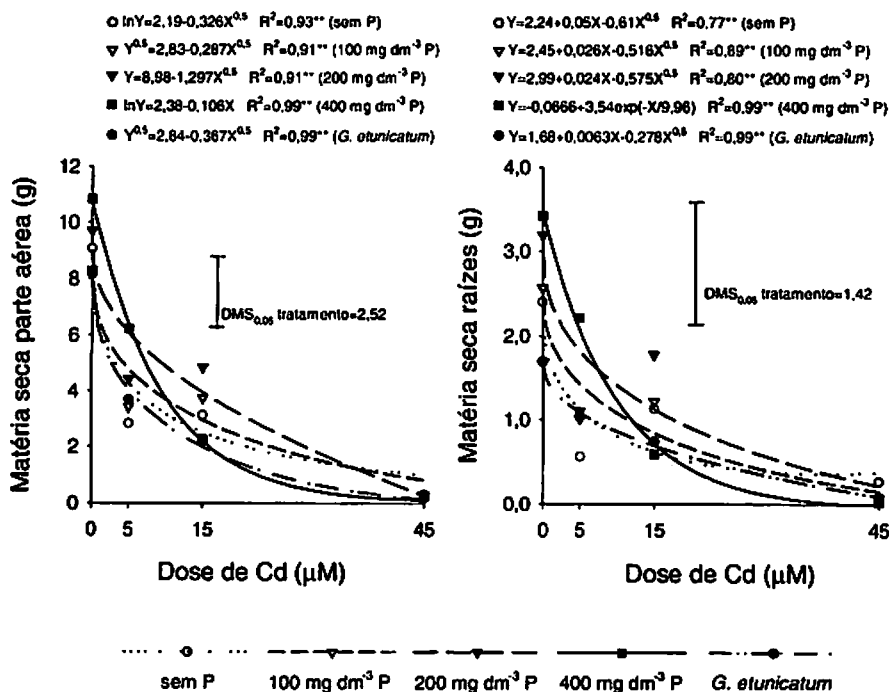


FIGURA 3 Matéria seca da parte aérea e raízes de mudas de *Trema micrantha* em resposta ao aumento de doses de Cd em solução e pré-tratamentos de P e inoculação com *G. etunicatum* (** p ≤ 0,01).

TABELA 1 Doses críticas de toxidez (DCT₅₀)¹ de Cd na matéria seca da parte aérea e raízes de *Trema micrantha* nos diferentes pré-tratamentos de P e MA (ensaio I).

Pré-tratamentos	Parte aérea	Raízes
	-----µM-----	
sem P	4,5	5,0
100 mg dm ⁻³ P	8,3	7,5
200 mg dm ⁻³ P	12,0	8,7
400 mg dm ⁻³ P	6,6	6,7
MA (<i>G. etunicatum</i>)	5,1	6,2

¹Concentração de Cd em solução requerida para inibir em 50% o parâmetro de crescimento

são bastante inferiores às aquelas estimadas para a trema sob efeito tóxico de Zn (capítulo 2), evidenciando a elevada fitotoxidez de Cd para esta espécie.

Visando entender melhor a relação entre o “status” nutricional de P e a produção de matéria seca da parte aérea nas diferentes doses de Cd, foram selecionados os tratamentos sem adição de P, inoculação com *G. etunicatum* e adição de 200 mg dm⁻³ P ao substrato, os quais permitiram teores de P na planta de 2,1, 3,0 e 4,1 g kg⁻¹ P, respectivamente (Tabela 2, capítulo 2). Como apresentado na Figura 4, verifica-se que as plantas com melhor condição nutricional de P apresentaram maior produção de matéria seca da parte aérea em comparação às aquelas com baixo P quando crescidas em 15 µM Cd, indicando que a melhoria do “status” nutricional de P contribuiu para o crescimento das plantas expostas ao excesso de Cd. Além disso, observa-se que a pré-inoculação com *G. etunicatum* não favoreceu o crescimento das plantas. Isso decorre do efeito inibitório de Cd na colonização micorrízica (Figura 2), uma vez que plantas com baixa taxa de colonização não se beneficiam dessa simbiose.

As doses de Cd e os pré-tratamentos de P e inoculação com *G. etunicatum* influenciaram os teores desse metal na matéria seca da parte aérea e raízes da trema (Tabela 9A). O aumento das doses de Cd em solução promoveu incrementos nos teores desse elemento nos tecidos, atingindo-se valores elevados de até 1.228 mg kg⁻¹ Cd na matéria seca da parte aérea (Figura 5). Estes valores são muito superiores aos teores de 380 mg kg⁻¹ encontrados na parte aérea do eucalipto (Soares, 1999) e à faixa de 5-30 mg kg⁻¹ considerada tóxica para a maioria das espécies (Kabata-Pendias & Pendias, 2001). Isto pode estar relacionado com a elevada capacidade de absorção Cd pela trema quando crescidas em solução nutritiva.

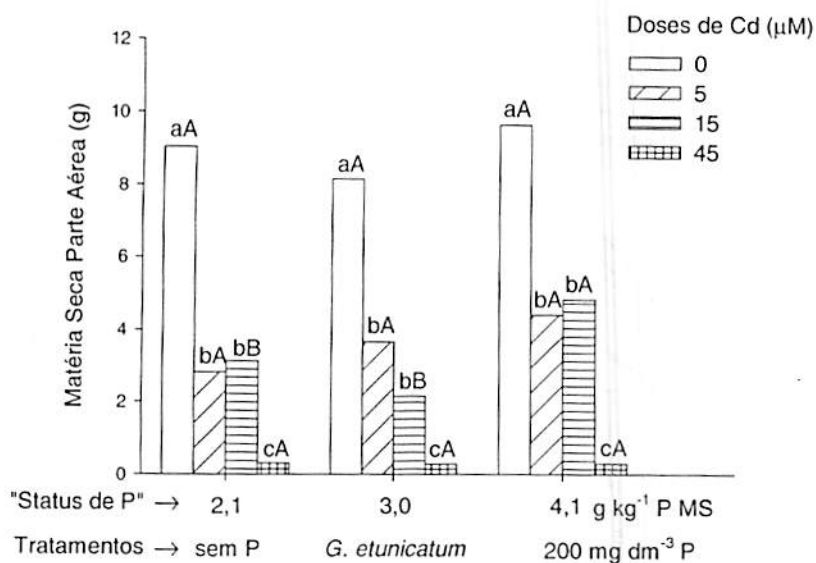


FIGURA 4 Relação entre o "status" nutricional de P e a produção de matéria seca da parte aérea de mudas de *Trema micrantha* em solução nutritiva contendo Cd. Letras minúsculas comparam doses dentro do mesmo tratamento e letras maiúsculas comparam tratamentos dentro da mesma dose de Cd (Scott-Knott 5%).

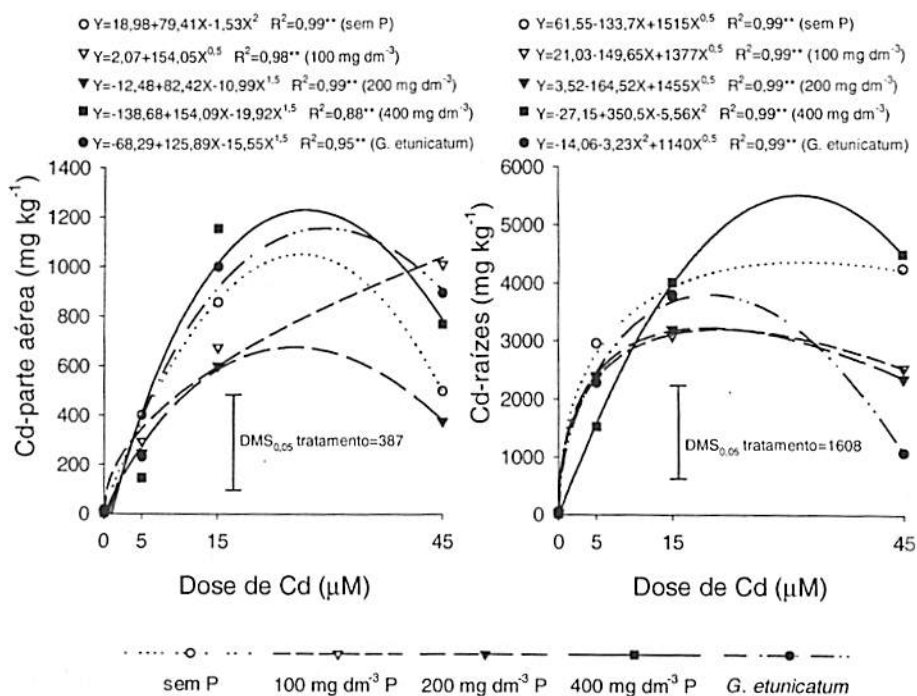


FIGURA 5 Teores de Cd na parte aérea e raízes de mudas de *Trema micrantha* em resposta ao aumento de doses de Cd em solução nutritiva e pré-tratamentos de P e inoculação com *G. etunicatum* (** p ≤ 0,01).

Da mesma forma que ocorreu para a matéria seca, avaliou-se a relação entre a condição nutricional de P das plantas e os teores de Cd na parte aérea e raízes das plantas (Figura 6). Na dose mais elevada de Cd (45 µM) as plantas micorrizadas apresentaram teores de Cd nas raízes 75% menores do que naquelas com baixo P, enquanto que na parte aérea os teores do metal foram mais elevados do que nos pré-tratamentos com P. Mesmo nas doses mais elevadas de Cd (15 e 45 µM), os teores foliares de Cd das plantas com alto suprimento de P (4,1 g kg⁻¹) foram mais baixos do que naquelas sem P e

inoculadas com MA, indicando que a melhoria da condição nutricional de P promove redução nos teores de Cd na trema.

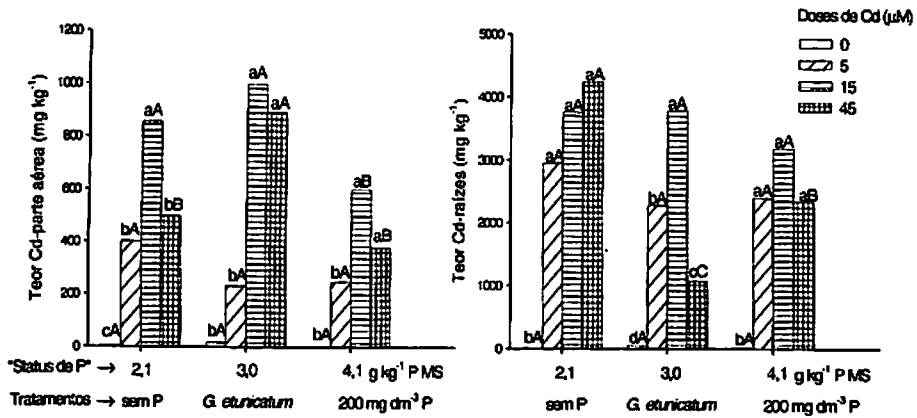


FIGURA 6 Relação entre o "status" nutricional de P e os teores de Cd na matéria seca da parte aérea e raízes de mudas de *Trema micrantha* em solução nutritiva contendo doses de Cd. Letras minúsculas comparam doses dentro do mesmo tratamento e letras maiúsculas comparam tratamentos dentro da mesma dose de Cd (Scott-Knott 5%).

O aumento das doses de Cd também influenciou o acúmulo de Cd na matéria seca da parte aérea e raízes das plantas (Tabela 9A). Na Figura 7 pode-se verificar que, independentemente dos pré-tratamentos aplicados, houve incremento no acúmulo de Cd na parte aérea e raízes até a dose de 15 μM Cd, em função do aumento dos teores desses elementos nas plantas (Figura 5), enquanto que na dose mais elevada de Cd (45 μM) a quantidade acumulada deste elemento foi baixa, devido ao decréscimo da produção de matéria seca (Figura 3). Assim, o "status" nutricional de P não influenciou o acúmulo de Cd devido à severa inibição no crescimento, mas teve efeito nos teores desse

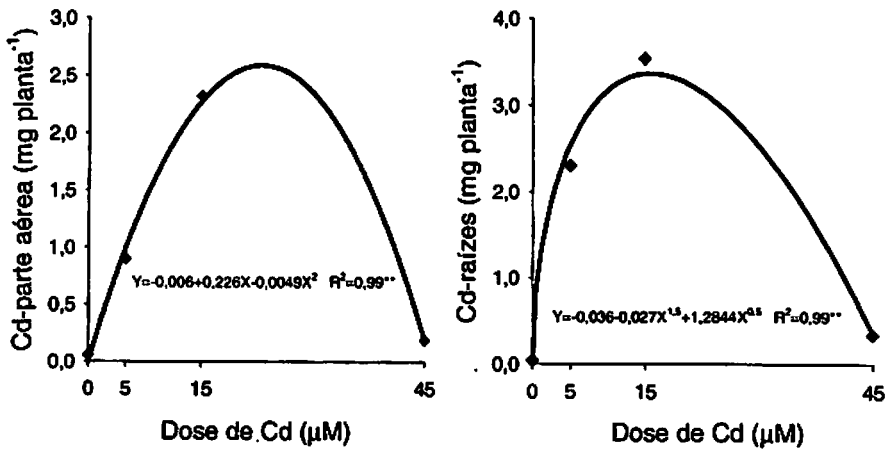


FIGURA 7 Acúmulo de Cd na parte aérea e raízes de mudas de *Trema micrantha* em resposta ao aumento de doses de Cd em solução nutritiva (** $p \leq 0,01$).

elemento na planta. Por meio da razão do acúmulo de Cd na parte aérea e raízes (PA/R) (Tabela 2), percebe-se houve elevada distribuição relativa deste elemento na parte aérea das plantas micorrizadas, o que confirma a elevada translocação de Cd nestas plantas. Enquanto isso, as plantas com maiores teores de P na parte aérea apresentaram baixos valores de razão de Cd, indicando que o aumento no suprimento de P para a trema favorece o acúmulo do Cd nas raízes, evitando a sua translocação para a parte aérea.

Os teores de P na matéria seca da parte aérea e raízes das plantas foram influenciados pelas doses de Cd e pelos pré-tratamentos de P e MA aplicados na formação das mudas (Tabela 9A). Apesar das respostas distintas encontradas, percebe-se que, de maneira geral, houve incrementos nos teores de P com o aumento das doses de Cd em solução. Isto pode estar relacionado com o efeito

de concentração, uma vez que houve decréscimo acentuado na produção de matéria seca das plantas (Figura 8).

TABELA 2 Razão dos acúmulos de Cd na parte aérea e raízes (PA/R) em mudas de *Trema micrantha* com diferentes "status" nutricionais de P após crescimento em solução nutritiva contendo doses de Cd.

Dose Cd (μM)	"Status" de P das plantas (g kg^{-1})/Tratamentos		
	2,1 (sem P)	3,0 (<i>G. etunicatum</i>)	4,1 (200 mg dm^{-3} P)
0	1,63 aB	5,60 aA	0,96 aB
5	0,74 aA	0,68 aA	0,38 aA
15	0,73 aA	2,97 aA	0,61 aA
45	0,44 aB	3,67 aA	0,53 aB

Letras minúsculas comparam doses dentro do mesmo "status" de P e letras maiúsculas comparam "status" de P dentro da mesma dose de Cd (Scott-Knott 5%).

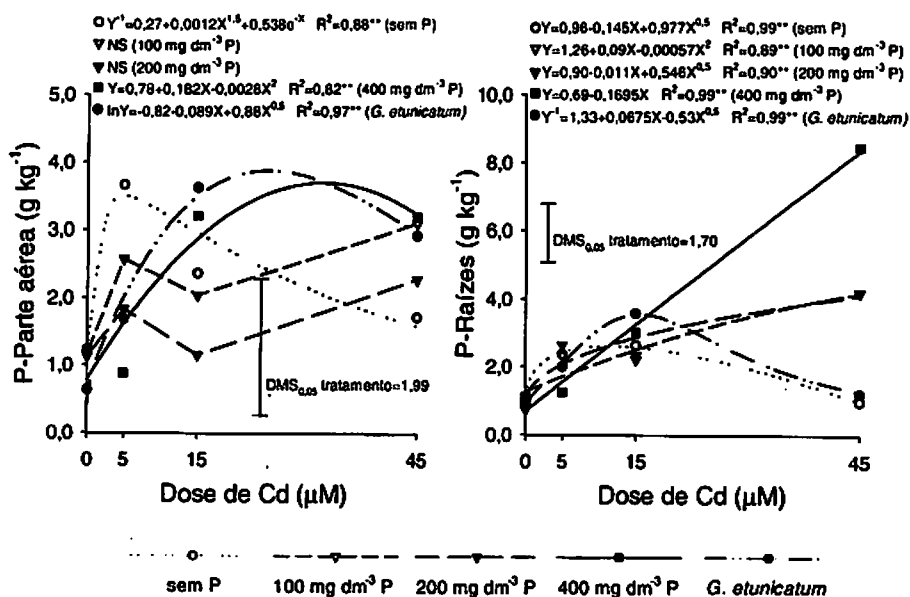


FIGURA 8 Teores de P na parte aérea e raízes de mudas de *Trema micrantha* em resposta ao aumento de doses de Cd em solução nutritiva e pré-tratamentos de P e inoculação com *G. etunicatum* (** p ≤ 0,01; NS – efeito não significativo)

5.2 Ensaio 2: efeito do P em solução nutritiva na toxicidade de Cd

Os sintomas de toxidez de Cd observados para a trema neste ensaio foram semelhantes àqueles descritos para o ensaio 1, tendo sido observada também a ocorrência de pigmentos avermelhados próximos às nervuras das folhas (Figura 9). Segundo Sanità di Toppi & Gabrielli (1999), isso pode ser devido ao acúmulo de compostos fenólicos nos tecidos foliares em decorrência da toxicidade de Cd para as plantas. Estes sintomas foram mais evidentes em baixa concentração de P (0,07 mM), enquanto que a adição de 1 e 2 mM de P na solução reduziu a severidade dos mesmos.

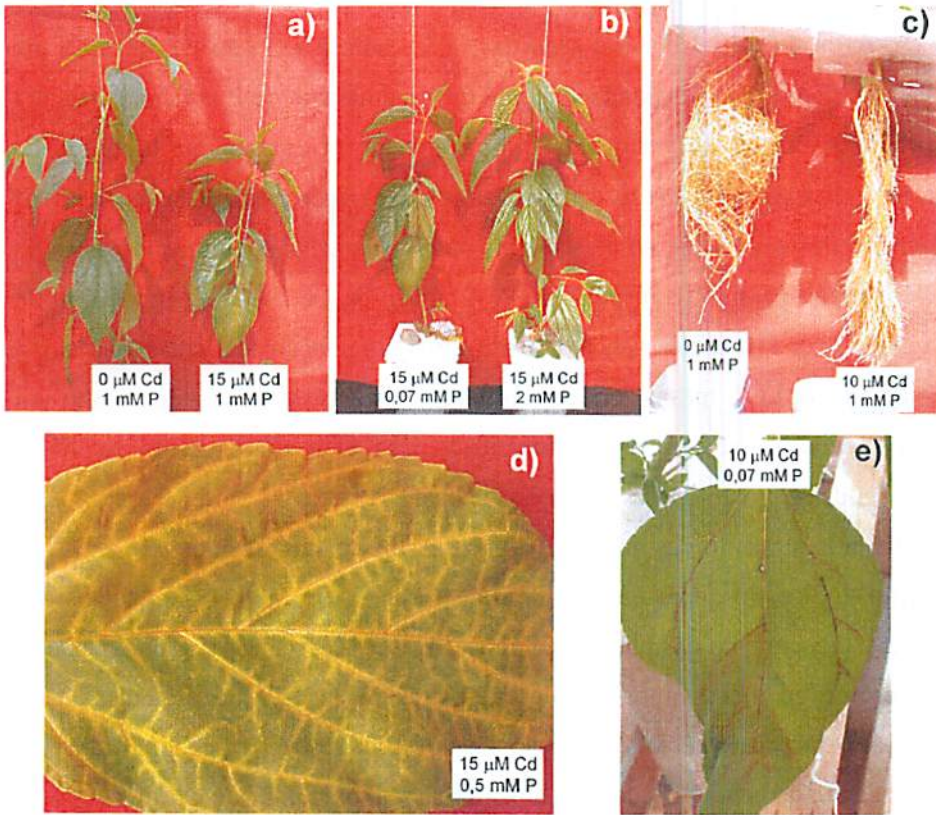


FIGURA 9 Sintomas de toxidez de Cd em mudas de *Trema micrantha* em solução nutritiva (ensaio 2). a) efeito do aumento da dose de Cd; b) efeito da aplicação de P em solução; c) inibição do crescimento das raízes; d) clorose foliar; e) pigmentos avermelhados próximos às nervuras.

Houve efeito significativo do aumento das doses de Cd e da aplicação de P em solução sobre a produção de matéria seca da parte aérea e raízes (Tabela 11A). A produção de matéria seca das raízes sofreu redução de até 49% em relação ao controle, independentemente dos tratamentos de P aplicados (Figura 10). O aumento do fornecimento de P promoveu incrementos na produção de matéria seca da parte aérea das plantas, evidenciando a resposta positiva da aplicação deste nutriente no crescimento das mesmas. No entanto, a presença do Cd em solução limitou a resposta ao P. A adição de 1 e 2 mM de P possibilitou maior produção de matéria seca da parte aérea em relação às plantas com baixo fornecimento de P, mesmo em concentrações tóxicas de Cd, evidenciando um efeito protetor desse elemento na toxicidade deste elemento para a trema. Além disso, pôde-se notar que a produção de matéria seca da parte aérea não foi afetada pelo aumento das doses de Cd quando foram adicionados 0,07 mM P à solução, indicando que a quantidade de P fornecida é muito baixa a ponto de limitar o crescimento das plantas. O aumento da concentração de P de 0,5 para 2 mM promoveu incrementos nas doses críticas de toxidez de Cd em solução (DCT_{50}) para a parte aérea de 5,1 para 11,9 μM Cd, respectivamente (Tabela 3), confirmando os benefícios do P na amenização da toxicidade de Cd.

Deve-se ressaltar que o aumento das doses de P (0,07 a 2 mM) não interfere na disponibilidade de Cd para as plantas, uma vez que a especiação da solução não demonstra a presença de formas que poderiam ser consideradas menos disponíveis para a absorção pelas raízes, como é o caso do CdHPO_4 (Tabela 4). A maior parte do Cd está complexado com EDTA (CdEDTA^{2-}), resultando em elevada disponibilidade deste elemento para as plantas, como já relatado em estudo desenvolvido por Greman et al. (2003). Assim, a possibilidade do P estar reduzindo a disponibilidade de Cd em solução, exercendo efeito amenizante da toxicidade do metal, pode ser descartada.

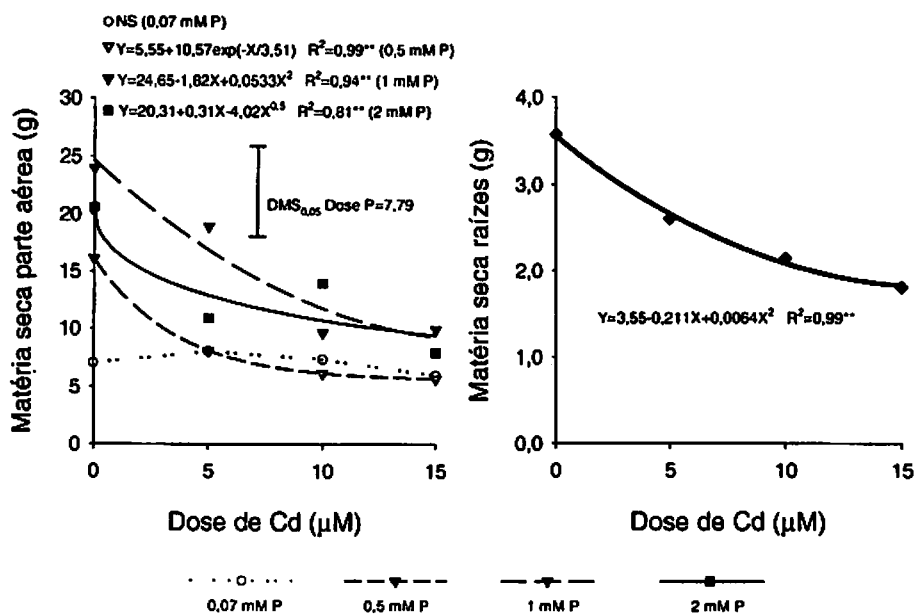


FIGURA 10 Matéria seca da parte aérea e raízes de mudas de *Trema micrantha* em resposta ao aumento de doses de Cd e aplicação de P em solução nutritiva (** $p \leq 0,01$; NS = efeito não significativo).

TABELA 3 Doses críticas de toxidez (DCT_{50})¹ de Cd na matéria seca da parte aérea de *Trema micrantha*, nas diferentes doses de P aplicadas em solução (ensaio 2).

	DCT ₅₀ parte aérea	
	-----µM-----	
0,07 mM P	n.e.	
0,5 mM P	5,1	
1,0 mM P	9,3	
2,0 mM P	11,9	

¹ Concent. de Cd em solução requerida para inibir em 50% o parâmetro de crescimento
 n.e. = não estimado devido ao efeito não significativo das doses de Cd

6 CONCLUSÕES

O aumento das doses de Cd em solução nutritiva causou severa inibição no crescimento e colonização micorrízica da *Trema micrantha*.

A melhoria da nutrição fosfática contribuiu para a amenização da toxidez de Cd para a trema. No entanto, a pré-inoculação com *G. etunicatum* não favoreceu o crescimento das plantas, devido à elevada inibição da colonização micorrízica.

A elevação na disponibilidade de P teve efeito amenizante na fitotoxidez de Cd para a trema somente em baixas concentrações deste metal em solução, sendo este relacionado com a redução dos teores do metal na parte aérea das plantas.

O aumento na concentração de P na solução não interferiu na disponibilidade de Cd para as plantas, não sendo, portanto, o mecanismo envolvido na redução da fitotoxidez deste elemento.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLOWAY, B. J. **Heavy metals in soils**. New York: John Wiley, 1993. 339 p.

ARDUINI, I.; GODBOLD, D. L.; ONNIS, A. Cadmium and copper uptake and in Mediterranean tree seedlings. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 97, n. 1, p. 111-117, May 1996.

BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, Ch. Respuestas de las plantas a la contaminación por metales pesados. **Suelo y Planta**, Madrid, v. 2, p. 345-361, 1992.

BERGMANN, W. **Nutritional disorders of plants – development, visual and analytical diagnosis**. New York: G. Fischer, 1992. 741 p.

BROWN, S. L.; CHANEY, R. L. , ANGLE, J. S.; BAKER, A. J. M. Zinc and cadmium uptake by hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* grown in nutrient solution. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 59, n. 1, p. 125-133, Jan./Feb. 1995.

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 micorrízicos arbusculares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 11, p. 1443-1452, nov. 2001.

CHRISTIE, P.; LI, X.; CHEN, B. Arbuscular mycorrhiza can depress translocation of zinc to shoots of host plants in soils moderately polluted with zinc. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 261, n. 2/3, p. 209-217, 2004.

EI-KHERBAWY M.; ANGLE, J. S.; HEGGO, A.; GHANEY, R. L. Soil pH, rhizobia, and vesicular-arbuscular mycorrhizae inoculation effects on growth and heavy metal uptake of alfafa (*Medicago sativa* L.). **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 8, n. 1, p. 61-65, 1989.

GAUR, A.; ADHOLEYA, A. Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. **Current Science**, Bangalore, v. 86, n. 4, p. 528-534, Feb. 2004.

GILDON, A.; TINKER, P. B. Interactions of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and heavy metals in plants. I. The effects of heavy metals on the development of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *New Phytologist*, Cambridge, v. 95, n. 2, p. 247-261, 1983.

GUO, Y.; GEORGE, E.; MARSCHNER, H. Contribution of an arbuscular mycorrhizal fungus to the uptake of cadmium and nickel in bean and maize plants. *Plant and Soil*, Dordrecht, v. 184, n. 2, p. 195-205, 1996.

HART, J. J.; WELCH, R. M.; NORVELL, W. A.; SULLIVAN, L. A.; KOCHIAN, L. V. Characterization of cadmium binding, uptake, and translocation in intact seedlings of bread and durum wheat cultivars. *Plant Physiology*, Rockville, v. 116, n. 4, p. 1413-1420, Apr. 1998.

GRAZZIOTTI, P. H. Comportamento de fungos ectomicorrízicos, *Acacia mangium* e espécies de *Pinus* e *Eucalyptus* em solo contaminado por metais pesados. 1999. 177 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

GREMAN, H.; VODNIK, D.; VELIKONJA-BOLTA, S.; LESTAN, D. Ethylenediaminedissuccinate as a new chelate for environmentally safe enhanced lead phytoextraction. *Journal of Environmental Quality*, Madison, v. 32, n. 4, p. 500-506, 2003.

JONER, E. J.; BRIONES, R.; LEYVAL, C. Metal-binding capacity of arbuscular mycorrhizal mycelium. *Plant and Soil*, Dordrecht, v. 226, p. 227-234, 2000.

JONER, E. J.; LEYVAL, C. Uptake of ¹⁰⁹Cd by roots and hyphae of a *Glomus mosseae*/*Trifolium subterraneum* mycorrhiza from soil amended with high and low concentrations of cadmium. *New Phytologist*, Cambridge, v. 135, n. 2, p. 353-360, Feb. 1997.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. Trace elements in soils and plants. Boca Raton: CRC Press, 2001. 413 p.

KILLHAM, K.; FIRESTONE, M. K. Vesicular arbuscular mycorrhizal mediation of grass response to acidic and heavy metal depositions. *Plant and Soil*, Dordrecht, v. 72, n. 1, p. 39-48, 1983.

KLAUBERG FILHO, O. Ecologia e atividade de fungos micorrízicos arbusculares em solo poluído com metais pesados. 1999. 161 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

LEYVAL, C.; TURNAU, K.; HASELWANDTER, K. Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. *Mycorrhiza*, New York, v. 7, n. 3, p. 139-153, Sept. 1997.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. *Microbiologia e bioquímica do solo*. Lavras: UFLA, 2002. 625 p.

RIBEIRO FILHO, M. R.; CURI, N.; SIQUEIRA, J. O.; P Motta, P. E. F. Metais pesados em solos de rejeitos de indústria de processamento de zinco. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 23, n. 3, p. 453-464, jul./set. 1999.

SANITÀ di TOPPI, L.; GABBRIELLI, R. Response to cadmium in higher plants. *Environmental Experimental Botany*, Oxford, v. 41, n. 2, p. 105-130, Apr. 1999.

SHAW, A. J. *Heavy metal tolerance in plants: evolutionary aspects*. New York: CRc Press, 1989. 355 p.

SINGH, B. R.; STEINNES, E. Soil and water contamination by heavy metal. In: LAL, R.; STEWART, B. A. (Ed.). *Soil process and water quality*. Boca Raton: Lewis Publishers, 1994. p. 233-271.

SIQUEIRA, J. O.; POUYÚ, 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 Solo*, Viçosa, v. 23, n. 11, p. 569-580, out./dez. 1999.

SOARES, C. R. F. S. *Toxidez de zinco, cobre, cádmio chumbo para eucalipto em solução nutritiva*. 1999. 132 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

WEISSEHORN, I.; LEYVAL, C. Root colonization of maize by a Cd-sensitive and a Cd-tolerant *Glomus mosseae* and cadmium uptake in sand culture. *Plant and Soil*, Dordrecht, v. 175, n. 2, p. 233-238, Aug. 1995.

WEISSEHORN, I.; LEYVAL, C.; BELGY, G.; BERTHELIN, J. Arbuscular mycorrhizal contribution to heavy metal uptake by maize (*Zea mays* L.) in pot culture with contaminated soil. *Mycorrhiza*, New York, v. 5, n. 4, p. 245-251, 1995.

WHITFIELD, L.; RICHARDS, A. J.; RIMMER, D. L. Relationships between soil heavy metal concentration and mycorrhizal colonisation in *Thymus polytrichus* in northern England. *Mycorrhiza*, New York, v. 14, n. 1, p. 55-62, 2004.

YANG, X.; BALIGAR, V. C.; MARTENS, D. C.; CLARK, R. B. Influx, transport, and accumulation of cadmium in plant species grown at different Cd^{2+} activities. *Journal Environmental Science Health*, New York, v. 30, n. 4, p. 569-583, 1995.

CAPÍTULO 4

FOSFATO E MICORRIZA ARBUSCULAR NO CRESCIMENTO DE *Brachiaria decumbens* Stapf EM SOLO CONTAMINADO POR METAIS PESADOS

1 RESUMO

SOARES, Cláudio Roberto Fonsêca Sousa. Fosfato e micorriza arbuscular no crescimento de *Brachiaria decumbens* Stapf em solo contaminado por metais pesados. 2004. Cap. 4, 36p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, MG.

O presente estudo foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras, no período de setembro a dezembro de 2003, para avaliar a influência do P e da presença de micorriza arbuscular no crescimento da *Brachiaria decumbens* em solo contaminado por metais pesados. O ensaio constou de um fatorial 4x3x2, sendo 4 misturas de solo contaminado com Cd, Pb, Cu e Zn (0%, 10%, 20% e 30% SC), 3 doses de P (25, 100 e 400 mg dm⁻³ P, fornecidos como superfosfato triplo) na ausência e presença de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em delineamento inteiramente casualizado com 5 repetições. Para a inoculação dos FMA, utilizou-se uma mistura de isolados fúngicos composta por *Acaulospora morrowaie*, *Gigaspora albida* e *Glomus clarum* originados de solo contaminado por metais pesados. Mudanças de *B. decumbens* foram produzidas e transplantadas para vasos de 1,5 dm³ contendo os tratamentos, onde permaneceram por um período de 50 dias. A elevação da contaminação promoveu acentuada inibição na colonização micorrízica da *B. decumbens*, ocorrendo decréscimos de até 70% e 95% na mistura com 30% de solo contaminado com 25 e 100 mg dm⁻³ P, respectivamente. O aumento no fornecimento de P de 25 para 400 mg dm⁻³ P e a inoculação com FMA contribuiu para o crescimento da *B. decumbens* em condições de baixa contaminação. O efeito benéfico destes tratamentos

* Comitê Orientador: José Oswaldo Siqueira – UFLA (orientador), Janice Guedes de Carvalho – UFLA, Fátima Maria de Souza Moreira – UFLA, Ângela Maria Soares – UFLA, Sidney Luiz Sturmer – FURB.

relacionou-se com a redução dos teores de metais pesados na parte aérea da *B. decumbens*. Em condições de baixa contaminação e com baixo P, as plantas não inoculadas apresentaram teores de Cd e Zn de 173 e 5.113 mg kg⁻¹, respectivamente, enquanto que nas micorrizadas estes teores foram reduzidos para 23 e 2.173 mg kg⁻¹, correspondendo a uma redução de mais de 85% e 50% nos teores de Cd e Zn na parte aérea da *B. decumbens*, respectivamente. A elevação da quantidade de P de 25 para 400 mg dm⁻³ P também reduziu em mais de 40% os teores de Cd e Zn na parte aérea da *B. decumbens*. No entanto, a micorrização não favoreceu a absorção de P pela *B. decumbens* no solo contaminado, não sendo este, portanto, o mecanismo envolvido na proteção das plantas micorrizadas em solo contaminado com metais pesados.

2 ABSTRACT

SOARES, Cláudio Roberto Fonsêca Sousa. Effect of phosphate and arbuscular mycorrhiza upon the growth of *Brachiaria decumbens* Stapf in a soil contaminated with heavy metals. Cap. 4, 36p. Thesis (Doctorate on Soil and Plant Nutrition) – Federal University of Lavras, MG, Brazil.*

This study evaluated the influence of P and arbuscular mycorrhiza upon the growth of *Brachiaria decumbens* in a soil contaminated with Cd, Cu, Pb and Zn. The experiment was conducted from September to December 2003 under greenhouse conditions at the Department of Soil Science of Federal University of Lavras and followed a randomly factorial 4x3x2 design, with 4 levels of contamination (0%, 10%, 20% and 30% of contaminated soil mixed with uncontaminated soil material), 3 doses of P applied as triple superphosphate (25, 100 and 400 mg P dm⁻³ soil) in the absence and the presence of vesicular-arbuscular mycorrhiza (VAM) fungi, with 5 replicates. The VAM inoculation was done with a mixture composed by *Acaulospora morrowaie*, *Gigaspora albida* and *Glomus clarum* fungi isolated from the contaminated soil. Seedlings of *B. decumbens* were produced and transplanted to 1.5 dm³ pots containing the treatments and the growing period extended for 50 days. Increasing contamination resulted in an accentuated inhibition of mycorrhizal colonization in *B. decumbens*, with up to 70% inhibition for the 30%-mixture of contaminated soil treated with 25 mg P dm⁻³ P and up to 95% inhibition for the 30%-mixture of contaminated soil treated with 100 mg P dm⁻³. Increasing P supply from 25 for 400 mg P dm⁻³ and the inoculation with VAM contributed for a better development of *B. decumbens* under low levels of soil contamination. The beneficial effect of these treatments was related to a decrease in heavy metals content in the shoots of *B. decumbens*. Under conditions of low soil contamination and low P supply, the non-inoculated plants presented 173 mg Cd kg⁻¹ and 5,113 mg Zn kg⁻¹. These plant contents decreased more than 85% for Cd (down to 23 mg Cd kg⁻¹) and more than 50% for Zn (down to 2,173 mg Zn kg⁻¹) upon inoculation of *B. decumbens* with VAM. Increasing the amount of P supply from 25 to 400 mg P dm⁻³ also reduced Cd and Zn by more than 40% in the shoots. Mycorrhizal colonization did not favor P absorption by *B. decumbens*

* Guidance Committee: José Oswaldo Siqueira – UFLA (Major Professor), Janice Guedes de Carvalho – UFLA, Fátima Maria de Souza Moreira – UFLA, Ângela Maria Soares – UFLA, Sidney Luiz Sturmer – FURB.

in contaminated soil and thus should not be considered a mechanism involved in the protection of inoculated plants growing in soils contaminated with heavy metals.

3 INTRODUÇÃO

Os metais pesados são amplamente distribuídos nos solos e rochas, aonde em sua grande maioria naturalmente ocorrem em baixas concentrações (Alloway, 1993). Maiores problemas com metais pesados são verificados em solos nos quais ocorrem atividades de mineração e a utilização indiscriminada de rejeitos industriais com altas concentrações destes elementos que, conseqüentemente, refletirão na qualidade ambiental (Singh & Steinnes, 1994). A contaminação do solo, cursos de água e lençóis freáticos por metais pesados é um sério problema ambiental que ainda necessita de uma efetiva solução tecnológica (Kabata-Pendias & Pendias, 2001). A revegetação de solos degradados pelo excesso desses metais é a solução mais barata de remediação dessas áreas (Accioly & Siqueira, 2001). Para se obter sucesso com esse processo é necessário conhecer a toxicidade dos contaminantes e os mecanismos envolvidos na proteção das plantas contra a esses elementos (Sanità di Toppi & Gabrielli, 1999).

A revegetação de áreas degradadas por metais pesados pode ser facilitada por meio da aplicação de amenizantes capazes de reduzir a fração biodisponível desses elementos no solo, favorecendo assim o crescimento vegetal (Ribeiro Filho, 2003). Dentre os diversos materiais inorgânicos empregados como amenizantes da contaminação, têm-se utilizado os fosfatos que, além de fornecer P às espécies vegetais, podem contribuir para a imobilização dos metais por precipitação (Ayati & Madsen, 2001). A maior parte dos trabalhos que tratam da participação do P na disponibilidade e toxidez de metais pesados para as plantas enfoca a amenização da contaminação por Pb (Hettiarachchi et al., 2000; Yang et al., 2001; Hettiarachchi & Pierzynski, 2002; Cao et al., 2003), pois os fosfatos de chumbo são as formas mais estáveis deste metal no solo (Kabata-Pendias & Pendias, 2001). O efeito da fosfatagem sobre a

disponibilidade de metais pesados também foi testado em ambientes multicontaminados, obtendo-se resultados promissores (Maenpaa et al., 2002; Paim et al., 2003). O fornecimento adequado de P às plantas pode aumentar a retenção de metais pesados nas raízes por meio da formação de compostos insolúveis capazes de restringir o transporte desses elementos para a parte aérea (Van Steveninck et al., 1994; Brown et al., 1995). Assim, a condição nutricional de P das plantas e interações metal-P podem alterar os padrões de absorção e translocação de metais pesados, influenciando a toxicidade destes elementos para as plantas.

As micorrizas arbusculares (MA) promovem o crescimento das plantas por meio de vários efeitos nutricionais e não-nutricionais importantes para o estabelecimento destas em condições de estresse ambiental (Siqueira & Saggin Júnior, 1995). Alguns estudos têm indicado que as plantas micorrizadas são menos afetadas pela toxicidade dos metais pesados no solo (Leyval et al., 1997), mas pouco se conhece a respeito dos mecanismos envolvidos nesta proteção (Gaur & Adholeya, 2004). Segundo Christie et al. (2004), a imobilização de metais no micélio fúngico constitui o provável mecanismo de proteção das micorrizas às plantas, reduzindo a transferência do metal para a parte aérea e, conseqüentemente, a fitotoxidez para a planta. Além disso, tem sido proposto que a associação micorrízica pode contribuir indiretamente na proteção das plantas devido ao aumento na absorção de P que normalmente ocorre em resposta à colonização das raízes por estes fungos (Moreira & Siqueira, 2002). Isso, entretanto, ainda não foi demonstrado experimentalmente e merece ser avaliado.

No presente estudo, avaliou-se a influência do P e da presença de micorriza arbuscular no crescimento da *Brachiaria decumbens* em solo contaminado por metais pesados.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras (UFLA), no período de setembro a dezembro de 2003. Amostras de um solo contaminado por metais pesados foram coletadas em área de rejeito da Companhia Mineira de Metais (CMM) no município de Três Marias, MG. A contaminação ocorre pela deposição de rejeitos de indústria de zinco, que são misturados ao solo por vários anos (Ribeiro Filho et al., 1999).

O estudo constou de um fatorial $4 \times 3 \times 2$ (4 misturas de solo contaminado, 3 doses de P, na ausência e presença de inoculação de fungos micorrízicos arbusculares) com cinco repetições, em delineamento inteiramente casualizado. O tratamento controle consistiu de um Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico típico (LVd) não contaminado, coletado na camada superficial (0-20 cm), no município de Itutinga, MG. Devido aos elevados teores de metais presentes no solo contaminado (teores totais em mg kg^{-1} de solo: Zn = 18.600; Cd = 135; Pb = 600 e Cu = 596, além de outros em menores teores), este foi misturado na proporção de 0%, 10%, 20% e 30% (v/v) com o LVd não contaminado (100%, 90%, 80% e 70% v/v, respectivamente). Estas misturas foram determinadas conforme estudo de Carneiro et al. (2001), que permitiram o crescimento de plantas herbáceas. Os solos foram secos ao ar e passados em peneira de malha de 4 mm de diâmetro para uniformização e, após estarem completamente misturados, foram fumigados com brometo de metila 98% + cloropicrina 2% (Bromex) na dose de $196 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-3}$ de solo, visando à eliminação de propágulos de fungos micorrízicos. Em seguida, amostras foram retiradas para análises químicas, cujos resultados encontram-se na Tabela 1.

Após o preparo das misturas com diferentes níveis de contaminação, foram adicionados os tratamentos de P correspondentes a doses de 25, 100 e 400

mg dm⁻³ P, por meio da aplicação de superfosfato triplo moído (41% P₂O₅). Em seguida, os solos contendo os tratamentos de P foram transferidos para vasos com capacidade de 1,5 dm³ e incubados por 15 dias com a umidade mantida em 60% do volume total de poros (VTP).

TABELA 1 Características químicas das diferentes misturas de solo contaminado por metais pesados (SC) utilizadas para o crescimento de *B. decumbens*.

SC	pH _{H2O}	V(%) ¹	SB ²	CTC ₍₀₎ ³	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	P-Mehl	P-resina	Teor de metais (Mehlich-1)			
										Zn	Cu	Cd	Pb
-----cmol _c dm ⁻³ -----					-----mg dm ⁻³ -----								
0%	5,1	44	2,8	2,9	2,2	0,4	72	1,7	4,6	5,6	4,5	0,4	1,6
10%	5,5	51	3,4	3,5	2,2	1,0	74	5,2	9,5	1275	207	14	53
20%	5,7	51	3,1	3,2	1,9	1,0	67	8,2	15	1935	427	26	78
30%	5,8	56	3,7	3,8	2,0	1,5	69	12,4	26,4	3188	601	48	127

¹ Índice de Saturação de Bases

² Soma de Bases Trocáveis

³ Capacidade de Troca Catiônica Efetiva

Sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf foram tratadas com H₂SO₄ concentrado durante 1 minuto e, em seguida, lavadas em água corrente de modo a eliminar microrganismos contaminantes e facilitar a germinação. Em seguida, as sementes foram colocadas para germinar em bandejas plásticas contendo vermiculita. Após emergência do segundo par de folhas, realizou-se o transplante de 5 plântulas por vaso contendo as misturas de solo, tratamento de P e inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Para a inoculação dos FMA, utilizaram-se 50 cm³ de solo-inóculo contendo mistura de isolados fúngicos obtidos de vasos de cultivo da coleção deste laboratório, a qual apresentou, em média, 11, 3 e 2 esporos mL⁻¹ de solo de *Acaulospora morrowaie*, *Gigaspora albida* e *Glomus clarum*, respectivamente. Para a contagem, os esporos foram extraídos pela técnica de peneiramento úmido (Gerdemann & Nicolson, 1963) e contados em microscópio estereoscópio. Os isolados são originados de solo contaminado por metais pesados (Klauber Filho, 1999) e mantidos em vasos de cultivo com *B. decumbens* há mais de 4 anos. Em cada vaso, o solo-inóculo foi homogeneizado com 50 cm³ da mistura de solo de modo a obter uma camada superficial infestada com propágulos de FMA. Os tratamentos sem inoculação receberam 50 mL de um filtrado do solo-inóculo ausente de propágulos de FMA, visando equilibrar a microbiota destes tratamentos.

As plantas foram mantidas nos vasos, em casa de vegetação, por um período de 50 dias, sendo que aos 15, 20 e 25 dias após o transplante, estas receberam solução nutritiva contendo 40 mg dm⁻³ N [(NH₄)₂SO₄] e 25 mg dm⁻³ K (KCl). Após 50 dias de exposição das plantas aos tratamentos, realizou-se o corte da parte aérea das mesmas rente ao solo e colocadas em estufa de circulação de ar forçada, sob temperatura de 60°C para posterior determinação da matéria seca. As raízes foram separadas do solo, lavadas e uma amostra de 1g de raízes frescas foi coletada para avaliação da colonização micorrízica. Estas

raízes foram clarificadas e coloridas com azul de tripan (Koske & Gemma, 1989) e colocadas em placa de petri para avaliação do percentual do comprimento de raiz colonizada pelo método das intersecções em placas reticuladas (Giovannetti & Mosse, 1980), enquanto que o restante das raízes destinou-se à determinação da matéria seca. Em seguida, as amostras das plantas foram moídas em moinho tipo Wiley equipado com peneira com malha de 0,38 mm para digestão nítrico-perclórica e posterior análise das concentrações de Zn, Cu, Cd e Pb nos tecidos por espectrofotometria de absorção atômica e de P, por colorimetria por meio do método fosfo-molibdato (Malavolta et al., 1989). As quantidades acumuladas dos metais na parte aérea e raízes das plantas foram calculadas com base nas concentrações e produção de matéria seca.

Amostras representativas de solo foram coletadas dos vasos e secas ao ar para a realização de análises químicas, determinando-se o pH em água (1:2,5) e os teores de P por Mehlich-1 e resina. Além destes, determinou-se a disponibilidade de Cd, Pb, Cu e Zn, por meio de extrações simples na relação solo:extrator de 1:10 com Mehlich-1 (Mehlich, 1953) e com BaCl_2 0,1 mol L^{-1} (Mann & Ritchie, 1993). Os metais foram quantificados por espectrofotometria de absorção atômica, enquanto que o P foi quantificado por colorimetria.

Os resultados foram submetidos à análise de variância por meio do programa estatístico SISVAR (Ferreira 2000). Os dados de percentual de colonização foram normalizados pela transformação arco seno raiz (% colonização/100). As equações de regressão foram determinadas pelo programa Table Curve 2D for Windows v. 5.01 (SYSTAT Software Inc.).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Características químicas do solo

As características químicas do solo após a aplicação de P e crescimento das plantas encontram-se na Tabela 2. Verifica-se que houve aumentos nos teores de Zn, Cu, Cd e Pb no solo, com a elevação da contaminação. Os teores de Zn e Cd extraídos pelo BaCl_2 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ nas misturas de solo contaminado foram superiores a 382 e 11 mg dm^{-3} , respectivamente, os quais são superiores aos níveis permitidos pela Comunidade Econômica Européia para estes elementos, que são de 150 mg dm^{-3} para o Zn e de 3 mg dm^{-3} para o Cd (teores totais) (Chander & Brookes, 1991), enquanto que Cu e Pb apresentam baixos teores no solo extraíveis pelo BaCl_2 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Segundo Mann & Ritchie (1993), a extração por BaCl_2 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ deve extrair os teores solúvel e trocável dos metais no solo, o que pode explicar os valores inferiores desses elementos em relação à extração por Mehlich-1. Segundo Ribeiro Filho et al. (1999), Cu e Pb encontram-se principalmente na forma residual neste solo e, portanto, com baixo potencial fitotóxico para as plantas, em comparação ao Zn e Cd que se encontram na forma trocável.

Apesar da conhecida reação ácida do P no solo (Tisdale et al., 1993), verifica-se que o aumento das doses desse elemento, via aplicação de superfosfato triplo, não causou muita variação dos valores de pH nas diferentes misturas de solo contaminado, encontrando-se valores médios de 5,5. A baixa influência do P sobre o pH do solo neste estudo pode ser devido às baixas doses de P aplicadas, diferentemente do que foi observado por Ribeiro Filho (2003), que relatou decréscimo acentuado do pH em solo contaminado após aplicação de elevadas doses de superfosfato triplo. Por meio das determinações de P por

TABELA 2 Características químicas das misturas de solo contaminado após aplicação das doses de P e crescimento de *B. decumbens*.

PSC	Dose P	pH	P Meh.-1	P-res.	Ca ²⁺	Mehlich-1				BaCl ₂			
						Zn	Cu	Cd	Pb	Zn	Cu	Cd	Pb
	mg dm ⁻³		mg dm ⁻³		cmol _c dm ⁻³	mg dm ⁻³				mg dm ⁻³			
0%	25	5,5	1,5	8,9	1,9	13 a	4,8 a	0,3 a	1,5 a	2,5 a	0,1 a	0,4 a	0,8 a
	100	5,2	4,5	24	1,9	7,1 a	4,2 a	0,3 a	1,0 a	1,3 a	0,1 a	0,2 a	0,8 a
	400	5,3	48	120	3,0	5,4 a	3,7 a	0,2 a	1,0 a	0,7 a	0,1 a	0,2 a	1,0 a
10%	25	5,3	3,6	15	2,1	1459 a	147 a	15 a	37 a	424 a	0,8 a	12 a	2,0 a
	100	5,4	10	33	2,5	1677 a	139 a	16 a	40 a	413 a	0,9 a	12 a	1,8 a
	400	5,4	76	147	3,4	1878 a	149 a	16 a	38 a	382 a	0,8 a	11 a	1,7 a
20%	25	5,5	5,7	22	2,5	3032 a	269 a	24 a	83 a	635 a	0,9 a	19 a	2,2 a
	100	5,5	20	42	2,7	3391 a	296 a	28 a	92 a	641 a	1,2 a	17 a	2,9 a
	400	5,6	90	149	3,4	3392 a	272 a	27 a	78 a	593 a	1,3 a	19 a	2,6 a
30%	25	5,5	9,1	23	2,5	5264 a	429 a	43 a	262 a	754 a	1,3 a	26 a	2,7 a
	100	5,7	21	55	2,9	4938 a	460 a	45 a	254 a	776 a	1,2 a	27 a	3,0 a
	400	5,8	104	149	3,6	3966 b	455 a	45 a	220 a	766 a	1,2 a	26 a	3,2 a

Letras minúsculas comparam médias dentro da mesma PSC (Tukey a 5%)

Mehlich-1 e resina percebe-se que o aumento das doses de P possibilitou teores diferenciados deste nutriente em todas as misturas de solo contaminado. Entretanto, não houve influência deste aumento do P sobre os teores dos metais extraíveis no solo pelo BaCl_2 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, indicando que este fator não interferiu na disponibilidade dos metais no solo.

5.2 Colonização micorrízica e crescimento da *B. decumbens*

A elevação da contaminação nas misturas de solo e os tratamentos de P tiveram efeitos diferenciados sobre a colonização micorrízica da *B. decumbens* (Figura 1). O aumento da contaminação promoveu acentuada inibição desta, ocorrendo decréscimos de 70% e 95% nos tratamentos com 25 e 100 mg dm^{-3} P, respectivamente, na mistura com 30% de solo contaminado. Portanto, ficou evidenciado o efeito tóxico dos metais na colonização micorrízica, fato já documentado em outros estudos com gramíneas (Klauberger Filho, 1999; Carneiro et al., 2001). O excesso de metais pesados pode estar inibindo ou retardando a germinação dos esporos de FMA e o crescimento do tubo germinativo (Klauberger Filho, 1999) e, assim, afetando a colonização radicular (Tommerup, 1983).

No tratamento com alto P (400 mg dm^{-3}) notou-se que a colonização micorrízica da *B. decumbens* em solo não contaminado foi de apenas 7%, o que pode estar relacionado com a condição de elevada disponibilidade de P que sabidamente inibe a colonização (Moreira & Siqueira, 2002). Além desse efeito, percebe-se que nas misturas com elevada contaminação, houve também reduzida taxa de colonização da *B. decumbens*. Fica evidente um comportamento diferenciado da colonização da *B. decumbens* em função do nível de contaminação e das doses de P na mistura de solo e isso envolve mecanismos distintos de inibição.

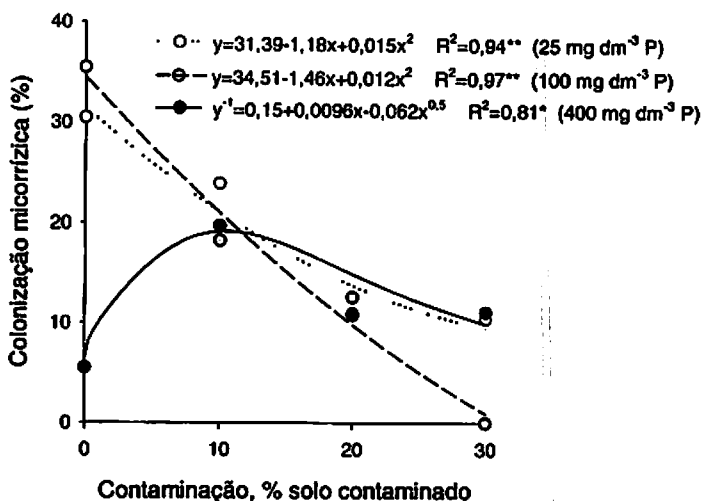


FIGURA 1 Efeito da contaminação do solo por metais pesados e das doses de P sobre a colonização micorrízica de plantas de *B. decumbens* inoculadas com FMA.

Aos 10 dias após o transplante das mudas para as misturas de solo contaminado, já foram observados sintomas de toxidez, os quais evoluíram de clorose ao aparecimento de manchas roxas nas bordas das folhas em condições de baixa contaminação. Já nos níveis mais altos de contaminação, os sintomas de toxidez foram mais severos, observando-se clorose seguida de necrose total da folha, causando a morte das plantas nas situações de maior toxidez. Uma visão geral do efeito dos tratamentos selecionados pode ser obtida observando-se a Figura 2. A elevação da contaminação causou elevada inibição no crescimento da *B. decumbens* nos diferentes tratamentos aplicados (Figura 2a), tendo o aumento das doses de P e a inoculação com FMA favorecido o crescimento das plantas em mistura contendo 10% de solo contaminado (Figuras 2b e 2c), o qual já apresenta elevados teores de metais, principalmente Zn e Cd (Tabela 2).

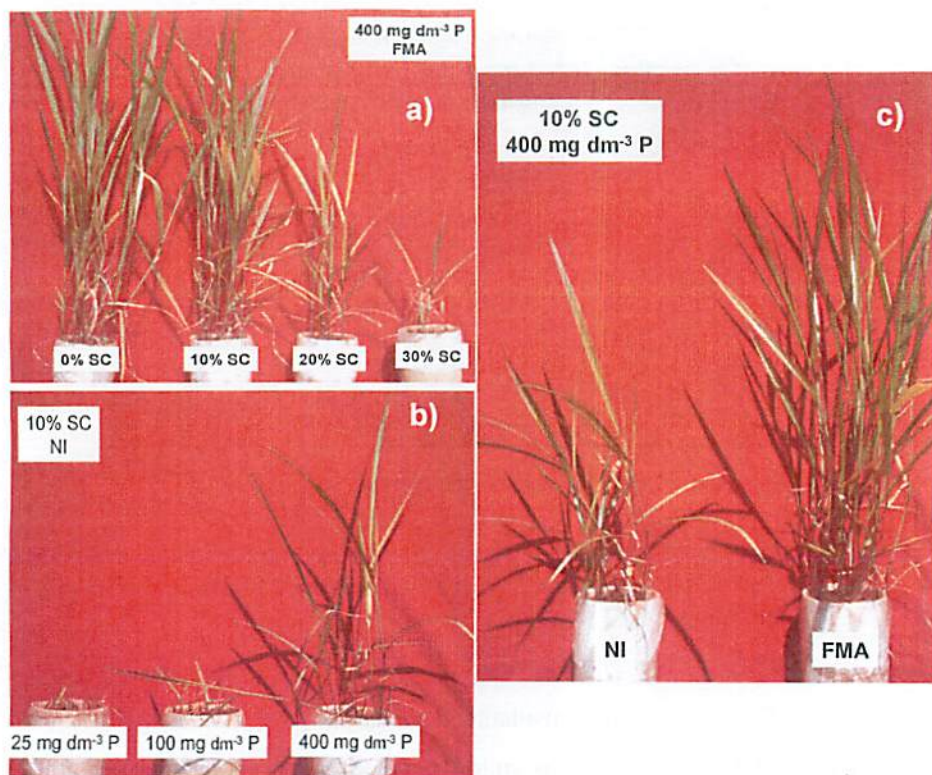



FIGURA 2 Aspectos do crescimento da *B. decumbens* aos 50 dias de cultivos em misturas de solo contaminado por metais pesados, aplicação de P e inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMA). a) efeito do aumento da proporção de solo contaminado; b) efeito do aumento das doses de P; c) efeito da inoculação com FMA.



A contaminação do solo causou severa redução na produção de matéria seca da parte aérea e raízes das plantas, sendo este efeito diferenciado para os tratamentos (Figura 3, Tabelas 14A e 15A). No solo não contaminado e com baixo P, a inoculação com FMA possibilitou maior produção de matéria seca da parte aérea e raízes. Além disso, pôde-se notar que o aumento no fornecimento de P também contribuiu para o crescimento desta espécie na ausência de contaminação, evidenciando os benefícios destes tratamentos para o crescimento da *B. decumbens*. Na mistura com 10% de solo contaminado, a aplicação de 400 mg dm⁻³ P aumentou em 20 vezes a produção de matéria seca da parte aérea, em comparação ao tratamento com baixo P (25 mg dm⁻³ P). A inoculação com FMA também promoveu benefícios ao crescimento das plantas sob baixa contaminação e alto fornecimento de P, uma vez que a produção de matéria seca da parte aérea aumentou de 2,6 g nas plantas sem FMA para até 7,8 g nas plantas inoculadas, correspondendo a um aumento de 3 vezes. O efeito benéfico do aumento de P e da inoculação foi semelhante para a produção de raízes, confirmando a ação amenizante destes tratamentos para a *B. decumbens* em solo com excesso de metais pesados, o que pode contribuir para o estabelecimento desta espécie em áreas degradadas por estes elementos.

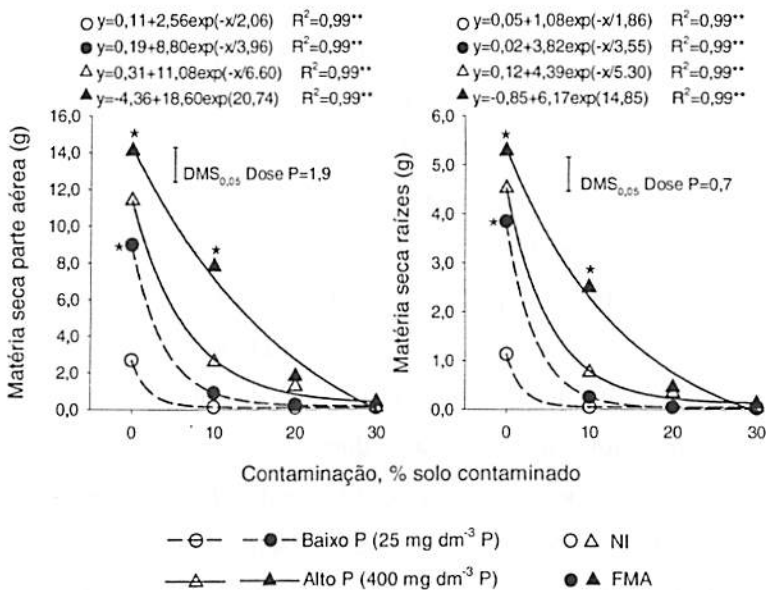


FIGURA 3 Efeito da contaminação do solo por metais pesados, doses de P e inoculação com FMA sobre a produção de matéria seca da parte aérea e raízes de *B. decumbens*. * = efeito significativo da inoculação (teste F).

5.3 Metais pesados e P na planta

A elevação da contaminação resultou em aumento acentuado dos teores de Zn e Cd na matéria seca da parte aérea e raízes de *B. decumbens*, sendo verificado também que houve efeito significativo de P e inoculação sobre estas variáveis (Figura 4). Apesar de ter sido constatada inibição da colonização micorrízica na *B. decumbens* (Figura 1), verifica-se que a inoculação reduziu significativamente os teores de Zn na parte aérea das plantas nas diferentes misturas de solo contaminado, sendo este efeito mais pronunciado em baixo P (25 mg dm⁻³ P). Na mistura com 10% de solo contaminado, as plantas não

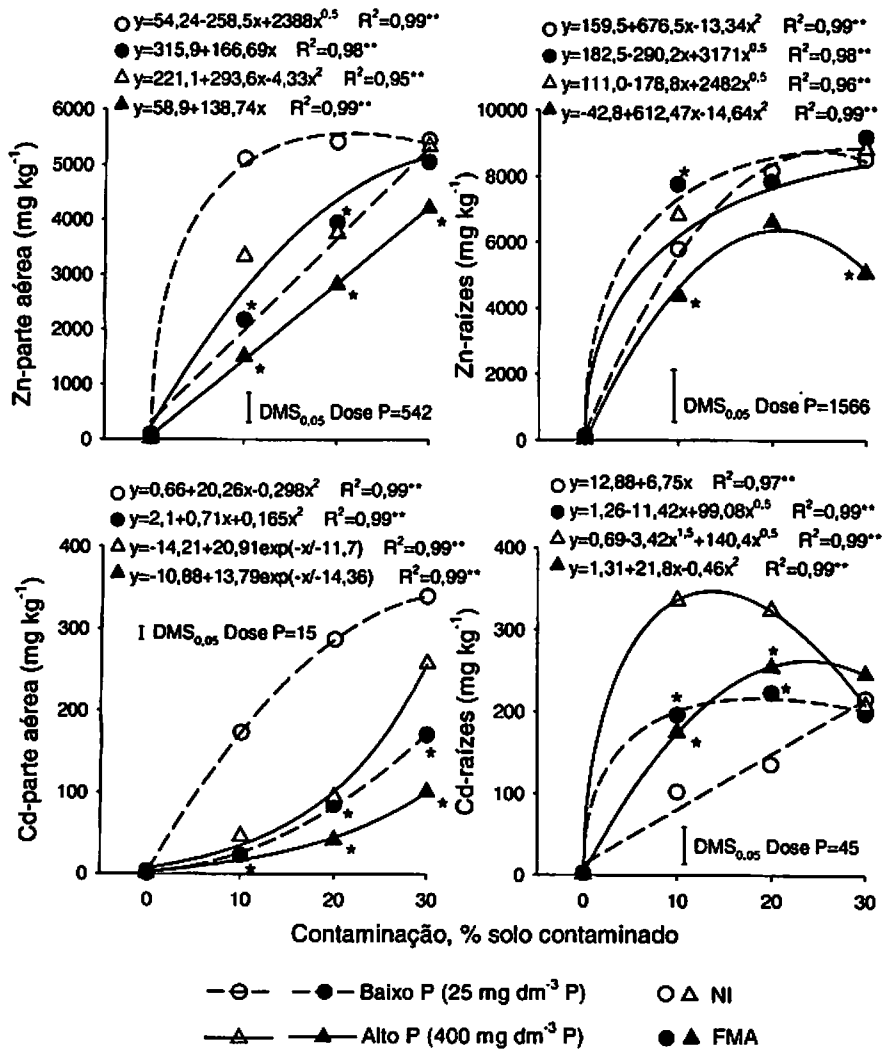


FIGURA 4 Efeito da contaminação do solo por metais pesados, doses de P e inoculação com FMA sobre os teores de Zn e Cd na matéria seca da parte aérea e raízes de *B. decumbens*. * = efeito significativo da inoculação (teste F).

inoculadas apresentaram teor de Zn de 5.113 mg kg⁻¹, enquanto que nas plantas micorrizadas o teor foi de 2.173 mg kg⁻¹, correspondendo a uma redução de mais de 50% nos teores desse elemento na matéria seca da parte aérea da *B. decumbens*. A elevação na quantidade de P de 25 para 400 mg dm⁻³ P reduziu os teores médios de Zn de 5.113 para 3.334 mg kg⁻¹, respectivamente (Tabela 16A), o que corresponde a um decréscimo de aproximadamente 40% nos teores deste metal na parte aérea. Os teores de Zn encontrados na parte aérea da *B. decumbens* foram muito elevados quando comparados ao nível crítico de toxidez encontrado para *Hordeum vulgare* L., que é de 290 mg kg⁻¹ (Davis et al., 1978) ou àqueles considerados tóxicos para várias espécies que variam entre 100 e 400 mg kg⁻¹ (Kabata-Pendias & Pendias, 2001). Em relação às raízes, nota-se que a elevação da contaminação promoveu acentuado incremento nos teores de Zn na matéria seca, sendo estes também influenciados pelos fatores estudados. No maior nível de contaminação, a inoculação combinada com alta dose de P reduziu os teores de Zn na matéria seca das raízes de 8.824 para 5.082 mg kg⁻¹ (Figura 4, Tabela 17A), indicando que estes fatores reduziram a absorção de Zn pelas plantas à quase a metade, o que é muito vantajoso como mecanismo protetor do crescimento da planta nestas condições de excesso desse metal.

Assim como observado para o Zn, os teores de Cd na matéria seca da parte aérea foram influenciados pelas doses de P e inoculação com FMA (Figura 4, Tabela 18A). Considerando a mistura de 10% de solo contaminado, verifica-se que as plantas não inoculadas apresentaram teores de Cd de 173 e 46 mg kg⁻¹ no solo com 25 e 400 mg dm⁻³ P, respectivamente. Enquanto isso, nestes mesmos tratamentos, as plantas micorrizadas apresentaram teores de Cd de apenas 23 e 21 mg kg⁻¹, resultados que evidenciam os benefícios da micorriza na redução dos teores deste elemento na planta. Nas raízes verifica-se que, de maneira geral, a aplicação de alto P em solo contaminado ocasionou aumentos nos teores de Cd, indicando favorecimento na absorção deste elemento. O efeito

da inoculação de FMA sobre os teores de Cd nas raízes foi condicionado pelas doses de P aplicadas, tendo a inoculação promovido elevação nos teores de Cd em baixo P e reduzido o teor do metal em alto P (Tabela 19A). Portanto, a elevação deste fator contribuiu para a redução da absorção de Cd.

Efeitos semelhantes ao Zn foram observados para os teores de Cu na parte aérea e raízes da *B. decumbens* (Figura 5 e Tabela 20A). Por meio dos modelos de respostas ajustados, verifica-se que o teor máximo de Cu na matéria seca da parte aérea das plantas não inoculadas foi de 109 mg kg⁻¹, enquanto que, nas plantas com FMA, este atingiu apenas 45 mg kg⁻¹. Além das micorrizas, o aumento das doses de P também contribuiu para a redução dos teores de Cu na parte aérea, sendo este efeito mais pronunciado nas plantas não inoculadas, nas quais foram encontrados teores de 101 e 27 mg kg⁻¹ para os tratamentos de baixo e alto P, respectivamente, na mistura com 20% de solo contaminado. Esses valores encontram-se na faixa considerada tóxica para o crescimento de várias espécies, que se situa entre 20 e 100 mg kg⁻¹ (Kabata-Pendias & Pendias, 2001). Apesar de ter sido verificada inibição da colonização micorrízica na mistura com 30% de solo contaminado (Figura 1), notou-se que a inoculação reduziu os teores de Cu na matéria seca das raízes (Figura 5 e Tabela 21A), confirmando o efeito benéfico da micorrização na redução da absorção de Cu pelas plantas.

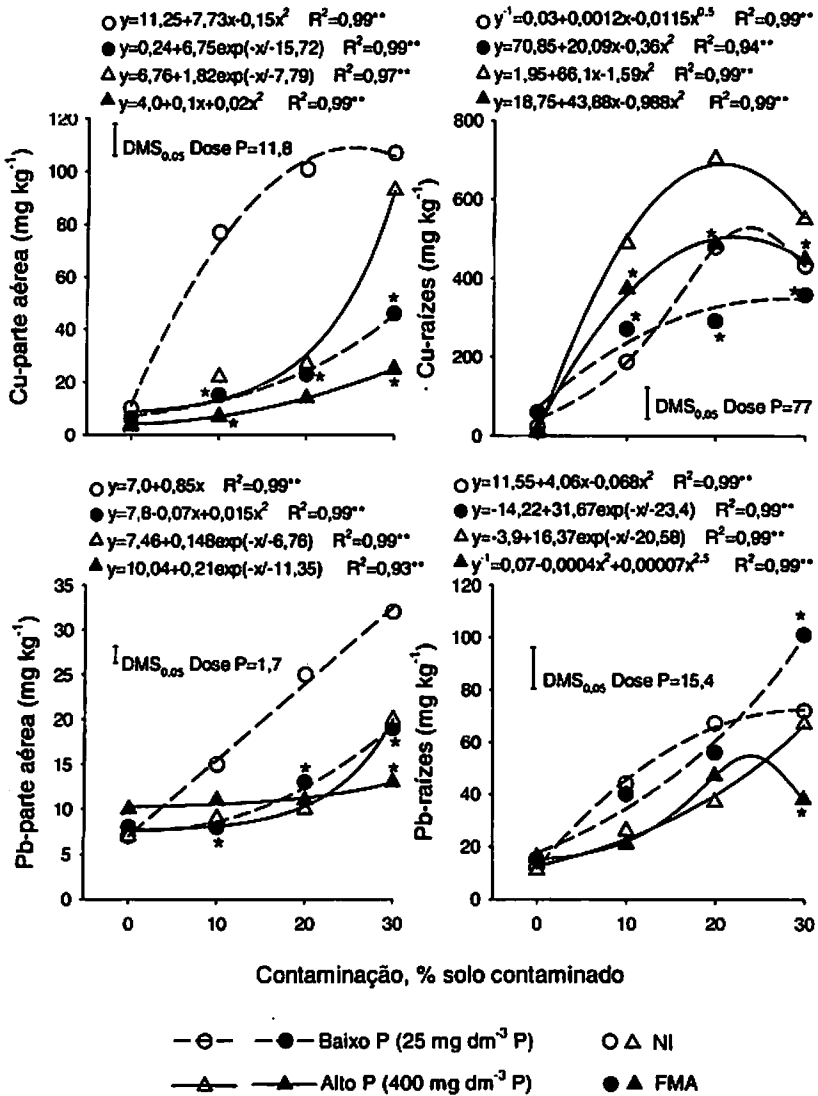


FIGURA 5 Efeito da contaminação do solo por metais pesados, doses de P e inoculação com FMA sobre os teores de Cu e Pb na matéria seca da parte aérea e raízes de *B. decumbens*. * = efeito significativo da inoculação (teste F).

Os teores de Pb na matéria seca da parte aérea da *B. decumbens* foram muito baixos, sendo, na maioria das vezes, inferior à faixa considerada tóxica para o crescimento de várias espécies, que é de 30 a 300 mg kg⁻¹ (Kabata-Pendias & Pendias, 2001). Isso indica que este elemento teve pouca ou nenhuma influência no crescimento da *B. decumbens*. Ainda assim, nota-se que o aumento da contaminação elevou os teores de Pb na *B. decumbens* (Tabelas 22A e 23A) e que estes foram influenciados pelos fatores estudados (Figura 5). Assim como observado para os demais metais, a elevação das doses de P e a micorrização também reduziu os teores de Pb na parte aérea das plantas nas diferentes misturas de solo contaminado.

Devido ao elevado potencial fitotóxico de Zn e Cd para a *B. decumbens*, considerou-se importante avaliar também os efeitos dos fatores estudados sobre os acúmulos destes elementos na planta (Tabelas 3 e 4). Em alguns casos, verifica-se que não houve influência da contaminação sobre o acúmulo de Zn e Cd na planta. Isto se deve a comportamentos distintos observados para a produção de massa e teores dos metais nas plantas nas diferentes misturas de solo. No solo sem contaminação, os acúmulos de Zn e Cd foram favorecidos pela produção de matéria seca, enquanto que no solo contaminado o acúmulo desses elementos foi favorecido pelos elevados teores na planta. Na mistura com 10% de solo contaminado, o acúmulo de Zn na parte aérea das plantas não inoculadas aumentou de 685 para 8.210 µg vaso⁻¹ com 25 e 400 mg dm⁻³ P no solo, respectivamente, enquanto que nas plantas com FMA estes foram de 1.879 e 11.564 µg vaso⁻¹ (Tabela 3). O acúmulo de Cd também foi influenciado pelos fatores estudados, principalmente na mistura com 10% de solo contaminado e com alto P, tendo sido verificado acúmulo na parte aérea de 111,5 e 162,4 µg vaso⁻¹ nas plantas não inoculadas e com FMA, respectivamente (Tabela 4). Estes resultados indicam que o aumento da disponibilidade de P e a inoculação

aumentaram o acúmulo dos metais devido ao favorecimento na produção de matéria seca em solo com baixa contaminação.

TABELA 3 Influência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) no acúmulo de Zn na matéria seca da parte aérea e raízes de *B. decumbens* em misturas de solo contaminado com metais pesados (PSC) e doses crescentes de P.

PSC	P adicionado ao solo (mg dm ⁻³)					
	25		100		400	
	NI	FMA	NI	FMA	NI	FMA
-----Acúmulo Zn – Parte Aérea (µg vaso ⁻¹)-----						
0%	111 aA	778 aA	163 aA	133 bA	214 cA	276 cA
10%	685 aB	1879 aB	781 aB	3179 aB*	8210 aA	11564 aA*
20%	596 aB	1090 aB	1025 aB	1245 abB	3954 bA	4755 bA
30%	589 aA	870 aA	652 aA	722 abA	705 cA	1826 cA
-----Acúmulo Zn – Raízes (µg vaso ⁻¹)-----						
0%	111 aA	474 abA	130 aA	186 bA	141 cA	185 cA
10%	289 aB	1830 aB*	460 aB	2336 aB*	4234 aA	10559 aA*
20%	359 aB	345 bB	444 aB	472 bB	1923 bA	2470 bA
30%	443 aA	220 bA	374 aA	152 bA	406 cA	600 cA

Letras minúsculas (efeito da PSC), teste Tukey (5%)

Letras maiúsculas (efeito das doses P), teste Tukey (5%)

* efeito da inoculação

TABELA 4 Influência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) no acúmulo de Cd na matéria seca da parte aérea e raízes de *B. decumbens* em misturas de solo contaminado com metais pesados (PSC) e doses crescentes de P.

PSC	P adicionado ao solo (mg dm ⁻³)					
	25		100		400	
	NI	FMA	NI	FMA	NI	FMA
-----Acúmulo Cd – Parte Aérea (µg vaso ⁻¹)-----						
0%	2,03 aA	26,1 aA	3,7 aA	7,3 aA	7,2 bA	10,4 cA
10%	23,2 aB	19,7 aB	27,5 aB	35,8 aB	111,5 aA	162,4 aA*
20%	31,5 aB	23,0 aB	32,1 aB	17,5 aB	88,9 aA	72,8 bA
30%	36,7 aA	29,4 aA	27,7 aA	25,5 aA	34,1 bA	43,6 bcA
-----Acúmulo Cd – Raízes (µg vaso ⁻¹)-----						
0%	2,7 aA	6,7 aA	3,3 aA	4,0 aA	3,6 cA	5,0 bA
10%	5,1 aB	47,4 aB	11,6 aB	80,5 aB	295,7 aA	409,0 aA*
20%	6,0 aB	9,8 aA	13,7 aB	17,2 aA	128,6 bA	123,0 bA
30%	11,2 aA	4,8 aA	11,3 aA	3,6 aA	9,6 bcA	29,0 bA

Letras minúsculas (efeito da PSC), teste Tukey (5%)

Letras maiúsculas (efeito das doses P), teste Tukey (5%)

* efeito da inoculação

A razão do acúmulo relativo de Zn e Cd entre a parte aérea e raízes (PA/R) também foi influenciada pelos fatores estudados, como exemplificados para a mistura de 10% de solo contaminado (Figura 6). A razão para o Zn nas plantas não inoculadas foi, em média, de 2,04 enquanto que, nas plantas micorrizadas, a razão foi de 1,20, indicando que as micorrizas reduzem proporcionalmente a distribuição relativa do Zn na *B. decumbens*, favorecendo o acúmulo do Zn absorvido nas raízes e evitando sua translocação para a parte aérea. Além disso, nota-se que as plantas não inoculadas apresentaram razão de Cd de até 4,55 a qual é muito superior ao encontrado para Zn, evidenciando a

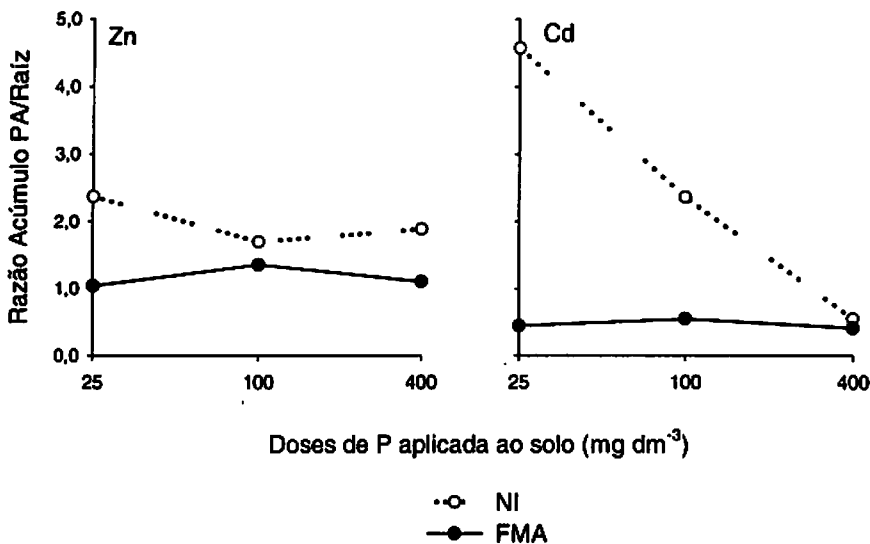


FIGURA 6 Efeito das doses de P e inoculação com FMA sobre a razão do acúmulo de Zn e Cd na parte aérea e raízes (PA/R) de *B. decumbens* em mistura com 10% de solo contaminado.

elevada translocação do Cd absorvido, podendo ser esta a causa da elevada inibição do crescimento da *B. decumbens* em solo contaminado. Apesar disso, nota-se que a razão de Cd reduziu para apenas 0,38 em alto P, podendo ser este um dos mecanismos de amenização da fitotoxidez do Cd neste solo. Portanto, o aumento no fornecimento de P pode aumentar a retenção de Cd nas raízes da *B. decumbens*. De fato, Brown et al. (1995) comentam que a formação de compostos de Cd-P de baixa solubilidade pode atenuar o transporte desse metal para a parte aérea.

A regulação da absorção de metais pesados da rizosfera, o acúmulo no tecido radicular, preservando sua integridade e funções vitais, e a baixa translocação para a parte aérea, são considerados os possíveis mecanismos pelos quais as raízes podem contribuir para a tolerância das plantas ao excesso de

metais pesados no solo (Barceló & Poschenrieder, 1992). A razão de Cd nas plantas micorrizadas não foi influenciada pelas doses de P e apresentou valor médio de 0,47, enquanto que a razão média de Cd foi de 2,5 nas plantas não inoculadas. Estes resultados indicam que as micorrizas reduzem proporcionalmente a distribuição relativa de Cd na parte aérea da *B. decumbens*. Em estudo com ^{109}Cd , Joner & Leyval (1997) verificaram que plantas de *Trifolium subterraneum* inoculadas com *G. mosseae* apresentaram menor translocação de Cd em comparação àquelas não inoculadas, sendo a imobilização deste elemento no micélio fúngico um provável mecanismo de proteção das micorrizas às plantas em condições de excesso de metais (Joner et al., 2000). Isto reduziria a transferência desses elementos para a parte aérea e, conseqüentemente, a toxicidade destes para a planta (Barceló & Poschenrieder, 1992).

Também se acredita que as micorrizas possam contribuir para a tolerância das plantas ao excesso de metais, devido à maior aquisição e translocação de nutrientes com difusão limitada, como é o caso do P (Shetty et al., 1994; Diaz et al., 1996). No entanto, no presente estudo, verifica-se que a inoculação com FMA aumentou os teores de P nas plantas apenas no solo não contaminado e com baixo P (Figura 7, Tabela 24A), não se verificando este efeito nas misturas de solo contaminado. O acentuado efeito inibitório dos metais na colonização micorrízica pode ser a explicação para a ausência de efeito da micorriza nos teores de P na planta em condições de elevada contaminação. Portanto, estes dados indicam que o efeito da micorrização na absorção de P pela *B. decumbens* em solo com elevada contaminação parece não ser um mecanismo pelo qual esta simbiose protege a planta do excesso de metais no solo.

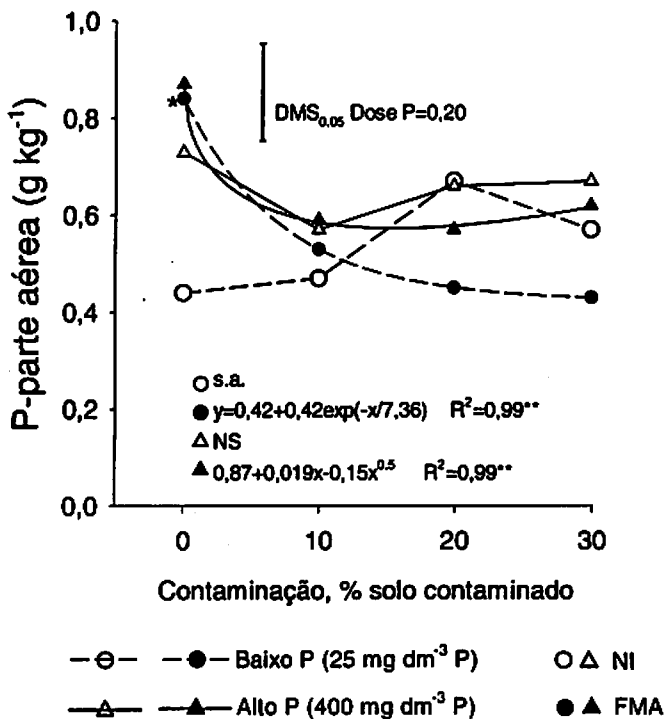


FIGURA 7 Efeito da contaminação do solo por metais pesados, doses de P e inoculação com FMA sobre os teores de P na matéria seca da parte aérea de *B. decumbens*. * = efeito significativo da inoculação (teste F); NS = não significativo; s.a. = sem ajuste polinomial.

6 CONCLUSÕES

A colonização micorrízica e o crescimento da *B. decumbens* foram inibidos pela contaminação do solo com quantidades excessivas de metais pesados, principalmente Cd e Zn.

A aplicação de superfosfato e a inoculação de fungos micorrízicos arbusculares contribuíram para o crescimento da *B. decumbens* em condições de excesso de metais, sendo este efeito relacionado com a redução dos teores de Cd, Pb, Cu e Zn na parte aérea da planta.

Como conseqüência da menor translocação, as plantas de *B. decumbens* micorrizadas apresentaram, proporcionalmente, menores quantidades de Cd e Zn na parte aérea.

Em condições de baixa contaminação, o P também reduziu o acúmulo relativo de Cd na parte aérea da *B. decumbens*.

A aplicação de superfosfato e a inoculação com fungos micorrízicos arbusculares podem facilitar a revegetação de solos contaminados por Cd, Pb, Cu e Zn.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A contaminação do solo por metais pesados acarreta sérias conseqüências para os componentes funcionais dos ecossistemas, representando um sério risco à qualidade de vida. Atualmente, a legislação ambiental de vários países do mundo, incluindo o Brasil, exige que as áreas degradadas pela contaminação por estes elementos devam ser recuperadas. Quando se pretende estabelecer procedimentos para a remediação destas áreas, devem-se concentrar esforços nos vários aspectos de solo, planta e organismos, os quais são componentes essenciais para a recuperação funcional do solo e a estabilização dos ecossistemas. Dessa forma, para se obter sucesso em programas de revegetação de áreas degradadas por metais pesados, torna-se necessário o conhecimento da toxicidade dos contaminantes para as espécies vegetais e os mecanismos de tolerância envolvidos.

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da nutrição fosfática e da presença de micorriza arbuscular na toxicidade de metais pesados para a *Trema micrantha* e *Brachiaria decumbens*, que são espécies promissoras para a revegetação de áreas degradadas por estes elementos. Os resultados revelaram que o aumento na disponibilidade de P reduziu a toxicidade de Zn e Cd para as espécies estudadas e isto foi relacionado com a redução nos teores destes elementos na planta. É possível que o aumento no fornecimento de P possibilite a formação de compostos de baixa solubilidade que são capazes de atenuar o transporte dos metais para a parte aérea. No entanto, há necessidade de estudos adicionais para a identificação e caracterização destes compostos, de forma a compreender melhor a participação da nutrição fosfática na amenização da toxicidade dos metais pesados para as plantas.

Apesar do acentuado efeito inibitório da contaminação do solo sobre a colonização micorrízica, verificou-se que a inoculação com fungos micorrízicos

contribuiu para o crescimento da *B. decumbens* e reduziu proporcionalmente a distribuição relativa dos metais na parte aérea das plantas. Entretanto, este efeito da micorrização não foi relacionado com o aumento da absorção de P pela *B. decumbens*, indicando a provável existência de outros mecanismos envolvidos na proteção das plantas micorrizadas ao excesso de metais e, por isso, precisam ser avaliados futuramente.

TOMMERUP, I. C. Spore dormancy in vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **Transactions of the British Mycological Society, London**, v. 81, p. 381-387, 1983.

VAN STEVENINCK, R. F. M.; BABARE, A.; FERNANDO, D. R.; VAN STEVENINCK, M. E. The binding of zinc, but not cadmium, by phytic acid in roots of crop plants. **Plant and Soil, Dordrecht**, v. 167, n. 1, p. 157-164, Nov. 1994.

WHITFIELD, L.; RICHARDS, A. J.; RIMMER, D. L. Relationships between soil heavy metal concentration and mycorrhizal colonisation in *Thymus polytrichus* in northern England. **Mycorrhiza, New York**, v. 14, n. 1, p. 55-62, 2004

YANG, J.; MOSBY, D. E.; CASTEEL, S. W.; BLANCHAR, R. W. Lead immobilization using phosphoric acid in a smelter-contaminated urban soil. **Environmental Science & Technology, Washington**, v. 35, n. 17, p. 3553-3559, Sept. 2001.

ANEXOS

ANEXO A		Página
TABELA 1A	Fontes, solução estoque e composição final das soluções nutritivas utilizadas para o crescimento de <i>T. micrantha</i> em diferentes concentrações de P em solução.....	123
TABELA 2A	Resumo da ANAVA para a produção de matéria seca da parte aérea e raízes de <i>Trema micrantha</i> considerando-se os pré-tratamentos de P e MA e as doses de Zn em solução (ensaio 1).....	124
TABELA 3A	Resumo da ANAVA para os teores e acúmulos de Zn e P na matéria seca da parte aérea e raízes de <i>Trema micrantha</i> considerando-se os tratamentos prévios de P e MA e as doses de Zn (ensaio 1).....	125
TABELA 4A	Médias para teores de nutrientes e metais na matéria seca da parte aérea de <i>Trema micrantha</i> em solução nutritiva contendo doses de Zn e sob efeito dos pré-tratamentos de P e inoculação com <i>G. etunicatum</i> (ensaio 1).....	126
TABELA 5A	Resumo da ANAVA para a produção de matéria seca da parte aérea e raízes de <i>Trema micrantha</i> considerando-se a aplicação de P e as doses de Zn em solução (ensaio 2).....	127
TABELA 6A	Resumo da ANAVA para os teores e acúmulos de Zn e P na matéria seca da parte aérea e raízes de <i>Trema micrantha</i> considerando-se a aplicação de P e as doses de Zn em solução (ensaio 2).....	128
TABELA 7A	Médias para teores de nutrientes e metais na matéria seca da parte aérea de <i>Trema micrantha</i> em solução nutritiva contendo doses de Zn e P (ensaio 2).....	129

TABELA 8A	Resumo da ANAVA para a produção de matéria seca da parte aérea e raízes de <i>Trema micrantha</i> considerando-se os pré-tratamentos de P e MA e as doses de Cd em solução (ensaio 1).....	130
TABELA 9A	Resumo da ANAVA para os teores e acúmulos de Cd e P na matéria seca da parte aérea e raízes de <i>Trema micrantha</i> considerando-se os tratamentos prévios de P e MA e as doses de Cd em solução (ensaio 1).....	131
TABELA 10A	Médias para teores de nutrientes e metais na matéria seca da parte aérea de <i>Trema micrantha</i> em solução nutritiva contendo doses de Cd e sob efeito dos pré-tratamentos de P e inoculação com <i>G. etunicatum</i> (ensaio 1).....	132
TABELA 11A	Resumo da ANAVA para a produção de matéria seca da parte aérea e raízes de <i>Trema micrantha</i> considerando-se a aplicação de P e as doses de Cd em solução (ensaio 2).....	134
TABELA 12A	Resumo da ANAVA para os teores e acúmulos de Cd e P na matéria seca da parte aérea e raízes de <i>Trema micrantha</i> considerando-se a aplicação de P e as doses de Cd em solução (ensaio 2).....	135
TABELA 13A	Médias para teores de nutrientes e metais na matéria seca da parte aérea de <i>Trema micrantha</i> em solução nutritiva contendo doses de Cd e P (ensaio 2).....	136
TABELA 14A	Influência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) na produção de matéria seca da parte aérea de <i>B. decumbens</i> em misturas de solo contaminado com metais pesados (PSC) e doses crescentes de P.....	138
TABELA 15A	Influência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) na produção de matéria seca das raízes de <i>B. decumbens</i> em misturas de solo contaminado com metais pesados (PSC) e doses crescentes P...	138

TABELA 16A	Influência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) nos teores de Zn na matéria seca da parte aérea de <i>B. decumbens</i> em misturas de solo contaminado com metais pesados (PSC) e doses crescentes de P.....	139
TABELA 17A	Influência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) nos teores de Zn na matéria seca das raízes de <i>B. decumbens</i> em misturas de solo contaminado com metais pesados (PSC) e doses crescentes de P.....	139
TABELA 18A	Influência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) nos teores de Cd na matéria seca da parte aérea de <i>B. decumbens</i> em misturas de solo contaminado com metais pesados (PSC) e doses crescentes de P.....	140
TABELA 19A	Influência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) nos teores de Cd na matéria seca das raízes de <i>B. decumbens</i> em misturas de solo contaminado com metais pesados (PSC) e doses crescentes de P.....	140
TABELA 20A	Influência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) nos teores de Cu na matéria seca da parte aérea de <i>B. decumbens</i> em misturas de solo contaminado com metais pesados (PSC) e doses crescentes de P.....	141
TABELA 21A	Influência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) nos teores de Cu na matéria seca das raízes de <i>B. decumbens</i> em misturas de solo contaminado com metais pesados (PSC) e doses crescentes de P.....	141
TABELA 22A	Influência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) nos teores de Pb na matéria seca da parte aérea de <i>B. decumbens</i> em misturas de solo contaminado com metais pesados (PSC) e doses crescentes de P.....	142

TABELA 23A	Influência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) nos teores de Pb na matéria seca das raízes de <i>B. decumbens</i> em misturas de solo contaminado com metais pesados (PSC) e doses crescentes de P.....	142
TABELA 24A	Influência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) nos teores de P na matéria seca da parte aérea de <i>B. decumbens</i> em misturas de solo contaminado com metais pesados (PSC) e doses crescentes de P.....	143

TABELA 1A Fontes, solução estoque e composição final das soluções nutritivas utilizadas para o crescimento de *T. micrantha* em diferentes concentrações de P em solução.

Fonte/Solução Estoque	Tratamentos (concentração P solução – mM)			
	0,07	0,5	1,0	2,0
	mL solução estoque/L solução			
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O 1M	2,53	2,53	2,53	2,53
KNO ₃ 1M	1,30	1,05	0,80	0,30
KCl 1M	0,50	0,50	0,50	0,50
NH ₄ NO ₃ 1M	0,90	0,90	0,90	0,90
MgSO ₄ · 7H ₂ O 1M	0,60	0,60	0,60	0,60
Ca(H ₂ PO ₄) ₂ · H ₂ O 23 mM	1,50	---	---	---
KH ₂ PO ₄ 1M	---	0,25	0,50	1,0
NH ₄ H ₂ PO ₄ 1M	---	0,25	0,50	1,0
MnCl ₂ · 4H ₂ O 7 mM				
H ₃ BO ₃ 19 mM				
ZnSO ₄ · 7H ₂ O 2 mM	1,00	1,00	1,00	1,00
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ · 4H ₂ O 0,086 mM				
CuSO ₄ · 5H ₂ O 0,5 mM				
FeCl ₃ 38 mM + EDTA	1,00	1,00	1,00	1,00

TABELA 2A Resumo da ANAVA para a produção de matéria seca da parte aérea e raízes de *Trema micrantha* considerando-se os pré-tratamentos de P e MA e as doses de Zn em solução (ensaio I).

Variáveis	G.L.	Valor F	P ≤
Matéria seca (parte aérea)			
Dose de Zn (Zn)	3	42,7	0,01
Tratamentos (T)	4	0,47	ns
Zn x T	12	0,55	ns
C.V. = 26,39%			
Matéria seca (raízes)			
Dose de Zn (Zn)	3	38,5	0,01
Tratamentos (T)	4	0,52	ns
Zn x T	12	0,38	ns
C.V. = 39,29%			

ns = efeito não significativo

TABELA 3A Resumo da ANAVA para os teores e acúmulos de Zn e P na matéria seca da parte aérea e raízes de *Trema micrantha* considerando-se os tratamentos prévios de P e MA e as doses de Zn (ensaio 1).

Variáveis	G.L.	Valor F	P ≤
Teor Zn (parte aérea)			
Dose de Zn (Zn)	3	378,3	0,01
Tratamentos (T)	4	0,31	ns
Zn x T	12	0,68	ns
C.V. = 13,59%			
Teor Zn (raízes)			
Dose de Zn (Zn)	3	308,8	0,01
Tratamentos (T)	4	6,4	0,01
Zn x T	12	4,5	0,01
C.V. = 16,48%			
Acúmulo Zn (parte aérea)			
Dose de Zn (Zn)	3	49,0	0,01
Tratamentos (T)	4	0,60	ns
Zn x T	12	0,87	ns
C.V. = 38,34%			
Acúmulo Zn (raízes)			
Dose de Zn (Zn)	3	35,2	0,01
Tratamentos (T)	4	0,3	ns
Zn x T	12	0,6	ns
C.V. = 49,76%			
Teor P (parte aérea)			
Dose de Zn (Zn)	3	41,3	0,01
Tratamentos (T)	4	2,3	ns
Zn x T	12	0,8	ns
C.V. = 21,61%			
Teor P (raízes)			
Dose de Zn (Zn)	3	174,9	0,01
Tratamentos (T)	4	4,9	0,01
Zn x T	12	8,3	0,01
C.V. = 19,28%			

ns = efeito não significativo

TABELA 4A Médias para teores de nutrientes e metais na matéria seca da parte aérea de *Trema micrantha* em solução nutritiva contendo doses de Zn e sob efeito dos pré-tratamentos de P e inoculação com *G. etunicatum* (ensaio 1).

	Doses de Zn (μM)				ANOVA
	2	75	150	225	
Zn \bar{X} (mg kg^{-1})	45,8	384,9	672,6	722,3	**
Fe \bar{X} (mg kg^{-1})	80,9	76,8	92,6	90,6	ns
Mn \bar{X} (mg kg^{-1})	89,4	89,5	85,4	66,8	**
Cu \bar{X} (mg kg^{-1})	4,3	4,6	4,8	5,8	ns
Ca \bar{X} (g kg^{-1})	24,7	23,3	26,3	21,8	**
Mg \bar{X} (g kg^{-1})	0,55	0,49	0,61	0,55	ns
P \bar{X} (g kg^{-1})	1,0	1,1	1,5	2,2	**
S \bar{X} (g kg^{-1})	0,9	1,1	1,2	1,8	**
K (g kg^{-1})					
Sem P	11,8 a	18,3 a	15,4 a	11,8 a	**
100 mg dm^{-3}	13,0 a	16,0 ab	17,6 a	13,2 a	ns
200 mg dm^{-3}	15,2 a	13,0 ab	14,4 a	15,0 a	ns
400 mg dm^{-3}	15,2 a	10,6 b	13,6 a	16,4 a	ns
<i>G. etunicatum</i>	17,0 a	12,4 ab	15,0 a	18,0 a	ns

\bar{X} = valores médios dos tratamentos; ** efeito significativo para dose de Zn
 Letras minúsculas: comparação entre tratamentos (Tukey 5%).

TABELA 5A Resumo da ANAVA para a produção de matéria seca da parte aérea e raízes de *Trema micrantha* considerando-se a aplicação de P e as doses de Zn em solução (ensaio 2).

Variáveis	G.L.	Valor F	P ≤
Matéria seca (parte aérea)			
Dose de Zn (Zn)	3	19,87	0,01
Aplicação de P (P)	3	17,98	0,01
Zn x P	9	1,58	ns
C.V. = 27,47%			
Matéria seca (raízes)			
Dose de Zn (Zn)	3	31,14	0,01
Aplicação de P (P)	3	5,97	0,01
Zn x P	9	0,89	ns
C.V. = 34,32%			

ns = efeito não significativo

TABELA 6A Resumo da ANAVA para os teores e acúmulos de Zn e P na matéria seca da parte aérea e raízes de *Trema micrantha* considerando-se a aplicação de P e as doses de Zn em solução (ensaio 2).

Variáveis	G.L.	Valor F	P ≤
Teor Zn (parte aérea)			
Dose de Zn (Zn)	3	49,73	0,01
Aplicação de P (P)	3	4,27	0,05
Zn x P	9	1,59	ns
C.V. = 37,07%			
Teor Zn (raízes)			
Dose de Zn (Zn)	3	13,72	0,01
Aplicação de P (P)	3	1,45	ns
Zn x P	9	0,81	ns
C.V. = 68,33%			
Acúmulo Zn (parte aérea)			
Dose de Zn (Zn)	3	27,66	0,01
Aplicação de P (P)	3	7,26	0,01
Zn x P	9	1,72	ns
C.V. = 51,56%			
Acúmulo Zn (raízes)			
Dose de Zn (Zn)	3	3,27	0,05
Aplicação de P (P)	3	2,00	ns
Zn x P	9	0,31	ns
C.V. = 95,24%			
Teor P (parte aérea)			
Dose de Zn (Zn)	3	10,63	0,01
Aplicação de P (P)	3	37,69	0,01
Zn x P	9	3,43	0,01
C.V. = 21,53%			
Teor P (raízes)			
Dose de Zn (Zn)	3	5,04	0,01
Aplicação de P (P)	3	33,72	0,01
Zn x P	9	0,73	ns
C.V. = 27,31%			

ns = efeito não significativo

TABELA 7A Médias para teores de nutrientes e metais na matéria seca da parte aérea de *Trema micrantha* em solução nutritiva contendo doses de Zn e P (ensaio 2).

	Doses de Zn (μM)				ANOVA
	2	75	150	225	
Zn (mg kg^{-1})					
0,07 mM P	62,8 a	581,3 a	935,8 ab	559,5 ab	**
0,5 mM P	47,9 a	329,8 a	1134,0 a	698,3 ab	**
1 mM P	63,1 a	226,0 a	693,0 b	333,0 b	**
2 mM P	48,6 a	351,3 a	971,3 ab	825,0 a	**
Fe \bar{X} (mg kg^{-1})	256,8	213,2	154,5	78,4	**
Mn (mg kg^{-1})					
0,07 mM P	218,2 a	173,6 a	136,4 c	67,1 b	**
0,5 mM P	198,4 a	253,6 a	266,4 a	167,0 a	**
1 mM P	218,8 a	256,3 a	174,1 bc	119,5 ab	**
2 mM P	211,9 a	241,8 a	253,4 ab	141,5 ab	**
Cu \bar{X} (mg kg^{-1})	10,7	9,3	9,0	5,5	**
Ca \bar{X} (g kg^{-1})	20,0	19,7	18,7	9,9	**
Mg \bar{X} (g kg^{-1})	1,3	1,3	1,2	0,7	**
P (g kg^{-1})					
0,07 mM P	1,3 c	1,6 b	2,0 b	1,8 a	ns
0,5 mM P	4,2 b	4,9 a	5,3 a	2,7 a	**
1 mM P	6,0 a	4,7 a	3,7 ab	2,7 a	**
2 mM P	5,9 ab	5,0 a	5,4 a	3,3 a	**
S \bar{X} (g kg^{-1})	2,0	2,1	2,3	1,7	**
K \bar{X} (g kg^{-1})	18,0	19,9	20,0	17,8	ns

\bar{X} = valores médios dos tratamentos; ** efeito significativo para dose de Zn
 Letras minúsculas: comparação entre tratamentos (Tukey 5%).

TABELA 10A Médias para teores de nutrientes e metais na matéria seca da parte aérea de *Trema micrantha* em solução nutritiva contendo doses de Cd e sob efeito dos pré-tratamentos de P e inoculação com *G. etunicatum* (ensaio 1).

	Doses de Cd (μM)				ANOVA
	0	5	15	45	
Cd (mg kg^{-1})					
Sem P	5 a	401 a	856 abc	497 bc	**
100 mg dm^{-3}	4 a	295 a	675 bc	1009 a	**
200 mg dm^{-3}	4 a	247 a	601 c	378 c	**
400 mg dm^{-3}	3 a	146 a	1155 a	767 ab	**
<i>G. etunicatum</i>	16 a	231 a	999 ab	893 a	**
Zn (mg kg^{-1})					
Sem P	48 a	65 a	76 ab	50 c	ns
100 mg dm^{-3}	45 a	70 a	64 ab	36 c	ns
200 mg dm^{-3}	45 a	51 a	44 b	50 c	ns
400 mg dm^{-3}	43 a	41 a	88 a	158 a	**
<i>G. etunicatum</i>	44 a	74 a	91 a	92 b	**
Fe (mg kg^{-1})					
Sem P	128 a	121 a	136 ab	173 c	**
100 mg dm^{-3}	90 ab	135 a	122 ab	248 b	**
200 mg dm^{-3}	80 ab	115 a	112 b	511 a	**
400 mg dm^{-3}	94 ab	112 a	162 a	236 b	**
<i>G. etunicatum</i>	78 b	118 a	121 ab	138 c	**
Mn (mg kg^{-1})					
Sem P	117 a	120 b	152 a	92 a	ns
100 mg dm^{-3}	115 a	123 b	133 a	59 a	ns
200 mg dm^{-3}	84 a	85 b	106 a	62 a	ns
400 mg dm^{-3}	93 a	149 ab	120 a	66 a	**
<i>G. etunicatum</i>	149 a	207 a	142 a	58 a	**
Cu \bar{X} (mg kg^{-1})					
	4,1	6,0	8,2	4,3	**
Ca \bar{X} (g kg^{-1})					
	23	31	30	17	**
Mg (g kg^{-1})					
Sem P	0,5 a	0,8 a	1,4 a	2,0 a	**
100 mg dm^{-3}	0,4 a	0,8 a	1,1 ab	1,3 b	**
200 mg dm^{-3}	0,5 a	0,8 a	0,7 b	1,6 ab	**
400 mg dm^{-3}	0,5 a	0,6 a	1,4 a	1,5 ab	**
<i>G. etunicatum</i>	0,3 a	1,0 a	1,3 a	1,2 b	**

Continua...

...continuação

P (g kg ⁻¹)					
Sem P	1,2 a	3,7 a	2,4 ab	1,7 a	**
100 mg dm ⁻³	1,2 a	2,6 ab	2,0 ab	3,1 a	ns
200 mg dm ⁻³	1,1 a	1,8 ab	1,2 b	2,3 a	ns
400 mg dm ⁻³	1,2 a	0,9 b	3,2 a	3,2 a	**
<i>G. etunicatum</i>	0,6 a	1,7 ab	3,6 a	2,9 a	**
S (g kg ⁻¹)					
Sem P	1,0 a	3,0 a	4,6 ab	2,0 a	**
100 mg dm ⁻³	0,9 a	2,4 a	3,1 b	2,3 a	**
200 mg dm ⁻³	0,8 a	2,3 a	3,1 b	1,7 a	**
400 mg dm ⁻³	0,8 a	2,2 a	5,0 a	2,3 a	**
<i>G. etunicatum</i>	1,6 a	3,6 a	4,4 ab	2,9 a	**
K \bar{X} (g kg ⁻¹)	13	23	27	17	**

\bar{X} = valores médios dos tratamentos; ** efeito significativo para dose de Cd
 Letras minúsculas: comparação entre tratamentos (Tukey 5%).

TABELA 11A Resumo da ANAVA para a produção de matéria seca da parte aérea e raízes de *Trema micrantha* considerando-se a aplicação de P e as doses de Cd em solução (ensaio 2).

Variáveis	G.L.	Valor F	P ≤
Matéria seca (parte aérea)			
Dose de Cd (Cd)	3	16,5	0,01
Aplicação de P (P)	3	14,8	0,01
Cd x P	9	2,8	0,05
C.V. = 31,13%			
Matéria seca (raízes)			
Dose de Cd (Cd)	3	6,8	0,01
Aplicação de P (P)	3	1,8	ns
Cd x P	9	0,9	ns
C.V. = 40,14%			

ns = efeito não significativo

TABELA 12A Resumo da ANAVA para os teores e acúmulos de Cd e P na matéria seca da parte aérea e raízes de *Trema micrantha* considerando-se a aplicação de P e as doses de Cd em solução (ensaio 2).

Variáveis	G.L.	Valor F	P ≤
Teor Cd (parte aérea)			
Dose de Cd (Cd)	3	93,9	0,01
Aplicação de P (P)	3	23,2	0,01
Cd x P	9	6,5	0,01
C.V. = 32,11%			
Teor Cd (raízes)			
Dose de Cd (Cd)	3	77,8	0,01
Aplicação de P (P)	3	11,4	0,01
Cd x P	9	3,9	0,01
C.V. = 28,28%			
Acúmulo Cd (parte aérea)			
Dose de Cd (Cd)	3	53,2	0,01
Aplicação de P (P)	3	2,6	ns
Cd x P	9	2,6	0,05
C.V. = 36,88%			
Acúmulo Cd (raízes)			
Dose de Cd (Cd)	3	17,2	0,01
Aplicação de P (P)	3	0,7	ns
Cd x P	9	0,4	ns
C.V. = 53,54%			
Teor P (parte aérea)			
Dose de Cd (Cd)	3	5,5	0,01
Aplicação de P (P)	3	33,6	0,01
Cd x P	9	0,9	ns
C.V. = 24,24%			
Teor P (raízes)			
Dose de Cd (Cd)	3	8,0	0,01
Aplicação de P (P)	3	106,5	0,01
Cd x P	9	2,9	0,05
C.V. = 20,19%			

ns = efeito não significativo

TABELA 13A Médias para teores de nutrientes e metais na matéria seca da parte aérea de *Trema micrantha* em solução nutritiva contendo doses de Cd e P (ensaio 2).

	Doses de Cd (μM)				ANAVA
	0	5	10	15	
Cd (mg kg^{-1})					
0,07 mM P	4 a	113 a	304 b	423 b	**
0,5 mM P	19 a	118 a	440 a	597 a	**
1 mM P	3 a	33 a	156 c	326 b	**
2 mM P	15 a	95 a	166 c	173 c	**
Zn (mg kg^{-1})					
0,07 mM P	55 a	61 a	58 a	55 a	ns
0,5 mM P	34 ab	54 ab	58 a	55 a	ns
1 mM P	23 b	28 b	41 a	63 a	**
2 mM P	32 ab	41 ab	50 a	62 a	**
Fe (mg kg^{-1})					
0,07 mM P	140 ab	114 a	128 a	101 a	ns
0,5 mM P	214 a	152 a	140 a	142 a	ns
1 mM P	106 b	91 a	141 a	124 a	ns
2 mM P	231 a	101 a	158 a	83 a	**
Mn (mg kg^{-1})					
0,07 mM P	262 a	263 a	212 a	235 ab	ns
0,5 mM P	151 b	278 a	276 a	282 a	**
1 mM P	124 b	169 a	186 a	166 b	ns
2 mM P	125 b	188 a	235 a	178 ab	ns
Cu (mg kg^{-1})					
0,07 mM P	10 a	12 a	12 a	13 a	ns
0,5 mM P	8 a	9 a	9 a	13 a	**
1 mM P	8 a	9 a	12 a	14 a	**
2 mM P	11 a	8 a	7 a	6 b	ns
Ca \bar{X} (g kg^{-1})	18	18	20	18	ns
Mg \bar{X} (g kg^{-1})	1,3	1,2	1,3	1,2	ns
P (g kg^{-1})					
0,07 mM P	1,4 b	2,1 b	2,2 b	2,0 b	ns
0,5 mM P	4,2 a	5,8 a	6,6 a	7,1 a	**
1 mM P	4,4 a	4,7 ab	6,6 a	6,1 a	ns
2 mM P	5,5 a	5,5 a	5,5 a	7,4 a	ns

Continua...

...continuação

S (g kg ⁻¹)					
0,07 mM P	1,5 a	2,1 a	2,4 ab	2,2 b	ns
0,5 mM P	2,1 a	2,7 a	3,2 a	3,5 a	**
1 mM P	1,6 a	2,1 a	2,7 ab	2,9 ab	**
2 mM P	1,7 a	2,5 a	2,1 b	2,2 b	ns
K (g kg ⁻¹)					
0,07 mM P	24 a	27 a	27 a	27 a	ns
0,5 mM P	17 ab	24 ab	28 a	31 a	**
1 mM P	11 b	18 b	20 ab	25 ab	**
2 mM P	12 b	17 b	15 b	18 b	ns

\bar{X} = valores médios dos tratamentos; ** efeito significativo para dose de Cd
Letras minúsculas: comparação entre tratamentos (Tukey 5%).

TABELA 14A Influência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) na produção de matéria seca da parte aérea de *B. decumbens* em misturas de solo contaminado com metais pesados (PSC) e doses crescentes de P.

PSC	P adicionado ao solo (mg dm ⁻³)					
	25		100		400	
	NI	FMA	NI	FMA	NI	FMA
-----Matéria Seca – Parte Aérea (g)-----						
0%	2,67 aC	8,99 aB*	7,01 aB	7,51 aB	11,40 aA	14,09 aA*
10%	0,13 bB	0,89 bB	0,15 bB	1,44 bB	2,60 bA	7,79 bA*
20%	0,11 bA	0,28 bA	0,21 bA	0,39 bA	1,27 bcA	1,82 cA
30%	0,11 bA	0,17 bA	0,13 bA	0,14 bA	0,13 cA	0,43 cA

Letras minúsculas (efeito da PSC), teste Tukey (5%)

Letras maiúsculas (efeito das doses P), teste Tukey (5%)

* efeito da inoculação

TABELA 15A Influência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) na produção de matéria seca das raízes de *B. decumbens* em misturas de solo contaminado com metais pesados (PSC) e doses crescentes de P.

PSC	P adicionado ao solo (mg dm ⁻³)					
	25		100		400	
	NI	FMA	NI	FMA	NI	FMA
-----Matéria Seca – Raízes (g)-----						
0%	1,13 aC	3,84 aB*	2,90 aB	3,17 aB	4,52 aA	5,28 aA*
10%	0,05 bB	0,25 bB	0,07 bAB	0,42 bB	0,76 bA	2,49 bA*
20%	0,04 bA	0,04 bA	0,07 bA	0,08 bA	0,34 bA	0,45 cA
30%	0,05 bA	0,02 bA	0,05 bA	0,02 bA	0,05 bA	0,12 cA

Letras minúsculas (efeito da PSC), teste Tukey (5%)

Letras maiúsculas (efeito das doses P), teste Tukey (5%)

* efeito da inoculação

TABELA 16A Influência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) nos teores de Zn na matéria seca da parte aérea de *B. decumbens* em misturas de solo contaminado com metais pesados (PSC) e doses crescentes de P.

PSC	P adicionado ao solo (mg dm ⁻³)					
	25		100		400	
	NI	FMA	NI	FMA	NI	FMA
-----Zn – Parte Aérea (mg kg ⁻¹)-----						
0%	43 bA	90 dA	23 bA	19 dA	18 cA	20 dA
10%	5113 aA	2173 cA*	5210 aA	2299 cA*	3334 bB	1511 cB*
20%	5418 aA	3947 bA*	4976 aA	3196 bB*	3754 bB	2821 bB*
30%	5450 aA	5055 aA	5093 aA	5083 aA	5340 aA	4208 aB*

Letras minúsculas (efeito da contaminação), teste Tukey (5%)

Letras maiúsculas (efeito de P), teste Tukey (5%)

* efeito da inoculação

TABELA 17A Influência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) nos teores de Zn na matéria seca das raízes de *B. decumbens* em misturas de solo contaminado com metais pesados (PSC) e doses crescentes de P.

PSC	P adicionado ao solo (mg dm ⁻³)					
	25		100		400	
	NI	FMA	NI	FMA	NI	FMA
-----Zn – Raízes (mg kg ⁻¹)-----						
0%	95 cA	127 bA	47 bA	64 bA	31 cA	35 cA
10%	5784 bA	7756 aA*	6393 aA	6749 aA	6816 bA	4385 bB*
20%	8161 aA	7829 aA	6335 aB	5749 aB	6580 bB	6586 aAB
30%	8516 aA	9181 aA	7797 aA	6907 aB	8824 aA	5082 abC*

Letras minúsculas (efeito da contaminação), teste Tukey (5%)

Letras maiúsculas (efeito de P), teste Tukey (5%)

* efeito da inoculação

TABELA 18A Influência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) nos teores de Cd na matéria seca da parte aérea de *B. decumbens* em misturas de solo contaminado com metais pesados (PSC) e doses crescentes de P.

PSC	P adicionado ao solo (mg dm ⁻³)					
	25		100		400	
	NI	FMA	NI	FMA	NI	FMA
-----Cd – Parte Aérea (mg kg ⁻¹)-----						
0%	0,8 dA	3 dA	0,5 dA	1,0 dA	0,7 dA	0,8 dA
10%	173 cA	23 cA*	183 cA	26 cA*	46 cB	21 cA*
20%	287 bA	85 bA*	156 bB	45 bB*	95 bC	42 bB*
30%	340 aA	171 aA*	216 aC	179 aA*	258 aB	101 aB*

Letras minúsculas (efeito da contaminação), teste Tukey (5%)

Letras maiúsculas (efeito de P), teste Tukey (5%)

* efeito da inoculação

TABELA 19A Influência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) nos teores de Cd na matéria seca das raízes de *B. decumbens* em misturas de solo contaminado com metais pesados (PSC) e doses crescentes de P.

PSC	P adicionado ao solo (mg dm ⁻³)					
	25		100		400	
	NI	FMA	NI	FMA	NI	FMA
-----Cd – Raízes (mg kg ⁻¹)-----						
0%	2,4 cA	1,8 bA	1,2 cA	1,4 bA	0,8 cA	0,9 cA
10%	102 bC	196 aA*	161 bB	191 aA	336 aA	175 bA*
20%	136 bC	223 aAB*	195 abB	209 aB	324 aA	254 aA*
30%	216 aA	198 aB	235 aA	163 aB*	208 bA	246 aA

Letras minúsculas (efeito da contaminação), teste Tukey (5%)

Letras maiúsculas (efeito de P), teste Tukey (5%)

* efeito da inoculação

TABELA 20A Influência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) nos teores de Cu na matéria seca da parte aérea de *B. decumbens* em misturas de solo contaminado com metais pesados (PSC) e doses crescentes de P.

PSC	P adicionado ao solo (mg dm ⁻³)					
	25		100		400	
	NI	FMA	NI	FMA	NI	FMA
-----Cu - Parte Aérea (mg kg ⁻¹)-----						
0%	10 cA	6 bA	8 cA	12 bA	3 cA	4 bA
10%	77 bA	15 bA*	54 bB	11 bA*	22 bC	7 abA*
20%	101 aA	23 bA*	61 bB	22 abA*	27 bC	14 abA
30%	107 aA	46 aA*	93 aA	40 aAB*	93 aA	25 aB*

Letras minúsculas (efeito da contaminação), teste Tukey (5%)

Letras maiúsculas (efeito de P), teste Tukey (5%)

* efeito da inoculação

TABELA 21A Influência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) nos teores de Cu na matéria seca das raízes de *B. decumbens* em misturas de solo contaminado com metais pesados (PSC) e doses crescentes de P.

PSC	P adicionado ao solo (mg dm ⁻³)					
	25		100		400	
	NI	FMA	NI	FMA	NI	FMA
-----Cu - Raízes (mg kg ⁻¹)-----						
0%	22 cA	59 cA	11 cA	68 bA	7 cA	14 cA
10%	187 bC	271 bB*	342 bB	258 aB*	489 bA	373 bA*
20%	480 aB	292 abB*	377 bC	295 aB*	704 aA	487 aA*
30%	433 aB	359 aB*	526 aA	343 aB*	551 bA	451 abA*

Letras minúsculas (efeito da contaminação), teste Tukey (5%)

Letras maiúsculas (efeito de P), teste Tukey (5%)

* efeito da inoculação

TABELA 22A Influência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) nos teores de Pb na matéria seca da parte aérea de *B. decumbens* em misturas de solo contaminado com metais pesados (PSC) e doses crescentes de P.

PSC	P adicionado ao solo (mg dm ⁻³)					
	25		100		400	
	NI	FMA	NI	FMA	NI	FMA
-----Pb - Parte Aérea (mg kg ⁻¹)-----						
0%	7 dA	8 cB	6 dA	8 cB	7 cA	10 bA
10%	15 cB	8 cB*	19 cA	8 cB*	9 bcC	11 bA
20%	25 bB	13 bA*	46 aA	10 bB*	10 bC	11 bB
30%	32 aA	19 aA*	23 bB	15 aB*	20 aC	13 aC*

Letras minúsculas (efeito da contaminação), teste Tukey (5%)

Letras maiúsculas (efeito de P), teste Tukey (5%)

* efeito da inoculação

TABELA 23A Influência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) nos teores de Pb na matéria seca das raízes de *B. decumbens* em misturas de solo contaminado com metais pesados (PSC) e doses crescentes de P.

PSC	P adicionado ao solo (mg dm ⁻³)					
	25		100		400	
	NI	FMA	NI	FMA	NI	FMA
-----Pb - Raízes (mg kg ⁻¹)-----						
0%	12 cA	15 cA	12 cA	14 cA	11 cA	16 bA
10%	44 bA	40 bA	44 bA	40 bA	26 bcB	21 bB
20%	67 aA	56 bA	46 bB	36 bB	37 bB	47 aAB
30%	72 aA	101 aA*	73 aA	112 aA*	67 aA	38 aB*

Letras minúsculas (efeito da contaminação), teste Tukey (5%)

Letras maiúsculas (efeito de P), teste Tukey (5%)

* efeito da inoculação

TABELA 24A Influência de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) nos teores de P na matéria seca da parte aérea de *B. decumbens* em misturas de solo contaminado com metais pesados (PSC) e doses crescentes de P.

PSC	P adicionado ao solo (mg dm ⁻³)					
	25		100		400	
	NI	FMA	NI	FMA	NI	FMA
	-----P - Parte aérea (g kg ⁻¹)-----					
0%	0,44 bB	0,84 aA*	0,41 cB	0,87 aA*	0,73 aA	0,87 aA
10%	0,47 abA	0,53 bA	0,67 abA	0,53 bA	0,57 aA	0,59 bA
20%	0,67 aA	0,45 bA	0,73 aA	0,57 bA	0,66 aA	0,57 bA
30%	0,57 abA	0,43 bA	0,47 bcA	0,43 bA	0,67 aA	0,62 bA

Letras minúsculas (efeito da contaminação), teste Tukey (5%)

Letras maiúsculas (efeito de P), teste Tukey (5%)

* efeito da inoculação