

FÁBIO LUÍS MOSTASSO

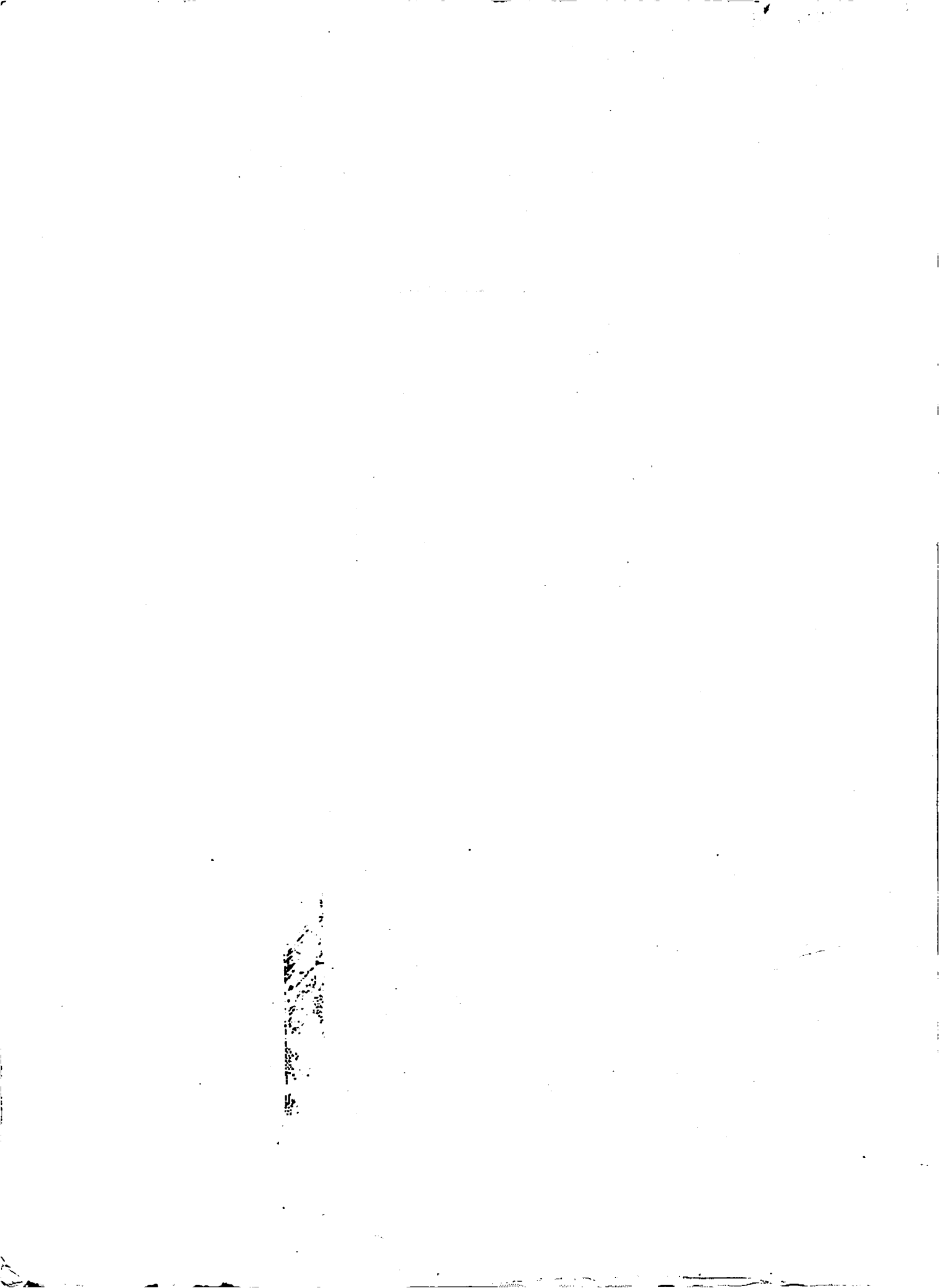
**CRESCIMENTO E NODULAÇÃO DE LEGUMINOSAS
EM SOLO CONTAMINADO COM METAIS PESADOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras - UFLA, como parte das exigências do curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de "Mestre".

Orientadora

Prof.^a FÁTIMA M.S. MOREIRA

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
1997**



p 30424
MFN02368

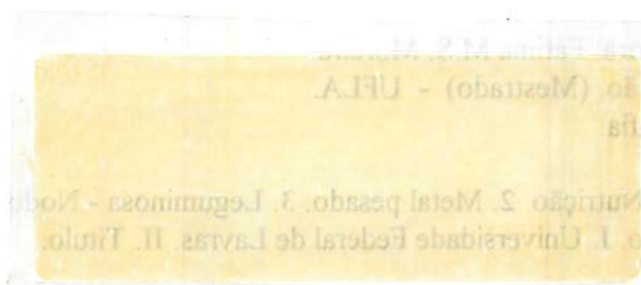
FÁBIO LUÍS MOSTASSO

**CRESCIMENTO E NODULAÇÃO DE LEGUMINOSAS
EM SOLO CONTAMINADO COM METAIS PESADOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras - UFLA, como parte das exigências do curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de "Mestre".

Orientadora

Prof.^a FÁTIMA M.S. MOREIRA



**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
1997**

**Ficha Catalográfica preparada pela Seção de Classificação e Catalogação da
Biblioteca Central da UFLA**

Mostasso, Fábio Luís.

**Crescimento e nodulação de leguminosas em solo contaminado por metais
pesados / Fábio Luís Mostasso. -- Lavras : UFLA, 1997.**

50 p. : il.

Orientadora: Fátima M.S. Moreira.

Dissertação (Mestrado) - UFLA.

Bibliografia.

**1. Solo- Nutrição. 2. Metal pesado. 3. Leguminosa - Nodulação. 4. Área
de nitrogênio. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.**

CDD-631.422

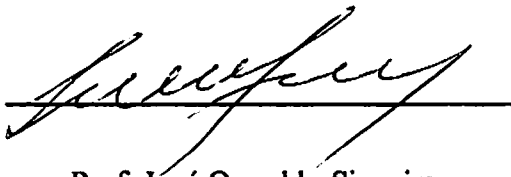
-633.3

FÁBIO LUÍS MOSTASSO

**CRESCIMENTO E NODULAÇÃO DE LEGUMINOSAS
EM SOLO CONTAMINADO COM METAIS PESADOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras - UFLA, como parte das exigências do curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Solos e Nutrição de Plantas, para obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 03 de Outubro de 1997



Prof. José Oswaldo Siqueira



Prof. Antônio Eduardo Furtini Neto



Prof^a Fátima M.S. Moreira
(Orientadora)

Aos meus queridos pais,
Domingos Milton e Arleide;
e irmãos,
Ricardo, Paulo, Cláudio e Lilian;
e à minha amada,
Rebeca

DEDICO

Metade

*"É que a força do medo que tenho não me impeça de ver o que anseio;
Que a morte de tudo em que acredito não me tape os ouvidos e a boca;
Porque metade de mim é o que eu grito, mas a outra metade é silêncio.*

*Que a música que ouço ao longe seja linda, ainda que tristeza;
Que a mulher que eu amo seja prá sempre amada, mesmo que distante;
Porque metade de mim é partida, e a outra metade é saudade.*

*Que as palavras que eu falo não sejam ouvidas como prece nem repetidas com fervor;
Apenas respeitadas, como a única coisa que resta a um homem inundado de sentimento;
Porque metade de mim é o que ouço, mas a outra metade é o que calo.*

*Que essa minha vontade de ir embora se transforme na calma e na paz que eu mereço;
Que essa tensão que me corrói por dentro seja um dia recompensada;
Porque metade de mim é o que penso, e a outra metade é um vulcão.*

Que o medo da solidão se afaste;

*Que o convívio comigo mesmo se torne ao menos suportável;
Que o espelho reflita em meu rosto um doce sorriso que eu me lembro ter dado na infância;
Porque metade de mim é a lembrança do que fui, a outra metade eu não sei.*

*Que não seja preciso mais do que uma simples alegria para me fazer aquietar o espírito;
E que o teu silêncio me fale cada vez mais;
Porque metade de mim é abrigo, mas a outra metade é cansaço.*

*Que a arte nos aponte uma resposta, mesmo que ela não saiba;
E que ninguém a tente complicar, porque é preciso simplicidade para fazê-la florescer;
Porque metade de mim é platéia, e a outra metade é canção.*

*E que a minha loucura seja perdoada;
Porque metade de mim é amor, e a outra metade também."*

Oswaldo Montenegro

AGRADECIMENTOS

À UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS (UFLA), pela oportunidade de realização do curso, ao CONSELHO NACIONAL DE PESQUISA CIENTÍFICA (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos, ao DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA DO SOLO (DCS/UFLA), nas pessoas de seus professores e funcionários, pelos ensinamentos e trabalhos realizados.

Aos professores, FÁTIMA M.S. MOREIRA e JOSÉ OSWALDO SIQUEIRA, pelo apoio, dedicação e valorosa contribuição no comitê de orientação.

Aos professores WALDEMAR FAQUIN e ANTONIO E. FURTINI NETO pelas oportunas críticas e sugestões apresentadas na confecção desta.

Aos amigos do laboratório de microbiologia do solo; os funcionários MANUEL e FABIANO; os estagiários e bolsistas, ALEXANDRE, MARCÃO, DIVINO, MARQUINHO e LEANDRO; os companheiros de laboratório, OSMAR, PAULO HENRIQUE, JOÃO BATISTA, HENRIQUE, entre outros, pela amizade, companheirismo, ajudas, paciência durante as desordens deixadas no laboratório e pelas brincadeiras relaxantes nos momentos difíceis.

Aos colegas do curso de pós-graduação em Solos, ADRIANA, PAULA, ALDO, RENATO, MARCELO, WLADIMIR, e dos demais cursos de pós-graduação BINHO, GLAUBER, ROBÉRIO, este em especial, pela convivência e amizade.

Ao povo de Lavras, em especial ao “Seu” EURICO e família, pela carinhosa recepção e acolhida.

Em especial ao “camarada” JOSÉ ROBERTO, o Beto, pela paciência e profundas amizade e companheirismo, que nos momentos difíceis desta caminhada foram reconfortantes.

À minha doce namorada, *REBECA*, que nos momentos difíceis esteve ao meu lado, pelo carinho e dedicação, pelo convívio e apoio neste momento e principalmente, por ter voltado seus lindos olhos para mim.

À minha família, em especial a MEUS PAIS, que me deram a educação e me possibilitaram o estudo, me incentivaram e acreditaram em mim, sem os quais não teria chegado aqui.

À DEUS, que esteve sempre ao meu lado, mantendo-me e conduzindo-me.

MUITO OBRIGADO!!

VI. CONCLUSÕES..... 45

VII. REFERÊNCIAS 46

ANEXOS

ANEXO I - Análise Estatística do Experimento 1 - Desenvolvimento e Nodulação de Leguminosas em Misturas de Solos com Diferentes Níveis de Metais Pesados.

ANEXO II - Análise Estatística do Experimento 2 - Metais Pesados em Leguminosas Herbáceas.

ANEXO III - Análise Estatística do Experimento 3 - Metais Pesados em Leguminosas Arbóreas com Diferentes Fontes de N (Mineral e Biológico).

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
I.1 Doses, em mg/dm ³ , e fontes utilizadas na fertilização líquida do experimento visando uma adubação de manutenção das culturas.....	15
IV.1 Índices de Tolerância dos pesos das matérias secas da parte aérea e de raízes, número e peso da matéria fresca de nódulos de quatro espécies leguminosas crescidas em cinco níveis de contaminação do solo por metais pesados.....	21
IV.2 Altura Média, em cm, obtida a cada 10 dias após a emergência das plântulas, de quatro espécies leguminosas herbáceas sob 4 níveis crescentes de contaminação do solo por metais pesados.....	23
IV.3 Índices de Tolerância dos pesos das matérias secas da parte aérea e de raízes, área foliar, número e peso da matéria fresca de nódulos e atividade da nitrogenase de cinco espécies leguminosas crescidas em quatro níveis de contaminação do solo por metais pesados.....	29
IV.4 Índices de Tolerância de Tamboril inoculado, sob adubação nitrogenada mineral e sem fornecimento de nitrogênio, em cinco níveis de contaminação do solo	32
IV.5 Índices de Tolerância de Timbouva em cinco níveis de contaminação do solo por metais pesados.....	35
Anexo I.A - Análise de Variância para Quatro Espécies Leguminosas Desenvolvidas sob Cinco Níveis de Contaminação do Solo por Metais Pesados.	
Anexo I.B - Teste de Médias para Quatro Espécies Leguminosas Desenvolvidas sob Cinco Níveis de Contaminação do Solo por Metais Pesados.	

Anexo I.C - Equações de Regressão e Coeficientes de Determinação para os Pesos das Matérias Secas da Parte Aérea e Raízes, Número e Peso da Matéria Fresca de Nódulos para Quatro Espécies Leguminosas Desenvolvidas sob Cinco Níveis de Contaminação do Solo por Metais Pesados.

Anexo II.A - Análise de Variância para Cinco Espécies Leguminosas Herbáceas em Quatro Níveis de Contaminação do Solo por Metais Pesados.

Anexo II.B - Teste de Médias para Cinco Espécies Leguminosas Herbáceas em Quatro Níveis de Contaminação do Solo por Metais Pesados.

Anexo II.C - Equações de Regressão e Coeficientes de Determinação para Cinco Espécies Leguminosas Herbáceas em Quatro Níveis de Contaminação do Solo por Metais Pesados.

Anexo III.A - Análise Fatorial das Variáveis de Tamboril Inoculado, com Adubação Nitrogenada Mineral e sem Fornecimento de Nitrogênio, em Cinco Níveis de Contaminação do Solo por Metais Pesados.

Anexo III.B - Teste de Médias de Tamboril Inoculado, com Adubação Nitrogenada Mineral e sem Fornecimento de Nitrogênio, em Cinco Níveis de Contaminação do Solo por Metais Pesados.

Anexo III.C - Análise Fatorial das Variáveis de Timbouva Inoculado, com Adubação Nitrogenada Mineral e sem Fornecimento de Nitrogênio, em Cinco Níveis de Contaminação do Solo por Metais Pesados.

Anexo III.D - Teste de Médias de Timbouva Inoculado, com Adubação Nitrogenada Mineral e sem Fornecimento de Nitrogênio, em Cinco Níveis de Contaminação do Solo por Metais Pesados.

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
IV.1	Pesos, em gramas, da matéria seca da parte aérea e do sistema radicular de quatro espécies leguminosas crescidas em cinco níveis de contaminação do solo por metais pesados.....	20
IV.2	Número e Peso da Matéria Fresca, em gramas, de nódulos de quatro espécies leguminosas crescidas em cinco níveis de contaminação do solo por metais pesados	21
IV.3	Taxa de crescimento relativo de Caupi Vermelho, em 6 períodos de 10 dias cada, em três níveis de contaminação do solo por metais pesados.....	24
IV.4	Taxa de crescimento relativo de Feijão Vagem UEL-1, em 4 períodos de 10 dias cada, em três níveis de contaminação do solo por metais pesados....	24
IV.5	Taxa de crescimento relativo de Mucuna Preta, em 5 períodos de 10 dias cada, em três níveis de contaminação do solo por metais pesados.....	25
IV.6	Taxa de crescimento relativo de Mungo Verde, em 6 períodos de 10 dias cada, em três níveis de contaminação do solo por metais pesados.....	25
IV.7	Pesos, em gramas, da matéria seca da parte aérea e do sistema radicular de quatro espécies leguminosas crescidas em quatro níveis de contaminação do solo por metais pesados.....	26
IV.8	Área Foliar Total de cinco espécies leguminosas crescidas em quatro níveis de contaminação do solo por metais pesados.....	27
IV.9	Número e Peso da matéria fresca, em gramas, de nódulos de cinco espécies leguminosas crescidas em quatro níveis de contaminação do solo por metais pesados.....	28

IV.10	Taxa de crescimento relativo de <i>Mucuna Preta</i> , em 6 estágios de 10 dias cada, em três níveis de contaminação do solo por metais pesados.....	30
IV.11	Peso das matérias secas da parte aérea e de raízes de <i>Tamboril</i> , em cinco níveis crescentes de contaminação do solo por metais pesados	31
IV.12	Número e Peso, em gramas, de nódulos obtidos de <i>tamboril</i> em cinco níveis de contaminação do solo	33
IV.13	Número e peso fresco de nódulos obtidos em plantas inoculadas e com adubação nitrogenada mineral, comparativamente com a testemunha, na presença de metais pesados no solo	33
IV.14	Atividade da Nitrogenase dos nódulos de <i>tamboril</i> e cinco níveis de contaminação do solo por metais pesados.....	34
IV.15	Peso da matéria seca, em gramas, da parte aérea de <i>timbouva</i> sob 5 níveis de contaminação do solo por metais pesados.....	35
IV.16	Peso da matéria seca, em gramas, da parte aérea de <i>timbouva</i> sob adubação nitrogenada, inoculação e sem fornecimento de nitrogênio.....	36
IV.17	Peso da matéria seca do sistema radicular, em gramas, de <i>timbouva</i> sob adubação nitrogenada, inoculação e na testemunha em cinco níveis de contaminação do solo por metais pesados.....	36
IV.18	Número de nódulos obtidos do sistema radicular de <i>timbouva</i> sob adubação nitrogenada, inoculação e na testemunha em cinco níveis de contaminação do solo por metais pesados.....	37
IV.19	Peso da matéria fresca dos nódulos, em gramas, obtidos do sistema radicular de <i>timbouva</i> sob adubação nitrogenada, inoculação e na testemunha em cinco níveis de contaminação do solo por metais pesados....	37
IV.20	Atividade da enzima nitrogenase, em mmol $C_2H_4/g.nod./h$, do nódulos obtidos do sistema radicular de <i>timbouva</i> sob adubação nitrogenada, inoculação e na testemunha em cinco níveis de contaminação do solo por metais pesados	38

RESUMO

MOSTASSO, Fábio Luís. Crescimento e nodulação de leguminosas em solo contaminado com metais pesados. Lavras: UFLA, 1997. 50 p. (Dissertação - Mestrado em Agronomia, Área de Concentração Solos e Nutrição de Plantas)¹

Encontrar plantas e microsimbiontes tolerantes e/ou resistentes a metais pesados, e que possibilitem a revegetação de áreas degradadas, tem se tornado um desafio à comunidade científica mundial. Visando observar o desenvolvimento e a nodulação de diferentes espécies leguminosas, foram realizados três experimentos em casa de vegetação utilizando solos com diferentes níveis de toxidez por metais pesados. Para a realização destes utilizou-se um solo (LVp) contaminado acidentalmente pelo escoamento de resíduos metalúrgicos, com altos níveis de metais pesados, principalmente Zn e Cd (18600 mg/dm³ e 135 mg/dm³, respectivamente), que foi misturado a um solo (LV) diluente para obtenção de diferentes níveis de contaminação. No primeiro experimento, tamboril (*Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong.), sesbania (*Sesbania virgata* (L.) Merr.), leucena (*Leucaena* Benth. sp.) e siratro (*Macroptilium atropurpureum* Urb.) foram cultivados em solos com 0, 15, 30, 45 e 60% de contaminação. No segundo experimento caupi vermelho (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), feijão bravo do ceará (*Canavalia brasiliensis* M. e Benth.), feijão vagem UEL-1 (*Phaseolus vulgaris* (L.)), mucuna preta (*Mucuna aterrima* (Piper & Tracy) Merr.) e mungo verde (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) foram testados em níveis de contaminação solo de 0, 5, 10 e 20% de solo contaminado. Em ambos os experimentos as plantas foram inoculadas com estirpes de rizóbio selecionadas. No terceiro experimento, tamboril e timbouva (*Enterolobium timbouva* Mart.) foram cultivadas nos

¹ Orientadora: Fátima M.S. Moreira.

Membros da banca: José Oswaldo Siqueira e Antônio Eduardo Furtini Neto

níveis de contaminação 0, 5, 10, 20, e 40% do solo testando-se ainda a adubação mineral nitrogenada e inoculação com rizóbio. As espécies avaliadas responderam diferentemente aos tratamentos impostos. Tamboril foi mais tolerante que sesbania, exceto a 15%, leucena e siratro, mas o aumento da contaminação do solo por metais afetou seu desenvolvimento, sofrendo uma redução de 80% na parte aérea e 60% no sistema radicular a 60% de contaminação. A nodulação das espécies foi mais severamente afetada, chegando à sua ausência em alguns tratamentos, sendo que somente tamboril nodulou a 45%. Entre as espécies herbáceas estudadas foi observado que mucuna preta teve maior tolerância que as demais espécies, tanto no seu crescimento quanto na sua nodulação. A nodulação de todas as espécies foi drasticamente afetada nos níveis acima de 10%. Não houve diferença significativa no crescimento de tamboril quanto ao uso de diferentes fontes de N, somente sendo esta observada para timbouva, onde a adubação nitrogenada favoreceu o desenvolvimento radicular desta espécie. O aumento da concentração de metais reduziu o desenvolvimento de ambas as espécies. A atividade da nitrogenase sofreu um ligeiro acréscimo na maioria das espécies quando em presença de baixos níveis de metais no solo. Espécies em simbiose com *Bradyrhizobium* sp, nodularam em níveis mais altos de contaminação do que espécies noduladas por *Azorhizobium* e *Rhizobium*.

ABSTRACT

GROWTH AND NODULATION OF LEGUMINOUS SPECIES IN SOIL CONTAMINATED WITH HEAVY METALS

One of the great challenges nowadays in environmental research is the revegetation of areas contaminated with heavy metals. The growth and nodulation of different leguminous species at different heavy metal contamination levels were studied in greenhouse conditions. The experiments were carried out in different soil mixes of contaminated soil (18600 mg Zn/dm³ e 135 mg Cd/dm³) and a non contaminated oxisol. At the first experiment *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong., *Sesbania virgata* (L.) Merr., *Leucaena* Benth. sp. and *Macroptilium atropurpureum* Urb. were cultivated at the contamination levels 0, 15, 30, 45 and 60%. *Vigna unguiculata* (L.) Walp., *Canavalia brasiliensis* M. e Benth., *Mucuna aterrima* (Piper & Tracy) Merr. and *Vigna radiata* (L.) Wilczek were tested at the contamination levels 0, 5, 10 and 20% in experiment II. Selected rhizobia strains were inoculated in each leguminous species in both experiments. *E.contortisiliquum* and *Enterolobium timbouva* Mart. were cultivated at contaminated levels 0, 5, 10, 20 and 40% either with nitrogen fertilizer or rhizobia inoculation in experiment III. The evaluated species behave in different ways. *E.contortisiliquum* was more tolerant than *S.virgata.*, except at 15%, *Leucaena.* sp. and *M.atropurpureum* and it was severely affected at 60% of contamination (reduction in shoot and root dry weight repectively 80% and 60%). Nodulation were drastically reduced in all species, and only *E.contortisiliquum* nodulated untill the contamination level of 45%. Among the herbaceous species *M.aterrima* was the most tolerant at levels 5 and 10%. Nodulation of herbaceous species was severely reduced at contamination levels above 10%. Source of N (chemical or biological) did not affect growth of *E.contortisiliquum* but affect *E.timbouva* root growth. Both species were affected by increasing contamination levels. Nitrogenase activity increase in the lowest contamination level in most species. Leguminous species in symbiosis with *Bradyrhizobium* spp. nodulated in higher contamination levels than species nodulated by *Azorhizobium* or *Rhizobium*.

I - INTRODUÇÃO

Áreas de vegetação natural que sofreram alterações em suas características originais podem passar por um lento processo natural de revegetação, algumas destas áreas onde a degradação ocorreu por causas naturais, como queimadas e deslizamentos de encostas, são de fácil recuperação, pois estas somente sofreram a perda da vegetação e o solo pouco ou nada sofreu de alteração em suas características, assim o simples repovoamento pode recuperar estas áreas. Entretanto, em áreas em que o impacto foi tão severo a ponto de destruir a vegetação e afetar o solo física e quimicamente, as medidas a serem adotadas para o restabelecimento da vegetação exigirão técnicas mais avançadas.

Fatores antropogênicos podem ser considerados as mais graves formas de degradação da natureza, pois estes afetam também o solo, pela remoção da camada fértil em áreas de mineração ou em áreas de empréstimo para construção de barragens, ou ainda pelo descarte de resíduos metalúrgicos, nas chamadas áreas de "bota-fora", onde a adição ao solo de metais pesados presentes nestes resíduos tem chamado a atenção das autoridades e cientistas que tentam buscar soluções para os problemas ambientais ocasionados pelo acúmulo destes elementos no solo.

A adição de metais pesados pode também ocorrer através de insumos agrícolas, como fertilizantes e corretivos, que com o passar dos anos vão se acumulando podendo chegar a níveis tóxicos às plantas, acarretando em redução da produtividade das culturas.

Apesar de alguns metais serem úteis ao metabolismo das plantas e microrganismos presentes no solo, quando em níveis elevados estes elementos tornam-se tóxicos, levando desde a uma redução na taxa de crescimento até a morte de plantas e organismos do solo.

A busca por plantas e microsimbiontes tolerantes e/ou resistentes à metais pesados, que permitam o seu uso em projetos de revegetação de áreas degradadas pelo acúmulo destes elementos, pode tornar possível o reflorestamento e/ou reutilização agrícola destas áreas, sem

entretanto, desconsiderar-se os aspectos relativos à dinâmica sucessional. As leguminosas são de grande potencial em projetos de recuperação de áreas degradadas por serem geralmente de crescimento rápido, permitirem simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico e fungos micorrízicos, possuírem sistema radicular agressivo que auxilia na melhoria dos aspectos físicos do solo, além de permitirem rápida formação de liteira pela queda de folhas repondo a matéria orgânica, beneficiando assim o restabelecimento da biota do solo.

O objetivo deste estudo foi de avaliar, o efeito de níveis crescentes de contaminação do solo com metais pesados sobre o desenvolvimento e nodulação de leguminosas.

II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

II.1. Áreas Degradadas

Reichmann Neto (1993) definiu uma área degradada como aquela que sofreu alterações em suas características originais, devido a causas naturais, como deslizamentos de encostas, quedas de árvores, enchentes e queimadas de ocorrência natural, ou por causas antrópicas, como queimadas criminosas, mineração, desmatamento, descarte de resíduos industriais tóxicos, entre outros, entretanto esta define áreas agrícolas como áreas degradadas, pois estas sofreram alterações em suas características originais pela ação do homem, mas são úteis à produção de alimentos. Podemos então considerar uma área agrícola como degradada? Ou seriam melhor definidas como degradadas aquelas áreas cuja a alteração ambiental impede que haja o desenvolvimento de vida vegetal e animal?

Algumas áreas que tiveram sua vegetação original degradada podem ser utilizadas na agricultura, já outras, onde o impacto acarretou prejuízos extremos ao meio ambiente, são geralmente abandonadas devido à dificuldade ou à impossibilidade de cultivo. O prejuízo ambiental devido à degradação destas áreas naturais é muitas vezes incalculável, pois não somente as matas são destruídas, mas também ocorrem efeitos sobre as macro e micro faunas e floras locais; estas áreas necessitam serem revegetadas e mantidas como áreas de preservação e manutenção, buscando-se assim evitar a ocorrência da extinção de mais espécies vegetais e animais que destas dependem.

Antes da aprovação do Artigo 115/88 pelo Congresso Brasileiro, que exige a recuperação de áreas mineradas, muitas empresas já haviam iniciado programas de revegetação de áreas nativas por elas degradadas, entretanto geralmente eram feitos repovoamentos com o uso de poucas espécies, formando maciços vegetais, onde os aspectos ecológicos da biodiversidade e da sustentabilidade dos ecossistemas eram desprezados, o que dificultava a regeneração do sub-

II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

11.1. Áreas Degradadas

Reichmann Neto (1993) definiu uma área degradada como aquela que sofreu alterações em suas características originais devido a causas naturais, como deslizamentos de encostas, mudanças de direção, enchentes e chuvas de ocorrência natural, ou por causas antrópicas, como queimadas criminosas, mineração, desmatamento, descarte de resíduos industriais tóxicos, entre outros. Entretanto esta definição inclui áreas agrícolas como áreas degradadas, pois estas sofreram alterações em suas características originais pela ação do homem, mas não são a produção de alimentos. Portanto, áreas consideradas como agrícolas não são degradadas. O mesmo não ocorre com áreas degradadas como florestas, pois a alteração antrópica impede que haja o desenvolvimento de vida vegetal e animal.

Áreas que foram ou serão originalmente degradadas podem ser utilizadas na agricultura já que, onde o impacto antrópico prejudica os recursos naturais, o prejuízo geralmente abundante devido à diversidade ou à impossibilidade de cultivo. O prejuízo ambiental devido à degradação das áreas naturais é muitas vezes irreversível, pois não somente as matas são destruídas, mas também ocorrem efeitos sobre as matas e rios próximos e, portanto, estas áreas necessitam ser restauradas e mantidas como áreas de preservação e recuperação, buscando-se assim evitar a ocorrência de extinção de mais espécies vegetais e animais que devam depender.

Antes da aprovação do Artigo 173º pelo Congresso Brasileiro, que exige a recuperação de áreas mineradas, muitas empresas já haviam iniciado programas de recuperação de áreas afetadas por elas degradadas, entretanto, geralmente eram feitos melhoramentos com o uso de poucas espécies, formando matos vegetais, onde os aspectos ecológicos da biodiversidade e da sustentabilidade dos ecossistemas eram desprezados, o que dificultava a regeneração do sub-

bosque. Também não eram considerados os problemas ocasionados pela degradação do solo, sendo assim necessárias fertilizações periódicas, irrigação e controle de pragas e doenças nestes monocultivos, bem como práticas conservacionistas do solo de forma a reduzir as perdas por erosão nas falhas que ocorressem na área plantada, problemas estes que inviabilizavam a manutenção destas áreas.

O aumento da consciência ecológica nos últimos anos tem levado empresas a investir na pesquisa de métodos mais eficientes de revegetação de áreas degradadas, desta maneira pesquisas tem sido realizadas sobre as mais diferentes formas de degradação da natureza, assim novas técnicas e espécies tem sido descobertas e aplicadas com sucesso em revegetação. Uma maior abordagem ecológica para a revegetação enfatizando a correção do solo através da análise química e física deste e maior critério na escolha das espécies são resultados obtidos por pesquisadores e que tem ajudado na correção de algumas das falhas que vinham ocorrendo.

Griffith, Dias e Jucksch (1994), enfatizam o fato de que a natureza repugna linhas retas buscando a fuga da homogeneidade dos reflorestamento por monocultivos, a revegetação natural ocorre de maneira dinâmica e heterogênea através de um processo evolutivo por ela determinado, onde há a substituição de espécies ao longo do tempo, até que se atinja um ponto onde ocorre a auto-sustentabilidade do ecossistema. Os mesmos autores citam Clements, que apresentou a melhor abordagem ecológica da dinâmica sucessional após a degradação, onde ocorrem os processos de dispersão, estabelecimento, competição e estabilização do sistema, sendo dispersão é um dos processos mais importantes desta dinâmica, podendo ocorrer naturalmente ou por técnicas de repovoamento, o estabelecimento é considerada a fase crítica da revegetação, pois refere-se ao ciclo completo de vida da planta, desde a germinação até a reprodução, ou seja onde se comprova a adaptação das espécies ao local, é afetada por fatores ambientais (clima, relevo, predadores, etc.) e por fatores que podem ocasionar “stress” nas plantas, como compactação do solo, presença de elementos tóxicos, entre outros, também é diretamente influenciado pela presença de microrganismos benéficos como fungos micorrízicos e bactérias fixadoras de nitrogênio, nesta fase se inicia o restabelecimento da microbiota do solo.

A fase seguinte do processo de sucessão vegetal ocorre naturalmente nas áreas vegetadas, aqui as espécies pioneiras, geralmente mais tolerantes e/ou resistentes às condições adversas do local, que conseguiram superar as dificuldades e se estabelecer, são superadas pelas espécies

secundárias, que na fase inicial da sucessão foram superadas pelas pioneiras por serem mais sensíveis às condições, e que agora encontram as condições ideais de crescimento no local devido às alterações provocadas pelas pioneiras. Conhecendo-se os processos de sucessão vegetal que ocorrem em uma revegetação natural pode-se, através de experimentos, encontrar espécies e microrganismos mais tolerantes e/ou resistentes aos tipos de degradação, assim pode-se tentar imitar a natureza e acelerar um processo de revegetação e recuperação de uma área degradada.

O sucesso de um processo de revegetação passa pela escolha das espécies e fundamenta-se nos métodos de implantação. A escolha das espécies deve considerar os aspectos relativos ao seu desenvolvimento vegetativo, como crescimento rápido, proteção e fornecimento de nutrientes ao solo, abrigo e alimento para a fauna, recomposição da paisagem e do regime de água, e conseqüentemente da biota do solo; entre os métodos de implantação destas espécies deve-se observar o manejo no plantio ou transplantio, dependendo do caso, e correção do solo (Davide, 1994). Franco, Campello e Faria (1994) enfatizam que a escolha das espécies em projetos de revegetação de áreas degradadas devem considerar a reposição de nitrogênio e carbono ao solo, bem como aumentar a disponibilidade dos demais nutrientes. Diversos trabalhos utilizando plantas leguminosas em processos de revegetação tem demonstrado que o rápido crescimento destas e a sua elevada produção de biomassa, proporcionam sombreamento e maior acúmulo de C e nutrientes no solo (incluindo a fixação de N_2 atmosférico), que favorecem a germinação de espécies secundárias mais exigentes quanto à fertilidade do substrato (Campello, 1996). Boni, Espíndola e Guimarães (1994) avaliaram o efeito de crotalária e guandu na recuperação de uma área de Latossolo Roxo, de onde foi retirado o horizonte A, e observaram que a grande exploração do solo pelo seu sistema radicular, trouxe expressivos benefícios físicos ao solo, aumentando o diâmetro médio ponderado dos agregados do solo, a porosidade que, conseqüentemente, acarreta em maior retenção de água, bem como maior cobertura do solo, o que o protege contra perdas por erosão.

O uso de mudas de plantas leguminosas noduladas e micorrizadas para repovoamento de áreas degradadas foi estudado por Franco, Campello e Faria (1994) em áreas de rejeito de mineração de bauxita em Porto Trombetas - PA. O efeito da inoculação das mudas com bactérias fixadoras de nitrogênio e a adição de composto orgânico ao solo, favoreceram o estabelecimento

de mudas noduladas e não noduladas, entretanto, a nodulação foi favorável ao desenvolvimento das plantas mesmo quando não houve a adição de composto orgânico ao substrato. A resposta à inoculação com fungos micorrízicos somente pôde ser observada à partir do segundo ano, o que os autores atribuíram à redução na disponibilidade de fósforo adicionado e início da reciclagem do P orgânico proveniente das folhas caídas (Franco et al., 1993).

II.2. Metais Pesados no Ambiente

O descarte de resíduos industriais na natureza tem atingido níveis preocupantes, o que tem feito com que governantes e entidades protetoras da natureza desviem suas atenções para estas áreas devido ao fato de que grande parte destes resíduos são ricos em metais pesados, extremamente prejudiciais ao desenvolvimento das plantas; e também ao uso indiscriminado de fertilizantes, orgânicos e químicos, e de protetores de plantas que contenham metais pesados em sua composição, estes produtos tem se tornado alvo de pesquisas que visam evitar o acúmulo destes elementos na natureza.

Jones e Jarvis (1981), citados por Cotrim (1994), definem metais pesados como "...metais que apresentam uma densidade relativa maior que 5 g/cm^3 ", o que totalizam 38 elementos conhecidos, sendo os mais citados: arsênio, cádmio, cobalto, cromo, cobre, ferro, mercúrio, manganês, molibdênio, níquel, chumbo, estrôncio e zinco, encontrados com maior frequência e concentração nos resíduos antrópicos.

Os metais pesados podem ocorrer naturalmente nos solos, derivados de rochas de origem, e quando adicionados pelo intemperismo destas rochas ocorrem em baixas concentrações, não tornando-se tóxicas à biota e ao meio ambiente (Tyler, 1974). Alguns destes elementos são essenciais às plantas quando em baixas concentrações, chamados assim de micronutrientes, porém quando em altas concentrações, estes elementos podem tornar-se tóxicos à fauna e à flora do solo. Em solos agrícolas e florestais estes metais pesados tem sido encontrados em concentrações elevadas, nestas áreas a adição antrópica, através de fertilizantes, corretivos, agrotóxicos e resíduos orgânicos e inorgânicos, tem despertado a atenção de cientistas, o que tem gerado diversos trabalhos, principalmente em regiões de clima temperado (Malavolta, 1994). Como exemplo, cita-se a grande importância dada à avaliação dos teores residuais de Cádmio

(Cd) em fertilizantes fosfatados, devido à relativa facilidade de transferência desse elemento do solo para as plantas, podendo causar riscos à cadeia alimentar e ao homem (Tyler, 1974).

Estímulos para a utilização, em solos agrícolas, de resíduos orgânicos e inorgânicos, como lodo de esgoto e escórias, têm levado ao desenvolvimento de análises químicas do solo que tem encontrado níveis elevados destes elementos, o que tende a se agravar com o tempo, devido ao uso contínuo destes resíduos orgânicos que se acumulam no ecossistema. Por outro lado, podem também ocorrer deposições atmosféricas de gases emitidos por indústrias siderúrgicas, metalúrgicas e petroquímicas e à partir de escapamentos de motores de combustão interna pela sedimentação ou carreamento pela chuva de poeira contaminada (Laggerwerf, 1972; Page e Bingham, 1973).

Os estudos sobre a presença de elementos tóxicos em ecossistemas agrícolas têm demonstrado concentrações relativamente elevadas de chumbo, cádmio, cromo, bromo e arsênio entre outros elementos, quando em baixas concentrações estes elementos podem ser úteis às plantas e microrganismos, os chamados micronutrientes, mas quando em altas concentrações, tornam-se fitotóxicos, como manganês, cobre, zinco, ferro. Também são verificados níveis diferenciados de toxidez por outros elementos úteis às plantas, mas que não possuem essencialidade comprovada, como níquel, alumínio e selênio (Amaral Sobrinho, Velloso e Costa, 1993).

Os elementos caracterizados como tóxicos para vegetais e microrganismos são aqueles que, ao serem absorvidos do meio ambiente pelas plantas, prejudicam o seu desenvolvimento, mesmo quando em baixas concentrações. A ação desses elementos ocasiona estresse nos organismos vivos, por proporcionarem mudanças fisiológicas, reduzindo o vigor destes e, em casos extremos, inibindo totalmente o seu crescimento e levando-os à morte (Baker, 1987).

II.3. Metais Pesados no Solo e seu Efeito no Desenvolvimento Vegetal

Em solos de clima tropical a capacidade de adsorção máxima destes metais pode ser limitada pelos conteúdos de argila e de óxidos de ferro e alumínio e também pelos valores de CTC e pH desses solos (Omae, 1984). A adição de resíduos contendo metais é inadequada em solos que apresentem menos de 7,5% de argila e menos de 3% de óxidos de Fe e Al, simultaneamente (Mattiazzo e Gloria, 1995). Por sua vez, em solos que apresentam a capacidade

de troca de cátions (determinada pelo acetato de amônio a pH 7,0) dentro da faixa de 5 a 15, os teores máximos de metais, tais como Pb, Zn, Cu, Ni e Cd devem ser inferiores a 100, 500, 250, 100 e 10 kg/ha, respectivamente (Kiehl, 1985). Geralmente estes dados não são considerados quando se tenta realizar um sistema de revegetação.

Algumas práticas culturais podem ser usadas para controlar a ciclagem ambiental dos elementos tóxicos no solo, que incluem métodos de manejo, que tendem a diminuir a disponibilidade destes elementos no solo, tal como a calagem (para elevar o pH) e a adição de resíduos orgânicos que favorecem o surgimento de quelatos, capazes de imobilizar estes elementos. A presença da matéria orgânica no solo desempenha um importante papel na ciclagem desses e de outros elementos (Stevenson, 1986).

A fitorremediação pode ser uma maneira viável de remover elementos tóxicos do solo. O processo consiste em se cultivar plantas que possuam não só a capacidade de desenvolvimento em áreas contaminadas, como também apresentem a propriedade de acumular tais elementos nos seus tecidos, chamadas metalófitas (Brown e Brinkmann, 1992). Brown *et al.* (1995), estudando o comportamento da espécie *Thlaspi caerulescens*, sob a presença de Zn e Cd, verificaram que esse vegetal foi capaz de absorver e tolerar concentrações superiores a 18.000 mg Zn/kg e 1.000 mg Cd/kg na parte aérea. Contudo, Baker (1994) demonstrou que essa mesma espécie vegetal não apresenta semelhança na dinâmica para os diferentes elementos tóxicos, assim Zn, Cd, Co, Mn e Ni são absorvidos e translocados para a parte aérea, enquanto que Al, Cr, Cu, Fe e Pb são predominantemente imobilizados nas raízes.

A ocorrência de espécies de plantas e microrganismos tolerantes a altos níveis de contaminação por elementos tóxicos tem levado alguns pesquisadores a trabalharem com seleção de espécies cultivadas e microsimbiontes (Kabata-Pendias e Pendias, 1985; Duxbury e Bicknell, 1983). Os mecanismos de resistência vegetal variam, desde ligações a nível de parede celular, bombeamento de íons para os vacúolos, complexação por ácidos orgânicos e ligações metaloproteínas dentre outros (Baker, 1981; citado por Baker, 1987). O gasto de energia para realização desses mecanismos, entretanto, proporciona uma redução no crescimento das plantas tolerantes, quando comparadas com aquelas cultivadas em áreas não contaminadas (Ernst, 1976; citado por Baker, 1987). Nos microrganismos, a imobilização de metais na parede celular é um

método utilizado por bactérias para tolerar a toxidez destes elementos, enquanto que esporos de fungo excretam aminoácidos e hidróxiácidos que complexam metais (Tyler, 1974).

Nascimento, Fontes e Neves (1997) avaliaram a resistência de cinco cultivares de milho ao Cd e observaram uma resposta diferenciada entre estas, tendo uma redução relativa à testemunha de 41,1% do peso de matéria seca total para a cultivar CMS 54, a mais sensível, a 15,3% para a cultivar BR 473, mais tolerante à dose de 2mg/L de Cd em solução nutritiva. Estas duas cultivares foram então submetidas às doses crescentes de 0; 0,05; 0,10; 0,50 e 1,00 mg/L de Cd em solução nutritiva, e os autores observaram que a cultivar BR 473 teve um discreto aumento nos pesos das matérias secas de raiz e da parte aérea para a dose de 0,05 mg/L de Cd, em relação à testemunha. Entretanto, nas concentrações mais altas houve uma redução desta variável com o aumento do teor de Cd na solução, sendo que este aumento não foi observado na medida da altura das plantas, e, em todos os níveis de contaminação houve redução na altura avaliada. Na cultivar CMS 54 não foi observado o mesmo resultado, sendo que esta sofreu redução nas variáveis avaliadas para todas as doses de Cd estudadas.

Em estudos com duas cultivares de feijoeiro, Ouro Negro e Carioca, crescidas em solução nutritiva e com doses crescentes de Cd (0,00; 0,025; 0,05; 0,10 e 0,50 $\mu\text{g Cd/ml}$), Pereira e Nascimento (1997) observaram que a cultivar Ouro Negro sofreu redução nos pesos das matérias secas da parte aérea e de raiz em todos os níveis de contaminação, enquanto que a cultivar carioca teve um leve aumento nestes mesmos pesos nas concentrações de 0,025 e 0,05 $\mu\text{g Cd/ml}$ de solução nutritiva, ocorrendo um efeito deletério nas doses superiores.

Ibekwe *et al.* (1996) estudaram o efeito da toxidez de teores crescentes de Cd e Zn sobre o desenvolvimento de alfafa (*Medicago sativa* cultivar WAMPR) pré-germinada e cultivada em solução nutritiva, inicialmente crescidas em solução nutritiva completa por 14 dias. Após este tempo foram iniciados 3 tratamentos, sendo no primeiro as plantas mantidas em solução completa, com um enriquecimento de sulfatos de cádmio e zinco separadamente, de forma a obterem concentrações e atividades crescentes destes metais na solução. Para avaliar a toxidez destes metais na planta, foi realizado um segundo experimento onde foi retirado o fornecimento de nitrogênio, adicionados sais metálicos e realizada a inoculação com uma estirpe efetiva de rizóbio. No terceiro experimento foi realizada uma inoculação no 14º dia seguido de um enriquecimento com sais metálicos no 21º dia. Os autores observaram que apesar das formas

diferenciadas com que foram realizados os tratamentos as respostas foram semelhantes, a produção relativa à testemunha da parte aérea e o peso do sistema radicular sofreram um ligeiro impacto nas concentrações mais baixas dos metais, indicando uma moderada toxidez, entretanto na concentração mais alta o impacto foi mais severo chegando a igualar os valores dos três tratamentos. O que mais chama a atenção é o fato de que a produção relativa da parte aérea no tratamento com N-mineral foi superior àqueles onde foi realizada a inoculação, principalmente para o zinco, sendo que somente na concentração mais elevada do metal a severidade do impacto igualou a resposta dos três tratamentos.

Em Tamboril (*Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong.), uma espécie leguminosa arbórea, inoculada com rizóbio e fungos micorrízicos, crescida em quatro níveis de contaminação (20, 40, 60 e 80%) de um solo contaminado por Zn (17.937,5 µg/g), entre outros metais, Rojas, Siqueira e Moreira (1996), observaram que houve redução drástica de até 80% do peso das matérias secas da parte aérea e de raízes quando em presença de 20% deste solo contaminado no substrato, além de redução na altura das plantas, diâmetro do caule e número de folhas com o aumento da contaminação do substrato por metais pesados, sendo este resultado indiferente à inoculação com fungos micorrízicos, exceto para o peso da matéria seca do sistema radicular, onde houve em mudas não inoculadas uma ligeira superioridade àquelas pré-colonizadas. Este resultado pode ter sido devido aos altos teores de P dos substratos utilizados, a nodulação também sofreu uma drástica redução no nível mais baixo de contaminação, reduzindo-se de cerca de 250 nódulos na testemunha para apenas 6 nódulos ao nível de 20% de contaminação. Entretanto o peso total dos nódulos obtidos não sofreu a mesma redução, o que sugere que apesar de terem sido encontrados poucos nódulos nos tratamentos com presença de metais, estes nódulos possuíam tamanho e peso maior que os obtidos na testemunha.

II.4. Metais Pesados nos Microrganismos do Solo

Os metais pesados atuam sobre os microrganismos do solo reduzindo sua atividade metabólica, tornando-os ineficientes, o que reduz os processos essenciais do solo, com o de degradação e ciclagem da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes, respiração e sobre aqueles que atuam em simbiose com plantas. Os metais pesados exercem efeitos deletérios sobre as funções metabólicas dos microrganismos do solo. Hattori (1992) estudou o efeito da adição de

Cd, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn sobre a decomposição da matéria orgânica e sobre a microflora e observou que houve decréscimo na evolução de CO₂ e no crescimento bacteriano, com o aumento da concentração dos metais pesados adicionados.

A exposição a metais pesados pode afetar a formação e o desenvolvimento das micorrizas arbusculares (Gildon e Tinker, 1981; Koomen e McGrath, 1990). A inibição da simbiose micorrízica por metais pesados pode ocorrer por efeito direto dos metais sobre os microrganismos ou, indiretamente, pelo efeito dos metais sobre a planta hospedeira quando em níveis tóxicos (Nogueira, 1994).

Heggo, Angle e Chaney (1990) utilizando solos proveniente de áreas próximas a uma fundição de zinco em operação a mais de 100 anos avaliaram o impacto de diferentes níveis de contaminação por Zn, Cd, Cu, Mn e Fe no solo em soja inoculada com rizóbio e com bactérias mais fungos micorrízicos arbusculares. Estes autores observaram que em relação à testemunha, sem inoculação, a presença de rizóbio aumentou o peso da matéria seca da parte aérea, número e peso de nódulos, bem como a atividade da enzima nitrogenase, quando a soja foi associada a rizóbio e fungos micorrízicos arbusculares simultaneamente, o ganho foi ainda maior, entretanto, estes valores sofreram redução em todos os parâmetros avaliados pelo aumento da concentração de metais pesados no solo.

A fixação biológica do nitrogênio atmosférico por bactérias diazotróficas simbióticas em leguminosas é considerado um dos processos bioquímicos mais importantes da natureza (Stevenson, 1986), sendo que a presença de metais pesados no solo pode afetar direta ou indiretamente neste processo, afetando desde o microsimbionte, o processo infectivo e a nodulação, até a atividade da nitrogenase, inibindo a fixação do nitrogênio. Chaudry *et al.* (1993) observaram um decréscimo na população de rizóbio em solos do noroeste da Alemanha pela adição de lodo de esgoto contaminado por metais pesados. Em *Trifolium repens* L. crescendo em solo contaminado pela adição de lodo de esgoto foram observadas baixas concentrações de N nos tecidos, e encontrados pequenos e numerosos nódulos brancos nas raízes, inefetivos na fixação de nitrogênio. Os efeitos observados puderam ser superados, por curto tempo, pela adição de fertilizante nitrogenado ao solo contaminado, comprovando assim a falta da fixação de nitrogênio pelas bactérias. Realizando diluição do solo contaminado em outro não contaminado, os autores testaram o efeito de concentrações crescentes destes metais na fixação de N₂, e

encontraram uma redução de 50% desta em concentrações dos metais de 165 mg Zn/kg, 60 mg Cu/kg, 7,3 mg Ni/kg e 5,3 mg Cd/kg, extraíveis por EDTA (McGrath e Brookes, 1988; Angle *et al.*, 1993).

A inefetividade da nodulação, ou seja, a ausência de fixação do nitrogênio atmosférico pelo microsimbionte após a nodulação da planta hospedeira, foi observada por Chaudry *et al.* (1993), que comprovaram que a redução do conteúdo de nitrogênio nas plantas, clorose e enfezamento de trevo não eram devidos à fitotoxidez dos metais, mas pela ausência da fixação de N₂, pois os sintomas foram reduzidos pela adição de fertilizante nitrogenado. Giller *et al.* (1993) associa isto ao fato de que em solos contaminados por metais pesados, devido à prolongada adição de lodo de esgoto, somente ocorre a sobrevivência de estirpes inefetivas de rizóbio. Angle *et al.* (1993) confirmaram que *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* isolados de solos contaminados por vários anos são inefetivos na fixação de N₂.

As bactérias do solo têm sido divididas em três grupos: sensíveis, tolerantes e resistentes. Doelman, Jansen e Michels (1994) classificaram que, para zinco e cádmio, a sensibilidade é demonstrada pela ausência de crescimento bacteriano em concentrações de 5 e 0,5 mg/l destes elementos, respectivamente, e resistência é definida como um distinto crescimento na presença de 50 e 16 mg/l, respectivamente.

Visando-se obter estirpes de rizóbio, que beneficiem no crescimento de leguminosas biorremediadoras, vários trabalhos tem sido desenvolvidos para avaliar a tolerância/resistência destes à metais, bem como a capacidade de nodular em condições de estresse. A tolerância de bactérias fixadoras de nitrogênio varia dentre as espécies e estirpes obtidas, sendo que estas podem diferir somente pelo local de onde foram isoladas. Angle *et al.* (1993), observaram que estirpes de *R. leguminosarum* bv. *trifolii* isoladas de solo com adição de lodo de esgoto contaminado foram mais tolerantes à toxidez de Cu e Zn (1,0 - 2,0 e 100 - 200 µg/ml, respectivamente) do que aquelas isoladas de solo adubado por esterco de jardim e do que as biovars *phaseoli* e *viciae*, bem como das espécies *R. meliloti* e *R. fredii*. *Bradyrhizobium japonicum* foi mais tolerante à contaminação que todas as demais observadas, aos níveis de 500 µg Zn/ml, 5,0 µg Cu/ml, 7,5 µg Cd/ml e 5 µg Ni/ml. Dados similares foram observados por Giller *et al.* (1993), que comprovaram a menor tolerância de *R. meliloti* a metais do que *B. leguminosarum* bv. *trifolii* e *R. loti*. Chaudry, McGrath e Giller (1992) encontraram um

aumento na tolerância a Zn por estirpes de *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* isoladas de solo contaminado pela adição de lodo de esgoto, e sugeriram uma ordem decrescente de toxidez em solução: Cu>Cd>Ni>Zn. Smith e Giller (1992), encontraram estirpes efetivas de *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* em cinco solos contaminados pela adição de lodo de esgoto e despojo de minas de metais, e a redução na sobrevivência de estirpes desta espécie com o aumento do conteúdo de metais foi observada por Turner, Giller e McGrath (1993).

A tolerância destas bactérias tem sido atribuída a fatores fisiológicos das células, Beveridge and Doyle (citados por Angle *et al.*, 1993) atribuem-na à cápsula polissacarídea ao redor da bactérias de crescimento lento (*Bradyrhizobium*) que se ligam e sequestram os metais, impedindo assim a absorção destes elementos. Alexander (citado por Angle, 1993) atribui, a tolerância destas bactérias, ao fato de causarem uma reação alcalina em seu nicho adjacente, reduzindo assim a solubilidade e atividade destes metais. Duxbury e Bicknell (1983), observaram que, em geral, bactérias Gram negativas isoladas de solos australianos, são mais tolerantes a metais que bactérias Gram positivas. Não se sabe como estes microrganismos adquirem a tolerância a estes metais, Duxbury e Bicknell (1983) citam que pode ser mediada por transferência plasmidial, mutação cromossômica ou por pertencerem a um grupo de organismos que são inerentemente tolerantes. A hipótese da mutagenicidade em estirpes de *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* pelo alumínio, foi reforçada pelo estudo de Oclave, Johnson e Wood (1994), que observaram aumento na mobilidade de algumas sub-estirpes de *Bradyrhizobium* estirpe USDA 143, após exposição a este elemento, contudo as taxas de nodulação e fixação de N₂ foram reduzidas.

A grande maioria dos trabalhos realizados sobre o efeito da contaminação do solo por metais pesados na nodulação e na fixação biológica do nitrogênio atmosférico em leguminosas arbóreas e herbáceas, encontrados na literatura, relatam dados obtidos de áreas temperadas, e a contaminação normalmente é atribuída à adição ao solo de lodo de esgoto urbano contaminado por metais pesados. Assim, a aplicabilidade destes resultados torna-se difícil ao nosso ambiente tropical, portanto torna-se necessária a realização de estudos com plantas e solos tropicais degradados pela contaminação por estes elementos, sejam eles adicionados ao solo através dos fertilizantes ou compostos orgânicos ricos nestes elementos, ou ainda pelo descarte de rejeitos industriais provenientes de siderúrgicas.

III. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo constou de 3 experimentos realizados em casa-de-vegetação do Departamento de Ciência do Solo - DCS, na Universidade Federal de Lavras - UFLA, onde foram testados os efeitos de diferentes níveis de contaminação do solo por metais pesados no desenvolvimento de plantas leguminosas, para tanto utilizou-se um solo proveniente da Companhia Mineira de Metais - CMM, localizada em Três Marias - MG, contaminado acidentalmente pelo escoamento de resíduos da indústria que alcançaram uma pequena área de vegetação nativa de cerrado que foi severamente degradada, a preocupação ambiental dos dirigentes da companhia levou-os a firmar um convênio com o DCS/UFLA, de forma a buscar soluções para remediar os danos causados ao meio ambiente e revegetar a área em questão.

O solo contaminado proveniente da CMM foi classificado como Latossolo Vermelho Amarelo Plíntico, segundo Ribeiro Filho (1997), com teores de metais iguais a 18600 mg/dm³; 135 mg/dm³, 600 mg/dm³ e 596 mg/dm³ de Zn, Cd, Pb e Cu, respectivamente, além de outros com menores teores. Para avaliar o impacto de doses crescentes de metais pesados sobre o desenvolvimento e nodulação das espécies utilizadas foi realizada uma mistura entre o LVP contaminado e um Latossolo Vermelho Escuro não contaminado, coletado na região de Jaguará - MG, com teores de 7 mg/dm³ e 4 mg/dm³ de Zn e Cu respectivamente, com pH em água de 5,8, e 17 mg P/dm³; 38 mg K/dm³; 4,3 cmol Ca/dm³; 0,7 cmol Mg/dm³ e 0,1 cmol Al/dm³, e teor de carbono de 1,6%, solo este que a partir de agora chamaremos de solo diluente. As misturas (V/V), considerando-se as densidades de ambos os solos, foram realizadas visando-se obter níveis de contaminação desejados para cada um dos experimentos, com solo contaminado em relação ao solo diluente, sendo que este último foi utilizado como testemunha (0% de contaminação). Estas foram realizadas para cada diluição desejada separadamente e em seguida foi realizada uma adubação de manutenção para as plantas, visando fornecer a quantidade suficiente de nutrientes para o desenvolvimento das plantas, sem que ocorresse deficiência de nenhum deles. A adubação foi realizada de forma líquida, tendo esta sido preparado em

suficiente de nutrientes para o desenvolvimento das plantas, sem que ocorresse deficiência de nenhum deles.

A adubação foi realizada de forma líquida, tendo esta sido preparado em laboratório utilizando-se sais p.a.. A Tabela 1.1 apresenta as doses utilizadas dos nutrientes e as fontes utilizadas na confecção do adubo líquido. Não foi fornecido nitrogênio para não afetar a nodulação das plantas, exceto no experimento III, como será discutido adiante.

A calagem foi realizada pelo método da saturação de bases visando-se elevá-la a 60%, tendo em vista que o solo diluente já possuía originalmente uma saturação de bases igual a 70%, a calagem foi realizada somente no solo contaminado antes da mistura. Foi utilizado calcário dolomítico (PRNT=100) e após a aplicação o solo foi mantido úmido e coberto por cerca de 21 dias para incubação.

TABELA 1.1. Doses, em mg/dm³, e fontes utilizadas na fertilização líquida do experimento visando uma adubação de manutenção das culturas.

Nutriente	P	K	S	B	Cu	Co	Mo
Dose	200	150	40	0,5	1,5	0,1	0,1
Fontes	H ₃ PO ₄ KH ₂ PO ₄	K ₂ SO ₄ KH ₂ PO ₄	K ₂ SO ₄ CuSO ₄ . 5H ₂ O	H ₃ BO ₃	CuSO ₄ . 5H ₂ O	CoCl ₂ . 6H ₂ O	Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O

Os inoculantes de rizóbio foram preparados com estirpes comprovadamente eficientes quanto à nodulação e à fixação de nitrogênio para as respectivas espécies, conforme recomendação da EMBRAPA/CNPAB e obtidas da coleção do Laboratório de Microbiologia do Solo, do DCS/UFLA. Estas estirpes foram riscadas meio YMA (Yeast Manitol Agar, segundo Vincent, 1970) sólido para avaliação de sua autenticidade e pureza. Colônias isoladas foram transferidas para meio YMA semi-sólido, e após cerca de 5 a 7 dias de crescimento, este foi misturado à mesma quantidade, em peso, de turfa esterilizada, obtendo-se assim um inoculante específico para cada espécie estudada. Todo este procedimento foi realizado em laboratório, sob severas condições de assepsia.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software SAEG (Universidade Federal de Viçosa), sendo que para os dados de número de nódulos a análise estatística foi realizada utilizando-se a transformação $\sqrt{x + 1}$.

Para se avaliar o impacto dos níveis crescentes de contaminação do solo provenientes das diluições realizadas com o LVp contaminado, utilizou-se da seguinte fórmula para se obter o Índice de Tolerância das espécies em cada nível de contaminação em relação à testemunha.

$$IT = \frac{NC}{CT} \times 100 \quad \text{onde: } IT = \text{Índice de Tolerância;} \\ NC = \text{Valor da Variável em cada Nível de Contaminação;} \\ CT = \text{Valor da Testemunha na Variável.}$$

III.1. Experimento 1: Desenvolvimento e Nodulação de Leguminosas em Misturas de Solos com Diferentes Níveis de Metais Pesados.

O experimento foi realizado no período de novembro de 1995 a fevereiro de 1996, onde o desenvolvimento e a nodulação de Tamboril (*Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong.) - de hábito arbóreo, Sesbania (*Sesbania virgata* (L.) Merr.) e Leucena (*Leucaena* Benth. sp.) - arbustivas e Siratro (*Macroptilium atropurpureum* Urb.) - herbácea, inoculadas com as estirpes BR 4406 (*Bradyrhizobium japonicum*), BR 5401 (*Azorhizobium* sp.), BR 827 (*Sinorhizobium* sp.) e INPA 173A (*Bradyrhizobium elkanii*), respectivamente, foram semeadas em misturas contendo 15%, 30%, 45% e 60% de solo contaminado em relação ao solo não contaminado, sendo este último utilizado como testemunha (0%)

O experimento foi conduzido em potes com capacidade de 500 ml, preenchidos com as diluições do solo contaminado. As sementes foram recobertas com os respectivos inoculantes de rizóbio, e semeadas 3 por pote. Após a germinação foi realizado o desbaste de forma a manter-se apenas uma planta por vaso. A duração deste foi de 90 dias, em um delineamento inteiramente casualizado, utilizando-se 5 níveis de contaminação do solo por metais e 8 repetições por tratamento. Ao final foram avaliados os pesos da matéria seca da parte aérea e de raízes, e o número e peso de nódulos frescos. A análise estatística foi realizada para cada espécie individualmente.

III.2. Experimento 2: Metais Pesados em Leguminosas Herbáceas.

O experimento foi realizado no período de dezembro de 1996 a fevereiro de 1997, onde o desenvolvimento e a nodulação de cinco espécies herbáceas: Caupi Vermelho (*Vigna unguiculata*(L.) Walp.), Feijão Bravo do Ceará (*Canavalia brasiliensis* M. e Benth.) , Mucuna Preta (*Mucuna aterrima* (Piper & Tracy) Merr. sinonímia *Stizolobium aterrimum*) e Mungo Verde (*Vigna radiata* (L.) Wilczek), inoculadas com as estirpes BR 2001, BR 2613, BR 2405 e BR 2801, respectivamente, todas pertencentes ao gênero *Bradyrhizobium* sp., e Feijão Vagem UEL-1 (*Phaseolus vulgaris*) inoculada com a estirpe BR 322 (*Rhizobium tropici*), foram semeadas em misturas contendo 5%, 10% e 20% de solo contaminado em relação ao solo não contaminado, sendo este último utilizado como testemunha (0%)

Para condução deste experimento foram utilizados vasos (3,5 dm³), onde foram colocados cerca de 2,5 dm³ dos solos devidamente diluídos, nas concentrações desejadas, onde foram realizadas a calagem e a adubação líquida. As sementes foram recobertas com os inoculantes, e semeadas 3 em cada vaso e após a germinação foi realizado um desbaste visando-se manter apenas uma planta por vaso.

O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado, utilizando-se 5 espécies leguminosas inoculadas com estirpes específicas e eficientes de bactérias fixadoras de nitrogênio, em 4 níveis de contaminação por metais pesados, com 5 repetições. A análise estatística dos dados foi realizada para cada espécie separadamente.

O tempo de condução do experimento foi de no máximo 60 dias, as espécies Feijão Vagem UEL-1 e Mucuna Preta foram avaliadas aos 40 e 50 dias respectivamente, momento em que iniciavam a frutificação. Durante toda a duração do experimento os vasos foram mantidos úmidos.

A cada 10 dias, desde a germinação das primeiras sementes até a data da avaliação, foi medido o crescimento das plantas, pela sua altura, obtida medindo-se a distância entre o colo da planta e a gema apical mais distante, na espécie Feijão Bravo do Ceará não foi realizada esta avaliação, devido ao seu rápido crescimento, o que dificultou a medição.

Para se avaliar o impacto da contaminação no desenvolvimento das plantas pelas medidas das alturas obtidas a cada 10 dias, calculou-se a taxa de crescimento relativo das espécies em relação à testemunha, obtida pela fórmula:

$$TCR = \frac{Md. Contaminação}{Md. Testemunha}$$

onde a média da altura das espécies, em cada período de 10 dias, em cada nível de contaminação é dividido pela altura média da respectiva testemunha, ou seja, no nível 0%,

obtendo-se assim os dados apresentados na Tabela IV.2 e plotados nas Figuras IV.3 a IV.6.

Ao final do experimento foram avaliados a área foliar total das plantas, utilizando-se um medidor automatizado LI-COR Model LI-3000A, os pesos da matéria seca da parte aérea e do sistema radicular, o número e peso fresco de nódulos e a atividade da nitrogenase destes nódulos.

A avaliação da atividade da nitrogenase foi realizada pela técnica de Redução de Acetileno. Os nódulos coletados de cada planta foram colocados em tubos de 10 ml, hermeticamente fechados, de onde foi retirada uma alíquota de 1 ml do ar e injetada a mesma quantidade de acetileno, após uma hora de reação retirou-se 1 ml de gás do interior do tubo e avaliou-se as concentrações de Etileno e Acetileno nesta amostra por cromatografia gasosa, utilizando um equipamento VARIAN STAR 3400 CX.

Os dados de crescimento em altura das plantas não foram analisados estatisticamente, sendo somente calculada a taxa de crescimento relativo para cada nível de contaminação, pela relação entre o incremento em altura da testemunha e o incremento em altura de cada tratamento imposto às plantas, em cada um dos períodos avaliados, estes dados foram plotados para melhor visualização dos resultados.

III.3. Experimento 3: Metais Pesados em Leguminosas Arbóreas com Diferentes Fontes de N (Mineral e Biológico).

O experimento foi realizado no período de dezembro de 1996 a fevereiro de 1997, onde foram testados os efeitos de quatro nível de contaminação do solo por metais pesados (5%, 10%, 20% e 40%) em um solo não contaminado (0% ou testemunha) no desenvolvimento de duas plantas leguminosas arbóreas (*Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong. e *Enterolobium timbouva* Mart.), juntamente com o efeito da inoculação pela estirpe BR 4406, e da adubação

mineral nitrogenada, para o qual foi realizado um tratamento que constou do fornecimento de nitrogênio, na forma de nitrato de amônia via líquida, sendo aplicados 50 ppm no transplante das mudas e 10 ppm em cobertura a cada 10 dias iniciando-se no 30º dia após o transplante.

As plântulas pré-germinadas em vermiculita estéril em câmara de crescimento, foram transplantadas para tubetes com capacidade de 350 ml, foram previamente preenchidos com as diluições dos solos. Após cerca de 5 dias das mudas instaladas foi realizada a inoculação das estirpes de rizóbio por pipetagem no colo das plântulas.

O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado, utilizando-se 2 espécies leguminosas inoculadas, com adubação nitrogenada e sem fonte de nitrogênio (testemunha), em 5 níveis de contaminação por metais e 5 repetições de cada tratamento.

Foram avaliados os pesos da matéria seca da parte aérea e do sistema radicular além do número e peso fresco de nódulos, bem como a atividade da nitrogenase nos sistemas radiculares.

A avaliação da atividade da nitrogenase foi realizada pela técnica de Redução de Acetileno. Os sistemas radiculares das plantas foram colocados em recipientes de 350ml, hermeticamente fechados, de onde foi retirada uma alíquota de 35 ml do ar e injetada a mesma quantidade de acetileno, para obtenção de uma concentração de 10% deste gás, após uma hora de reação retirou-se 1 ml de gás e avaliou-se as concentrações de Etileno e Acetileno na amostra por cromatografia gasosa, utilizando um equipamento VARIAN STAR 3400 CX.

A análise estatística das variáveis foi realizada de forma a avaliar o efeito dos 5 níveis de contaminação do solo por metais pesados e das 3 formas de fornecimento de nitrogênio para cada espécie independentemente, em um experimento fatorial 5 x 3, com 5 repetições cada.

IV - RESULTADOS

IV.1. Experimento 1: Desenvolvimento e Nodulação de Leguminosas em Misturas de Solos com Diferentes Níveis de Metais Pesados.

Os pesos da matéria seca da parte aérea e de raízes, e número e peso da matéria fresca de nódulos em todas as espécies utilizadas no experimento, estão apresentados nas Figuras IV.1 e IV.2, a seguir. A Tabela IV.1 apresenta os Índices de Tolerância de todas as variáveis avaliadas, nos cinco níveis de contaminação estudados.

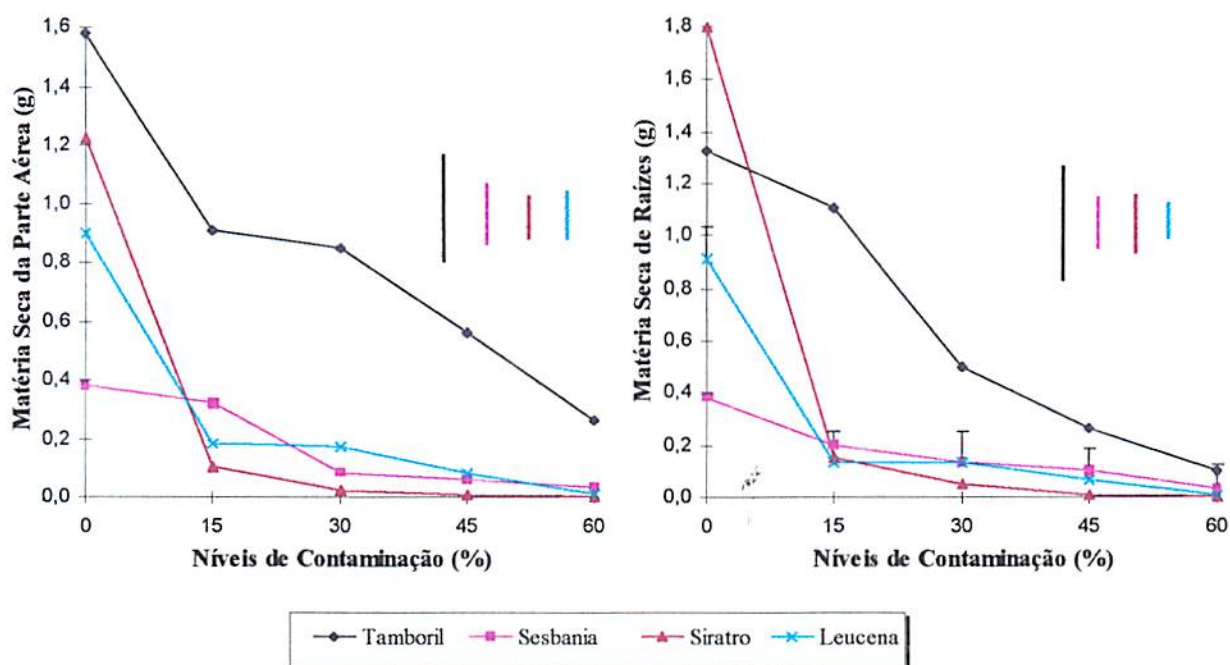


FIGURA IV.1. Pesos, em gramas, da matéria seca da parte aérea e do sistema radicular de quatro espécies leguminosas crescidas em cinco níveis de contaminação do solo por metais pesados. As barras verticais, de cada gráfico, representam as D.M.S., a 1%, para contaminação em cada espécie.

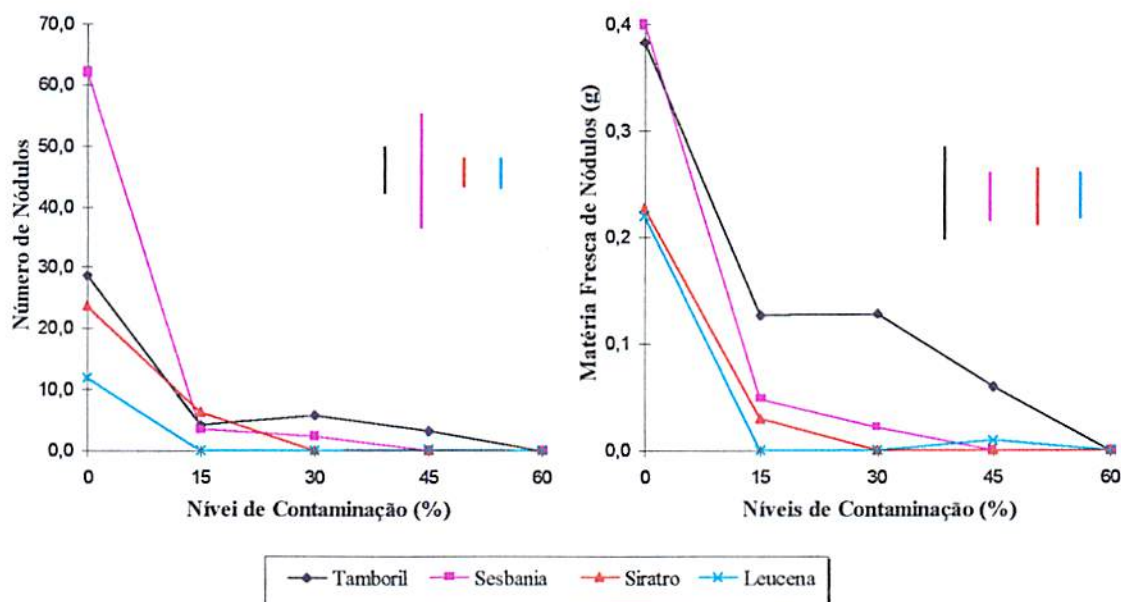


FIGURA IV.2. Número e Peso da Matéria Fresca, em gramas, de nódulos de quatro espécies leguminosas crescidas em cinco níveis de contaminação do solo por metais pesados. As barras verticais, de cada gráfico, representam as D.M.S., a 1%, para contaminação em cada espécie.

TABELA IV.1. Índices de Tolerância dos pesos das matérias secas da parte aérea e de raízes, número e peso da matéria fresca de nódulos de quatro espécies leguminosas crescidas em cinco níveis de contaminação do solo por metais pesados.

Espécie	Contaminação (%)	Parte Aérea (g Mat. Seca)	Raiz (g Mat. Seca)	Nódulos (g Mat. Fresca)	Número de Nódulos
Tamboril	0	100,00	100,00	100,00	100,00
	15	57,48	83,57	32,99	14,35
	30	53,76	37,77	33,33	20,00
	45	35,31	19,93	15,69	11,74
	60	16,63	7,65	0,00	0,00
Sesbania	0	100,00	100,00	100,00	100,00
	15	82,89	52,44	11,88	5,65
	30	19,74	33,88	5,33	3,63
	45	15,45	26,71	0,00	0,00
	60	7,24	14,99	0,00	0,00
Siratro	0	100,00	100,00	100,00	100,00
	15	8,38	8,42	13,00	26,60
	30	1,63	2,64	0,00	0,00
	45	0,41	0,35	0,00	0,00
	60	0,00	0,00	0,00	0,00
Leucena	0	100,00	100,00	100,00	100,00
	15	20,25	21,72	0,00	0,00
	30	19,14	22,13	0,00	0,00
	45	8,66	10,66	0,55	1,06
	60	0,13	1,02	0,00	0,00

Observou-se que o aumento na concentração de metais pesados no solo ocasionou um efeito deletério sobre todas as variáveis analisadas, analisando-se as inclinações das retas nos gráficos acima, e os índices de tolerância, poderemos analisar melhor a resistência e/ou tolerância das espécies com o aumento da contaminação.

Para a matéria seca da parte aérea observou-se que a espécie sesbania foi a que sofreu o menor impacto até 15% de contaminação, entretanto nos níveis superiores a redução foi muito alta, prejudicando assim o desenvolvimento vegetativo, já a espécie tamboril, apesar de ter sofrido uma redução para 57% em relação à testemunha a 15% de contaminação, nos níveis superiores o impacto foi menor que o observado para as demais espécies.

Siratro e leucena foram as espécies mais afetadas a 15% de contaminação, para o peso da matéria seca de raízes, sendo que tamboril e sesbania obtiveram resultados semelhantes, obtendo valores próximos para o índice de tolerância nos níveis superiores, enquanto que siratro a 45% e leucena a 60%, praticamente não toleram a contaminação.

A nodulação, avaliada pelo peso da matéria fresca e número de nódulos também foi severamente afetada pela presença de metais no solo. A 15% de contaminação siratro obteve a maior quantidade de nódulos, mas nos níveis superiores a presença destes não foi observada, sesbania teve uma alta redução no número de nódulos e em leucena só não houve nodulação na presença de metais ao nível de 45% de contaminação, tamboril foi a única espécie em que ocorreu nodulação até o nível de 45%, apesar de a quantidade de nódulos ser baixa, se analisada em relação à testemunha. Para o peso fresco dos nódulos os resultados foram semelhantes, mas os índices de tolerância foram superiores aos observado para o número de nódulos nas espécies tamboril e sesbania.

A análise estatística dos dados obtidos neste experimento estão apresentados no Anexo I, juntamente com as curvas de regressão melhores ajustadas para estes dados.

IV.2. Experimento 2: Metais Pesados em Leguminosas Herbáceas.

A altura das plantas a cada 10 dias de desenvolvimento, a taxa de crescimento relativo, os pesos das matérias secas de parte aérea e raízes, área foliar total, número e peso da matéria fresca e atividade da nitrogenase dos nódulos, se encontram na Tabela IV.2 e Figuras IV.3 a IV.7, respectivamente.

TABELA IV.2. Altura Média, em cm, obtida a cada 10 dias após a emergência das plântulas, de quatro espécies leguminosas herbáceas sob 4 níveis crescentes de contaminação do solo por metais pesados.

Caupi Vermelho				
Dias	Níveis de Contaminação			
	0%	5%	10%	20%
10	8,60	6,70	6,20	4,10
20	10,80	6,90	6,30	4,10
30	14,90	6,90	6,30	4,10
40	22,40	7,20	6,60	4,40
50	23,10	7,40	6,60	4,56
60	25,80	7,40	6,60	4,60

Mucuna Preta				
Dias	Níveis de Contaminação			
	0%	5%	10%	20%
10	45,60	14,90	31,20	3,60
20	123,00	44,90	87,40	4,80
30	201,40	188,60	166,80	5,00
40	242,40	220,20	197,00	10,40
50	268,60	240,60	220,40	22,80

Feijão Vagem UEL-1				
Dias	Níveis de Contaminação			
	0%	5%	10%	20%
10	7,90	6,40	5,70	4,50
20	13,00	9,60	8,20	6,00
30	20,30	12,00	8,20	6,40
40	33,00	19,20	11,60	6,40

Mungo Verde				
Dias	Níveis de Contaminação			
	0%	5%	10%	20%
10	8,60	6,70	6,20	4,10
20	10,80	6,90	6,30	4,10
30	14,90	6,90	6,30	4,10
40	22,40	7,20	6,60	4,40
50	23,10	7,40	6,60	4,56
60	25,80	7,40	6,60	4,60

Pôde-se observar pelas taxas de crescimento relativo das espécies estudadas que a contaminação do solo por metais pesados afeta o desenvolvimento vegetativo das plantas durante todos os estágios de crescimento, mesmo nos níveis mais baixos de contaminação.

O comportamento das espécies perante os tratamentos foi similar, exceto para Mucuna Preta, que teve seu desenvolvimento mais afetado em relação à testemunha nos dois primeiros estágios de avaliação, recuperando-se na fase intermediária de seu desenvolvimento, a 5% de contaminação. Ao nível de 10% de contaminação o impacto foi menos acentuado em todos os períodos de avaliação, como observado na Figura IV.5. Já sob efeito da contaminação mais elevada (20%) o impacto foi homogêneo e drástico durante todo o desenvolvimento das plantas.

Já sob efeito da contaminação mais elevada (20%) o impacto foi drástico e homogêneo durante todo o desenvolvimento das plantas.

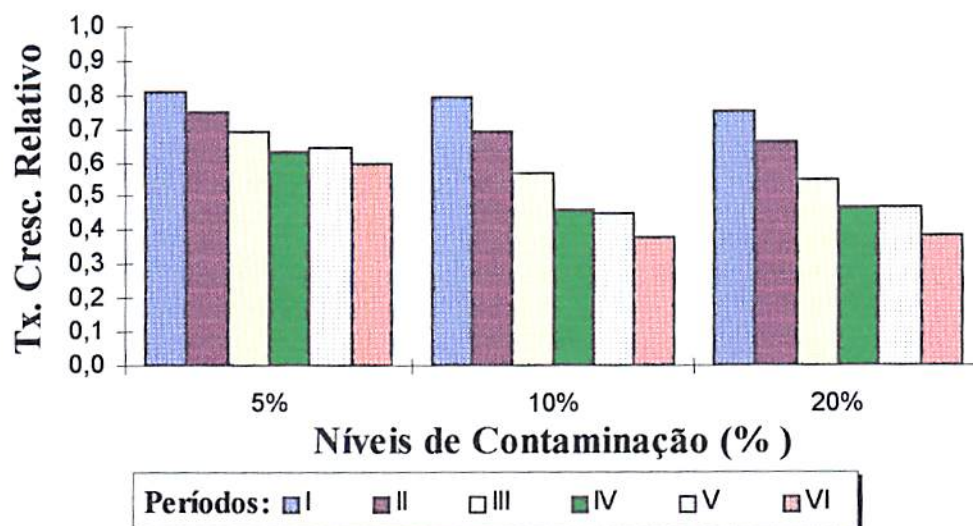


FIGURA IV.3. Taxa de crescimento relativo de Caupi Vermelho, em 6 períodos de 10 dias cada, em três níveis de contaminação do solo por metais pesados.

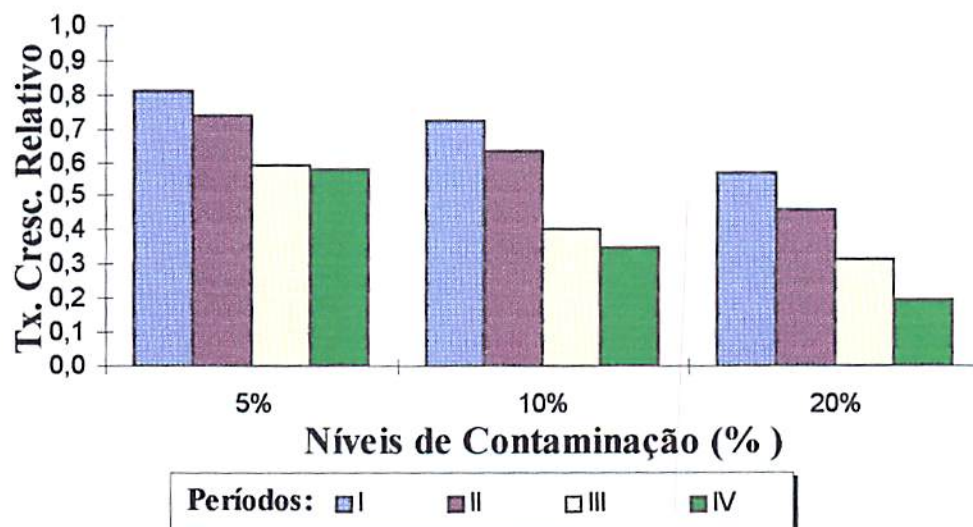


FIGURA IV.4. Taxa de crescimento relativo de Feijão Vagem UEL-1, em 4 períodos de 10 dias cada, em três níveis de contaminação do solo por metais pesados.

Figure 1. The effect of the concentration of the inhibitor on the rate of polymerization of styrene in the presence of the inhibitor.

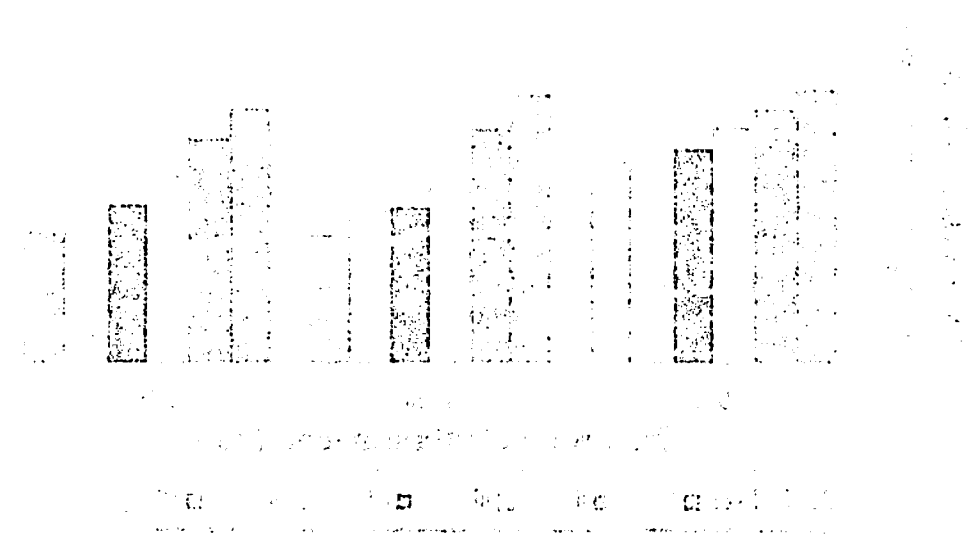


Figure 2. The effect of the concentration of the inhibitor on the rate of polymerization of styrene in the presence of the inhibitor.

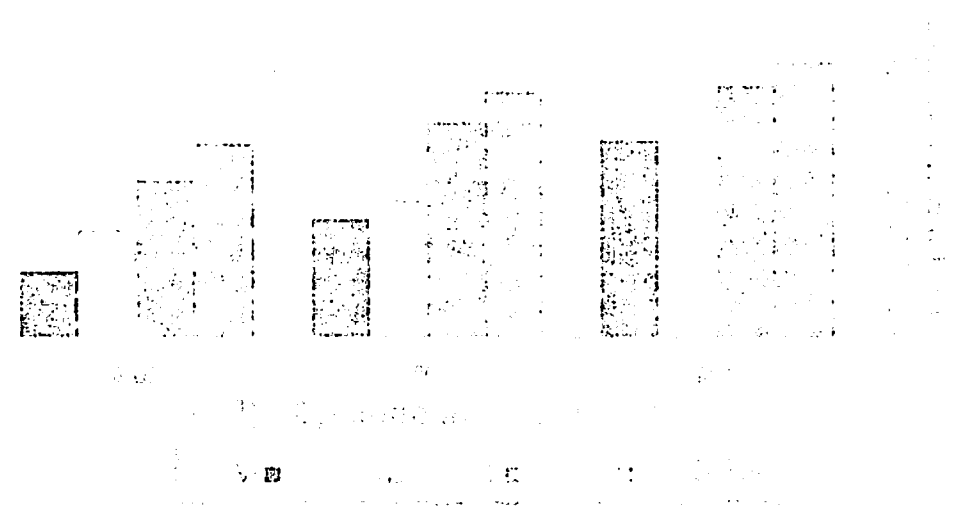


Figure 3. The effect of the concentration of the inhibitor on the rate of polymerization of styrene in the presence of the inhibitor.

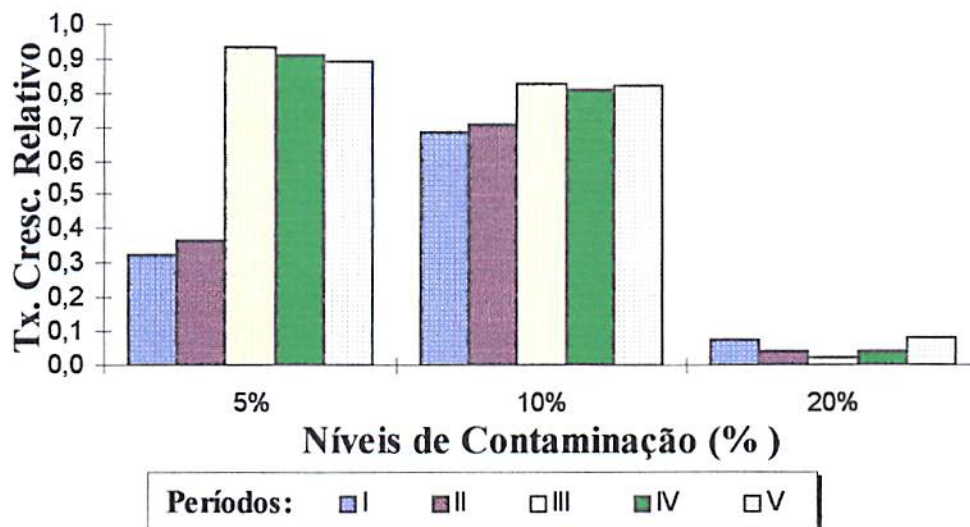


FIGURA IV.5. Taxa de crescimento relativo de Mucuna Preta, em 5 períodos de 10 dias cada, em três níveis de contaminação do solo por metais pesados.

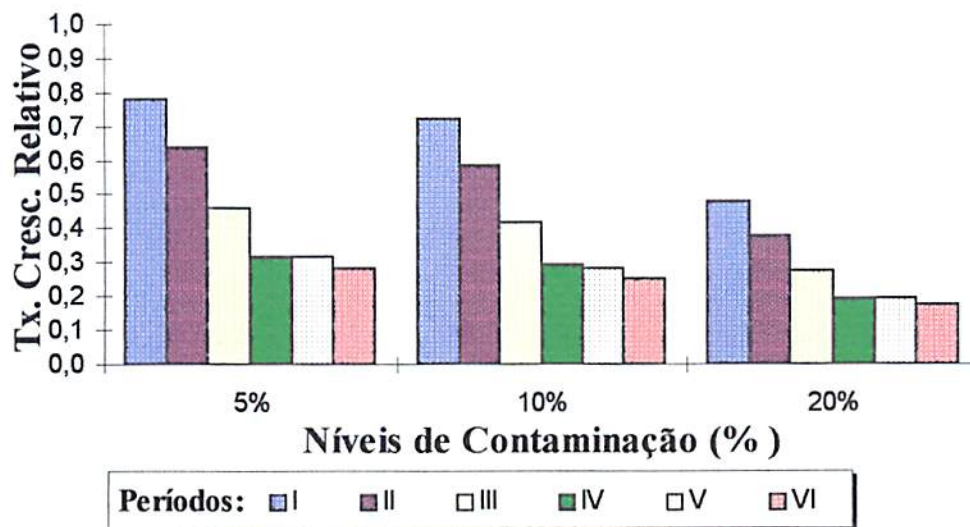


FIGURA IV.6. Taxa de crescimento relativo de Mungo Verde, em 6 períodos de 10 dias cada, em três níveis de contaminação do solo por metais pesados.

Nas demais espécies avaliadas a resposta foi semelhante, havendo um declínio na taxa de crescimento com o decorrer do tempo de desenvolvimento, tornando-se mais acentuado com o aumento da contaminação do solo por metais pesados, como demonstrado nas Figuras IV.3, IV.4 e IV.6.

Em todas as demais variáveis avaliadas houve decréscimo nos valores obtidos com o aumento da contaminação do solo por metais pesados, conforme indicado nos gráficos IV.7 a IV.10 e na Tabela IV.3.

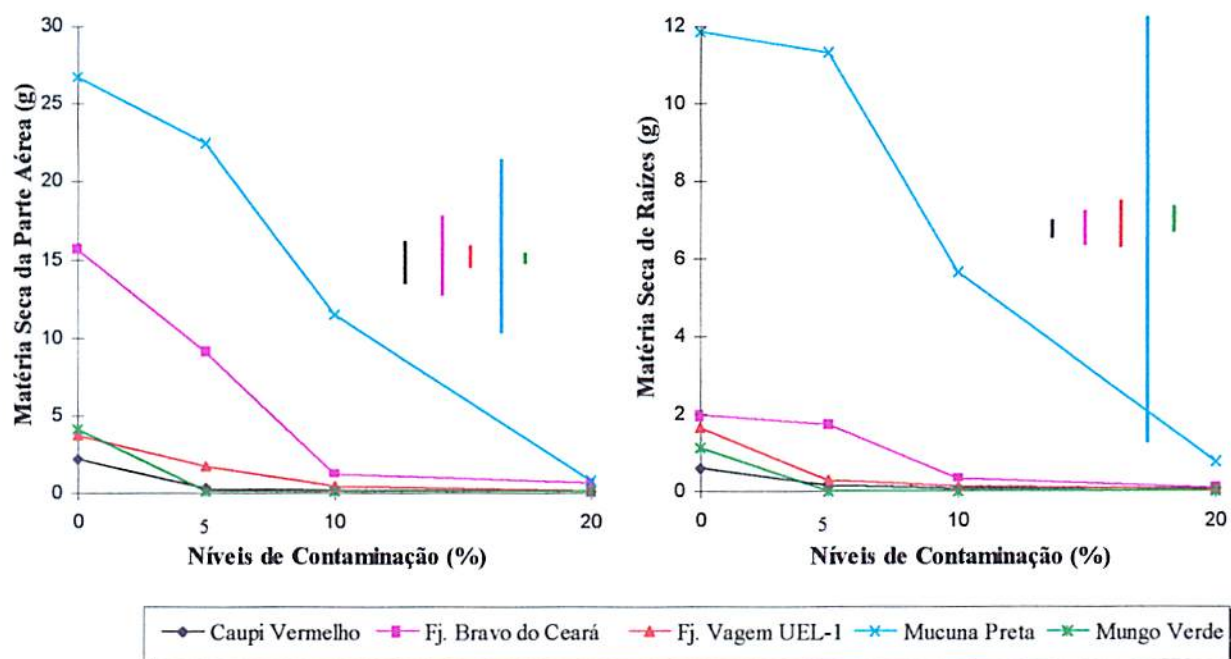


FIGURA IV.7. Pesos, em gramas, da matéria seca da parte aérea e do sistema radicular de quatro espécies leguminosas crescidas em quatro níveis de contaminação do solo por metais pesados. As barras verticais, de cada gráfico, representam as D.M.S., a 1%, para contaminação em cada espécie.

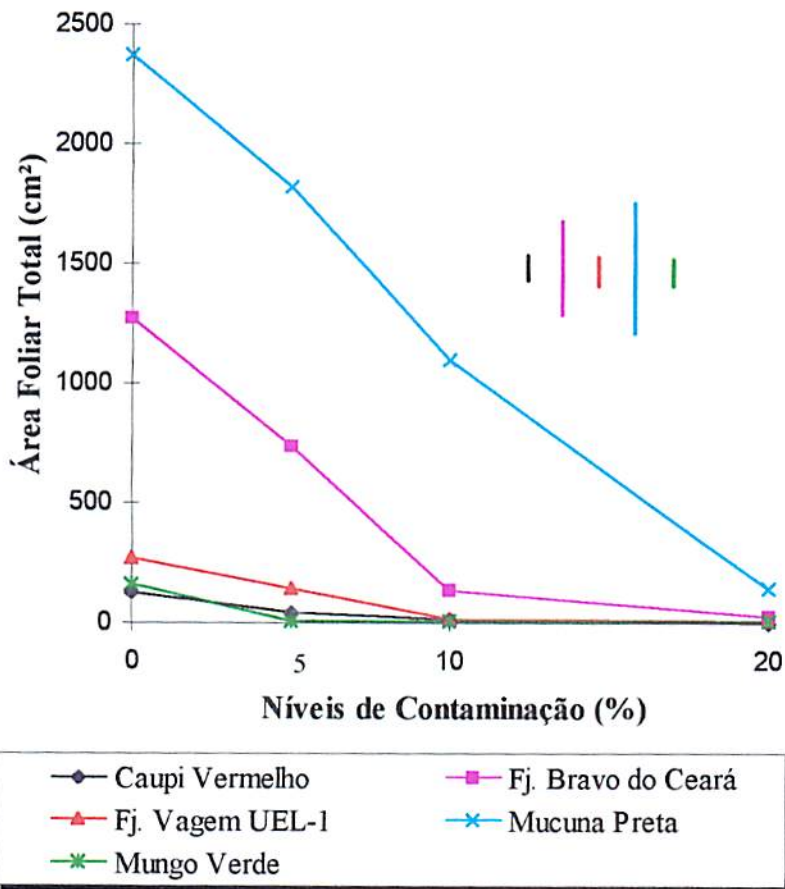


FIGURA IV.8. Área Foliar Total de cinco espécies leguminosas crescidas em quatro níveis de contaminação do solo por metais pesados. As barras verticais representam as D.M.S., a 1%, para contaminação em cada espécie.

Mucuna Preta foi a espécie que sofreu menor impacto da contaminação por metais pesados no peso da matéria seca da parte aérea, nos níveis de 5 e 10%, seguida de Feijão Bravo do Ceará e Feijão Vagem UEL-1. Resultados semelhantes foram observados para o peso da matéria seca de raízes, onde a espécie Caupi Vermelho superou ao Feijão Vagem UEL-1, em ambas as variáveis a espécie Mungo Verde sofreu o maior impacto, tendo redução de cerca de 98% nos valores obtidos (Tabela IV.3).

Outra variável relacionada com a parte aérea avaliada neste experimento foi a área foliar total das plantas (Figura IV.8), onde o índice de tolerância (Tabela IV.3) demonstrou que, novamente, Mucuna Preta superou as demais quanto à sua resistência e/ou tolerância aos níveis de contaminação do solo por metais pesados, seguido das espécies Feijão Bravo do Ceará e Feijão Vagem UEL-1 que

obtiveram resultados semelhantes e Caupi Vermelho, novamente Mungo Verde sofreu os maiores índices de redução.

As espécies Caupi Vermelho e Mungo Verde tiveram uma reduzida nodulação nas testemunhas e nenhuma nodulação quando em presença dos metais. Dentre as demais espécies, Mucuna Preta foi a espécie em que a simbiose foi mais tolerante aos metais, principalmente no nível de contaminação de 5% do solo contaminado, onde apesar de sofrer uma redução de cerca de 60% no número de nódulos, o peso fresco destes a 5% foi levemente superior à testemunha, igualando-se estatisticamente a esta (Figura IV.9, Anexo II), a 10% de contaminação houve nova redução no número de nódulos e uma redução no peso fresco destes, no maior nível a nodulação foi inibida nesta espécie. Feijão Bravo do Ceará e Feijão Vagem UEL-1 somente produziram nódulos a 5% de contaminação, sendo esta inibida nos níveis superiores, o impacto em Feijão Vagem UEL-1 foi superior ao observado em Feijão Bravo do Ceará .

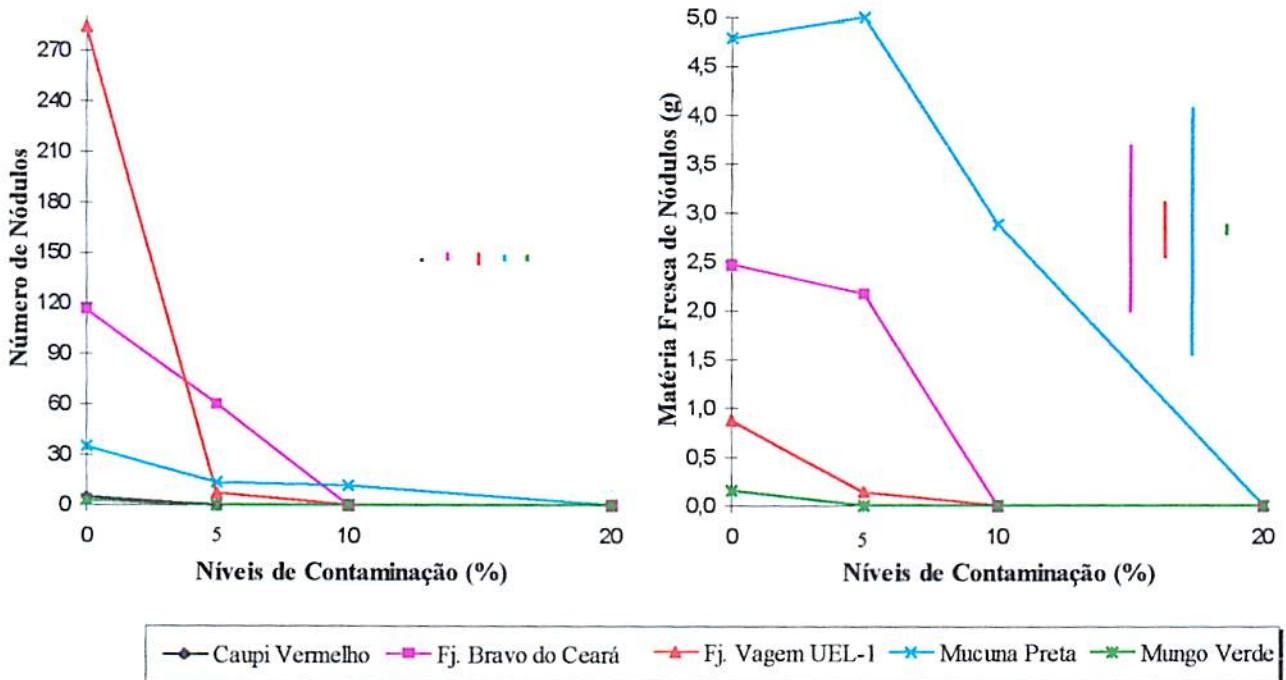


FIGURA IV.9. Número e Peso da matéria fresca, em gramas, de nódulos de cinco espécies leguminosas crescidas em quatro níveis de contaminação do solo por metais pesados. As barras verticais, de cada gráfico, representam as D.M.S., a 1%, para contaminação em cada espécie.

A atividade da nitrogenase, obtida pela técnica de redução de acetileno, realizada em todos os nódulos obtidos nas plantas, só foi detectada em Feijão Bravo do Ceará, Feijão Vagem UEL-1 e Mucuna Preta. No nível de 5% de contaminação houve aumento de cerca de 38% para Feijão Bravo do Ceará, 119% para Feijão Vagem UEL-1 e 60% para Mucuna Preta nos valores obtidos nesta variável. Quando em presença de 10% de solo contaminado não foi observada atividade da nitrogenase para Feijão Bravo do Ceará e Feijão Vagem UEL-1, enquanto que para Mucuna Preta o resultado obtido foi 42% superior ao da testemunha (Tabela IV.3).

TABELA IV.3. Índices de Tolerância dos pesos das matérias secas da parte aérea e de raízes, área foliar, número e peso da matéria fresca de nódulos e atividade da nitrogenase de cinco espécies leguminosas crescidas em quatro níveis de contaminação do solo por metais pesados.

Espécie	NC	Parte Aérea (g.mat.seca)	Raízes (g.mat.seca)	Nódulos		Área Foliar (cm ²)	Atividade da Nitrogenase (mmolC ₂ H ₄ /g.nod./h)
				Número	Peso (g.mat.fresca)		
Caupi	0	100,00	100,00	100,00	0,00	100,00	0,00
Vermelho	5	14,73	24,59	0,00	0,00	33,47	0,00
	10	7,14	14,75	0,00	0,00	12,04	0,00
	20	2,68	11,48	0,00	0,00	0,00	0,00
Feijão	0	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Bravo do Ceará	5	57,93	88,72	51,90	87,80	57,96	138,71
	10	7,74	15,90	0,00	0,00	10,36	0,00
	20	3,84	4,62	0,00	0,00	2,28	0,00
Feijão	0	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Vagem UEL-1	5	45,68	18,40	2,33	15,12	52,62	219,09
	10	10,27	7,98	0,00	0,00	6,48	0,00
	20	2,70	2,45	0,00	0,00	2,69	0,00
Mucuna	0	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Preta	5	83,93	95,45	40,46	104,60	76,82	160,47
	10	43,07	47,71	34,68	60,25	46,59	142,33
	20	3,03	6,58	0,00	0,00	5,91	0,00
Mungo	0	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00
Verde	5	2,43	1,79	0,00	0,00	4,42	0,00
	10	2,18	1,79	0,00	0,00	3,90	0,00
	20	1,21	1,79	0,00	0,00	2,78	0,00

As curvas de regressão que melhor se ajustam para as variáveis acima descritas e seus respectivos coeficientes de determinação estão relacionados no Apêndice II.

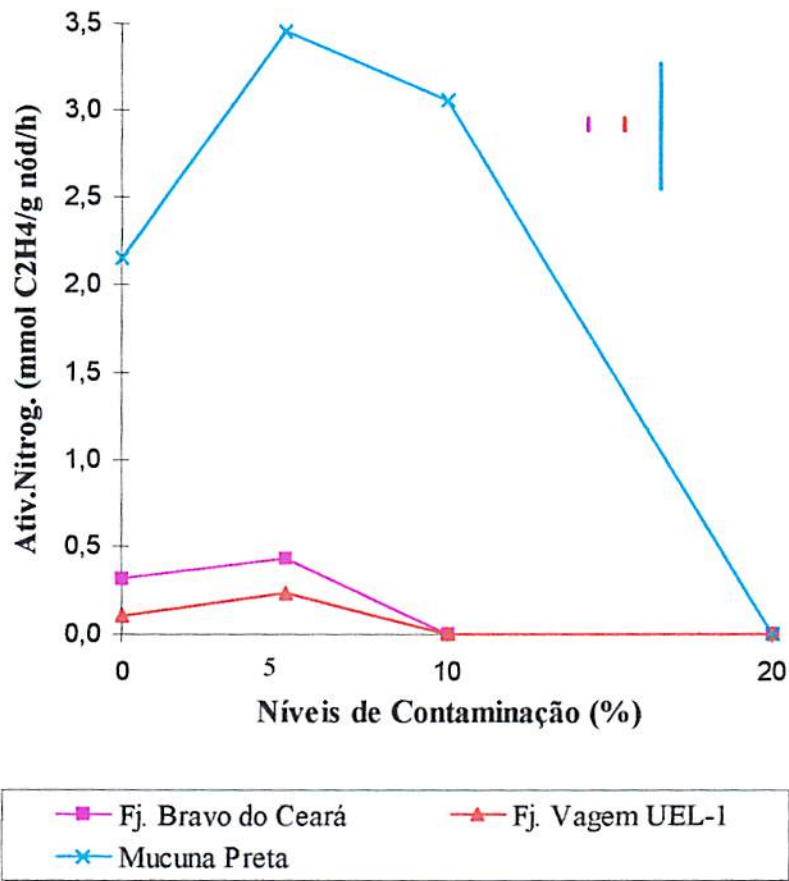


FIGURA IV.10. Atividade da Nitrogenase, em mmol C₂H₄/g. nódulos/hora, dos nódulos obtidos de quatro espécies leguminosas crescidas em quatro níveis de contaminação do solo por metais pesados. As barras verticais representam as D.M.S., a 1%, para contaminação em cada espécie.

IV.3. Experimento 3: Metais Pesados em Leguminosas com Diferentes Fontes de N (Mineral e Biológico).

Os resultados deste experimento foram analisados separadamente para cada uma das duas espécies analisadas, em experimento fatorial com três formas diferentes de fornecimento de nitrogênio (biológico, mineral e sem fornecimento) em cinco diluições do solo contaminado.

A análise de variância, com os níveis de significância e os coeficientes de variação, e os testes de médias das variáveis analisadas para as espécies Tamboril e Timbouva, estudadas neste experimento estão apresentadas no apêndice III.

IV.3.1. Tamboril - *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong.

A análise de variância para a espécie tamboril sob três formas de fornecimento de nitrogênio em cinco níveis de contaminação do solo por metais pesados mostrou que não houve interação significativa entre os tratamentos realizados para nenhuma das variáveis avaliadas e que a forma de fornecimento de nitrogênio somente afetou os dados relacionados à nodulação, entretanto todas as variáveis foram afetadas pela presença de solo contaminado.

Os pesos das matérias secas da parte aérea e de raízes de tamboril somente foram afetados pelo aumento dos níveis de contaminação do solo por metais pesados (Figura IV.11), onde observou-se uma queda acentuada para a parte aérea no nível de contaminação de 5%, com uma posterior retomada de desenvolvimento a 10%, entretanto inferior à testemunha, nos níveis superiores houve uma queda progressiva, estatisticamente os valores a 0, 5 e 10% foram semelhantes. Para dados de raízes, o peso da matéria seca sofreu uma pequena redução até 10%, estatisticamente os valores foram iguais, sendo que o aumento da concentração de metais ocasionou na redução do peso seco.

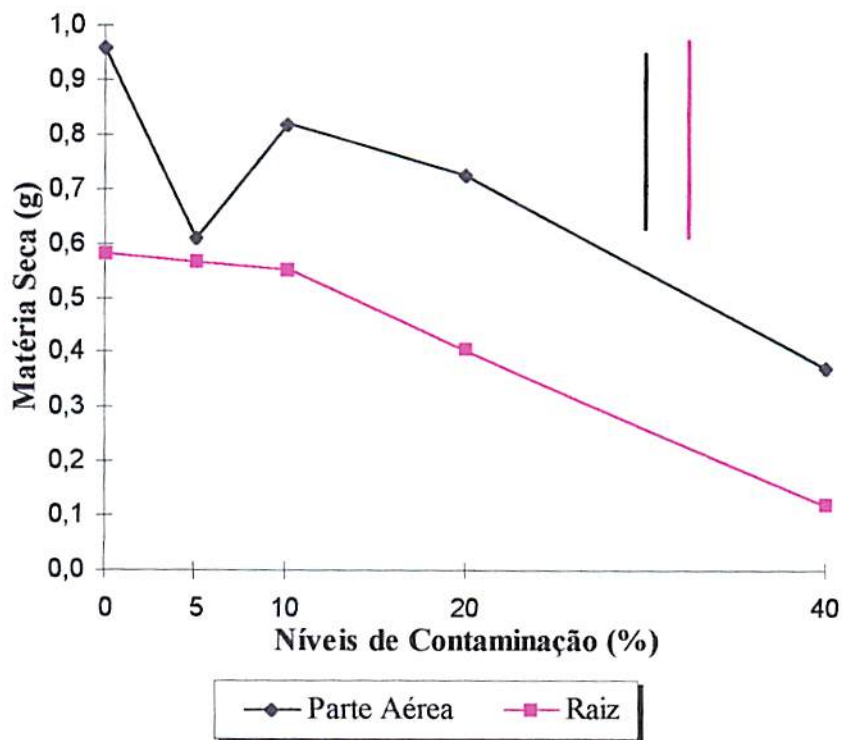


FIGURA IV.11. Peso das matérias secas da parte aérea e de raízes de Tamboril, em cinco níveis crescentes de contaminação do solo por metais pesados. Médias de 15 repetições. As barras verticais representam as D.M.S., a 1%, para contaminação em cada variável.

Observou-se que o índice de tolerância (Tabela IV.4) do sistema radicular de tamboril até o nível de contaminação 10% do solo contaminado manteve-se alto, próximo ao valor da testemunha, sofrendo um impacto mais alto somente a 40%.

TABELA IV.4. Índices de Tolerância de Tamboril inoculado, sob adubação nitrogenada mineral e sem fornecimento de nitrogênio, em cinco níveis de contaminação do solo .

NC %	Parte Aérea (g.mat.seca)	Raiz (g.mat.seca)	Nódulos		Atv. Nitrog. (mmol C ₂ H ₄ /g.nod/h)
			Número	(g.mat.fresca)	
0	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
5	63,81	97,12	86,28	75,74	169,69
10	85,52	94,95	94,73	97,79	101,78
20	75,71	70,12	82,76	60,31	33,63
40	38,62	20,62	34,46	10,25	22,28

A contaminação do solo e a forma de fornecimento de N tiveram efeito significativo na nodulação de tamboril (Anexo III). O número de nódulos obtidos em tamboril somente foi afetado significativamente à partir do nível de contaminação 20%, sendo que neste nível o resultado ainda foi semelhante ao obtido para a testemunha, sendo diferente somente a 40% onde o índice de tolerância foi menor, estes mesmos resultados foram observados para o peso da matéria fresca destes (Figura IV.12). Quando analisados os resultados referentes ao efeito da forma de fornecimento de nitrogênio (Figura IV.13) observou-se que tanto para o número quanto para o peso da matéria fresca de nódulos a inoculação foi igual à testemunha, superando a adução mineral.

A atividade da nitrogenase, afetada somente pelas diluições do solo contaminado (Anexo III) sofreu um efeito positivo da presença de metais pesados no solo, quando no nível de contaminação 5%, sendo superior à testemunha e com um aumento de cerca de 70%, a 10% o resultado foi igual à testemunha, somente sofrendo um impacto nos níveis superiores de contaminação (Tabela IV.4 e Figura IV.14).

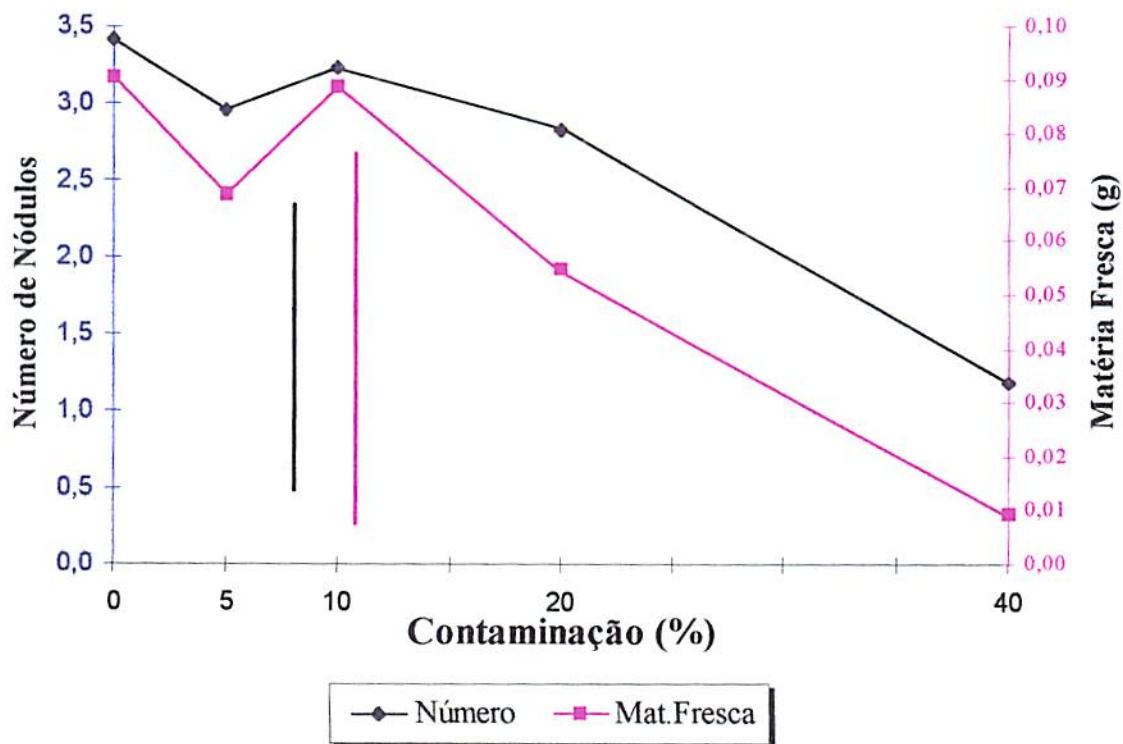


FIGURA IV.12. Número e Peso, em gramas, de nódulos obtidos de tamboril em cinco níveis de contaminação do solo. Média de 15 repetições. As barras verticais representam as D.M.S., a 1%, para contaminação em cada variável.

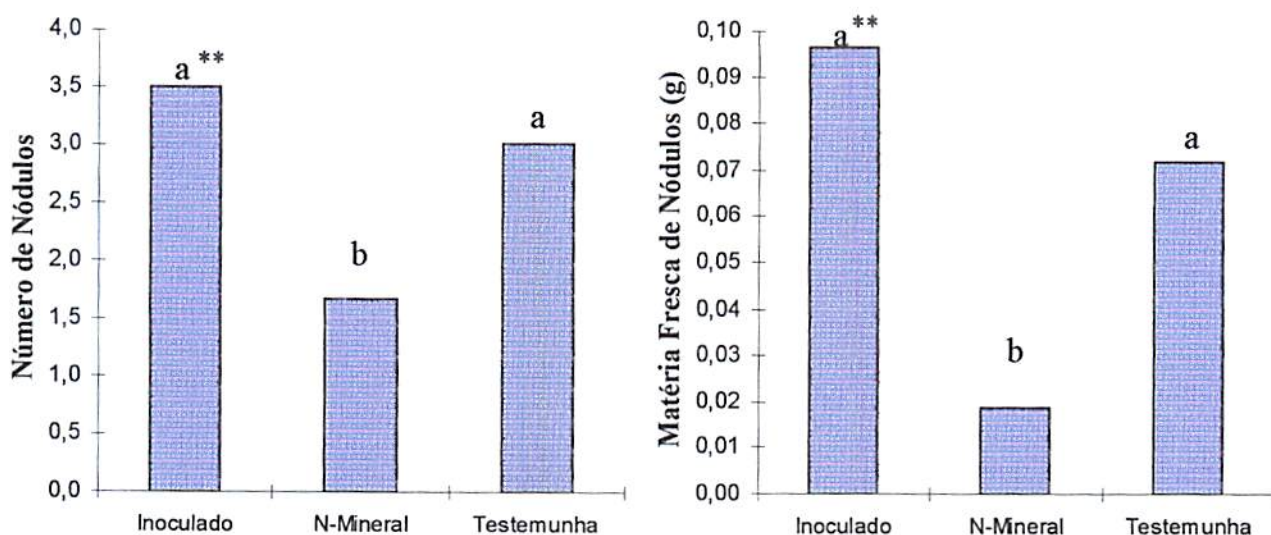


FIGURA IV.13. Número e peso fresco de nódulos obtidos em tamboril inoculada e com adubação nitrogenada mineral, comparativamente com a testemunha, na presença de metais pesados no solo. Médias de 15 repetições. ** - Indica teste de médias ao nível de significância de 1%

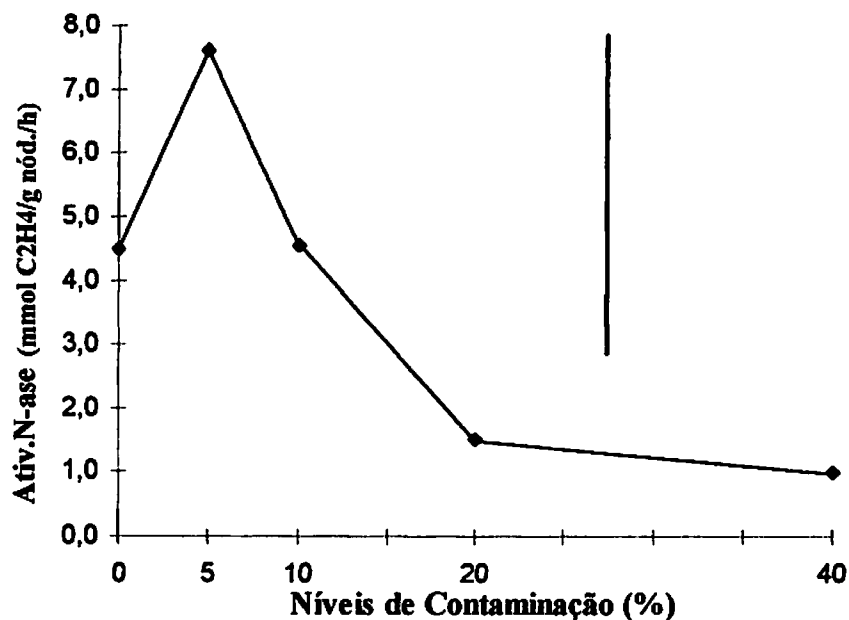


FIGURA IV.14. Atividade da Nitrogenase dos nódulos de tamboril e cinco níveis de contaminação do solo por metais pesados. Médias de 15 repetições. A barra horizontal representa a D.M.S. a 1%.

IV.3.2. Timbouva - *Enterolobium timbouva*

A espécie timbouva apresentou interação significativa, na análise de variância, entre os tratamentos de contaminação do solo e forma de fornecimento de nitrogênio para o peso matéria seca do sistema radicular, número e peso da matéria fresca de nódulos e atividade da enzima nitrogenase. A variável peso da matéria seca da parte aérea não apresentou interação significativa, entretanto ambos os tratamentos afetaram-na independentemente (Anexo IV).

Os resultados obtidos para peso da matéria seca da parte aérea, única variável que não demonstrou interação significativa na análise de variância, são apresentados nas Figuras IV.15 e IV.16, onde pode-se observar que os níveis crescentes de contaminação do solo por metais pesados proporcionaram redução nos pesos obtidos, entretanto percebe-se uma certa tolerância e/ou resistência desta espécie nos níveis mais baixos. Quando comparamos a fonte de nitrogênio observamos que o peso de plantas recebendo adubação mineral foi superior aos outros dois tratamentos.

TABELA IV.5. Índices de Tolerância de Timbouva em cinco níveis de contaminação do solo por metais pesados.

NC	Parte Aérea (g.mat.seca)	Raiz (g.mat.seca)			Número de Nódulos			Nódulos (g.mat.fresca)			Atv.Nit. (mmol C ₂ H ₄ /g.nod/h)	
		Inoc.	N-Min	Test	Inoc	N-Min	Test	Inoc	N-Min	Test	Inoc	Test
0	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
5	98,57	47,88	203,98	105,00	153,57	200,00	76,47	25,00	200,00	125,00	222,07	110,20
10	86,36	76,97	236,07	62,14	148,81	80,00	5,88	200,00	100,00	12,50	162,07	0,00
20	89,22	55,15	177,05	75,00	82,14	0,00	23,53	183,33	0,00	162,50	142,07	144,90
40	39,97	34,55	73,07	24,29	1,19	0,00	2,94	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

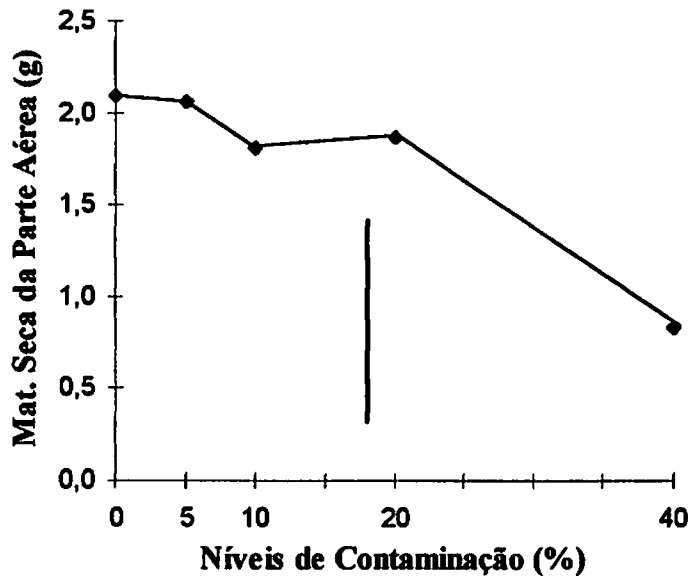


FIGURA IV.15. Peso da matéria seca, em gramas, da parte aérea de timbouva sob 5 níveis de contaminação do solo por metais pesados. Médias de 15 repetições. A barra horizontal representa a D.M.S. a 1%.

Os testes de médias das demais variáveis avaliadas no experimento e que apresentaram interação significativa entre os tratamentos aplicados, ou seja, contaminação do solo por metais pesados e forma de fornecimento de nitrogênio estão apresentados no Anexo IV. As Figuras IV.17 a IV.20 demonstram os resultados do efeito das doses crescentes de metais pesados no solo sobre estas variáveis em cada um dos tratamentos com adubação nitrogenada, inoculação e testemunha. As curvas de regressão para estes dados são apresentadas no Anexo IV.

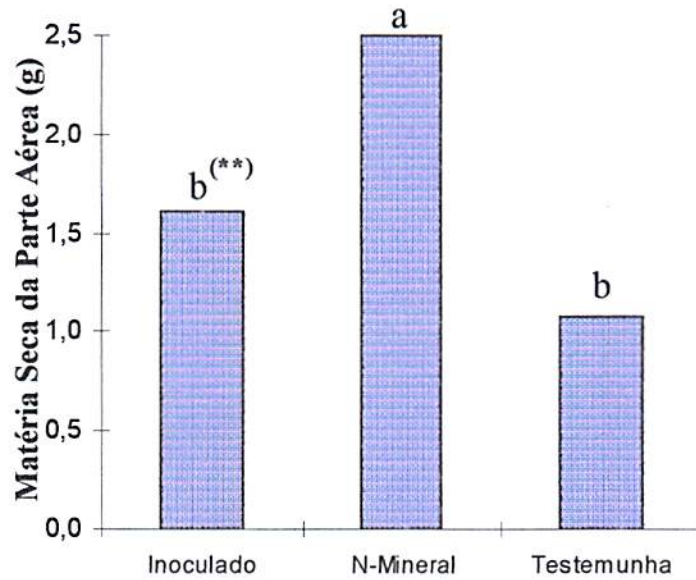


FIGURA IV.16. Peso da matéria seca, em gramas, da parte aérea de timbouva sob adubação nitrogenada, inoculação e sem fornecimento de nitrogênio. Médias de 15 repetições. (**)- significativo a 1%

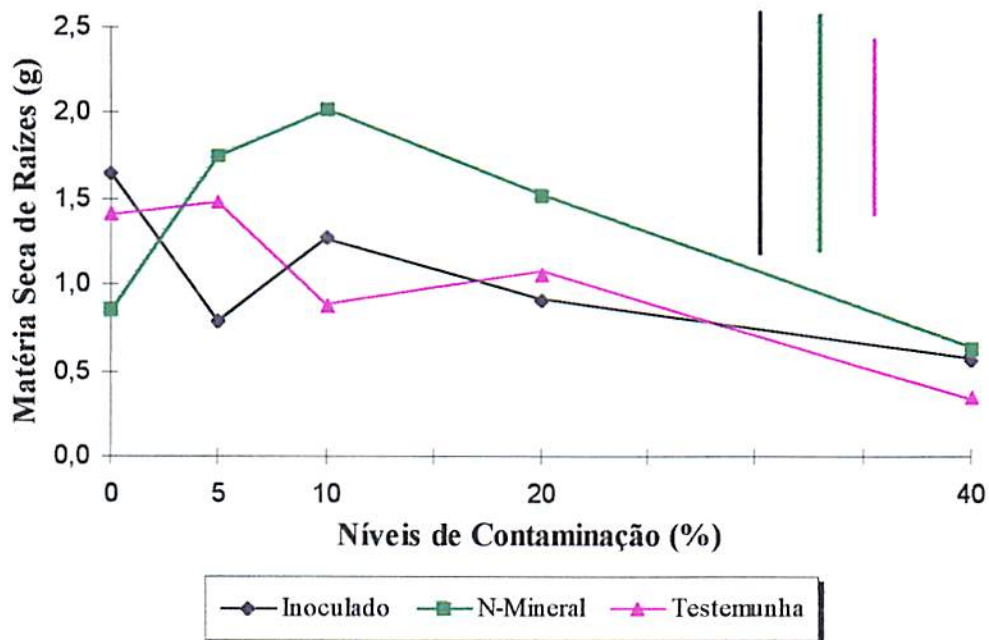


FIGURA IV.17. Peso da matéria seca do sistema radicular, em gramas, de timbouva sob adubação nitrogenada, inoculação e na testemunha em cinco níveis de contaminação do solo por metais pesados. Médias de 5 repetições. As barras verticais representam as D.M.S., a 1%, para contaminação em cada tratamento.

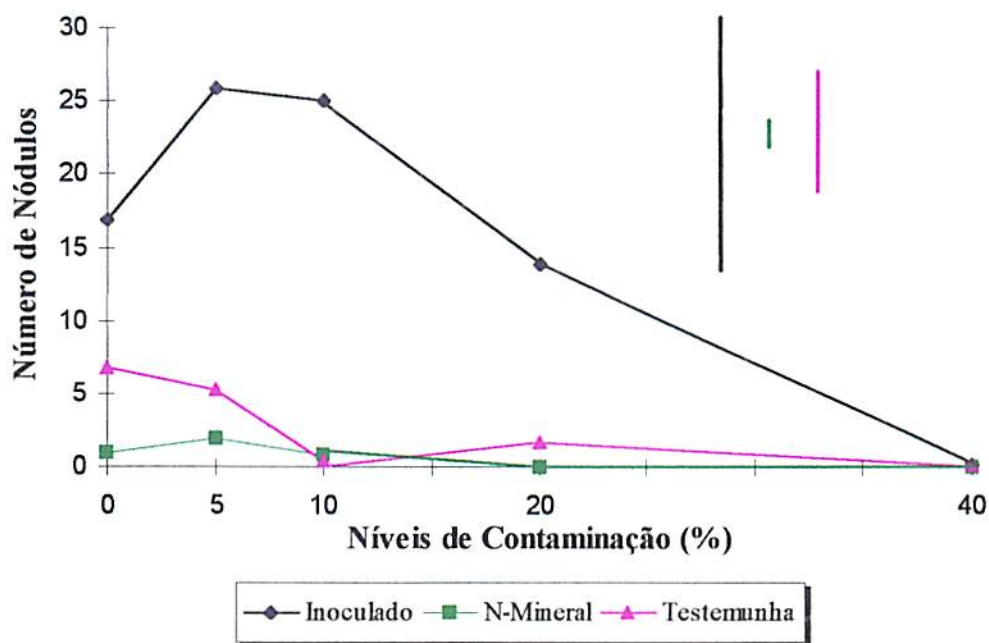


FIGURA IV.18. Número de nódulos obtidos do sistema radicular de timbouva sob adubação nitrogenada, inoculação e na testemunha em cinco níveis de contaminação do solo por metais pesados. Médias de 5 repetições. As barras verticais representam as D.M.S., a 1%, para contaminação em tratamento.

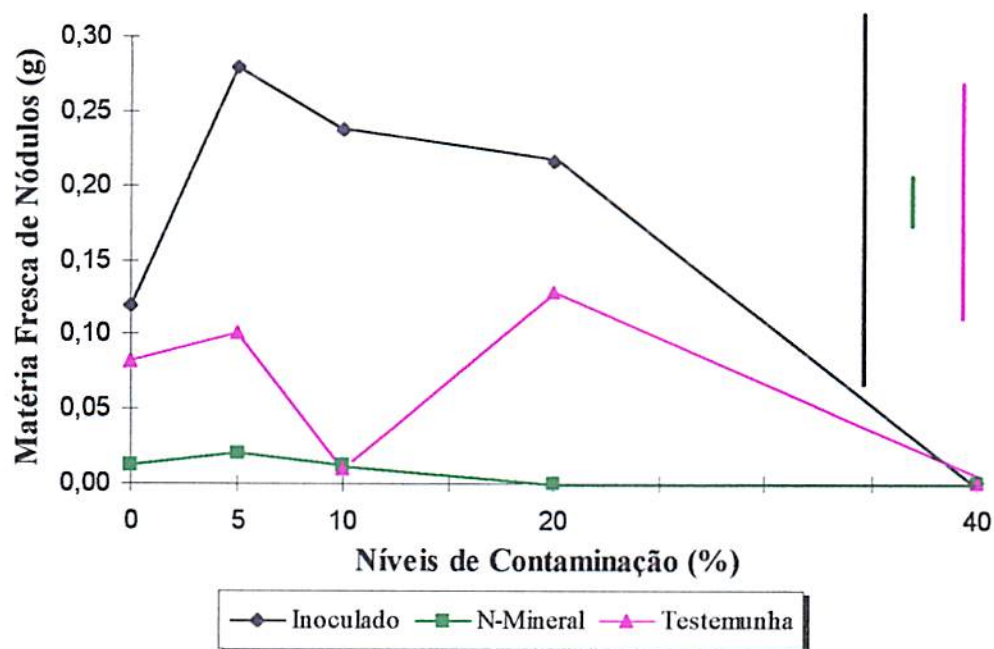


FIGURA IV.19. Peso da matéria fresca dos nódulos, em gramas, obtidos do sistema radicular de timbouva sob adubação nitrogenada, inoculação e na testemunha em cinco níveis de contaminação do solo por metais pesados. Médias de 5 repetições. As barras verticais representam as D.M.S., a 1%, para contaminação em cada tratamento.

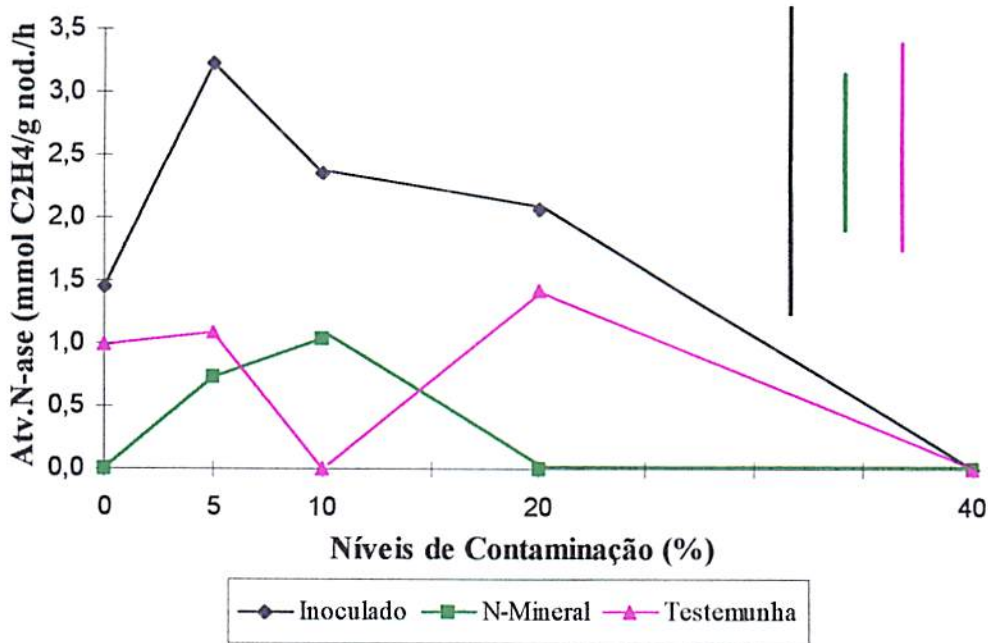


FIGURA IV.20. Atividade da enzima nitrogenase, em mmol C₂H₄/g.nod./h, do nódulos obtidos do sistema radicular de timbouva sob adubação nitrogenada, inoculação e na testemunha em cinco níveis de contaminação do solo por metais pesados. Médias de 5 repetições. As barras verticais representam as D.M.S., a 1%, para contaminação em cada tratamento.

Observou-se que para o peso das matérias seca do sistema radicular houve uma superioridade dos tratamentos com adubação nitrogenada, principalmente na presença de metais no solo, provavelmente devido ao efeito destes elementos sobre as estirpes inoculadas, inibindo a simbiose e a fixação de nitrogênio atmosférico.

A nodulação demonstra a superioridade do tratamento com plantas inoculadas, em relação à testemunha, entretanto foram também obtidos nódulos nos dois outros tratamentos devido à presença de estirpes nativas. Os níveis crescentes de metais no solo ocasionaram um aumento nos valores do número de nódulos obtidos e peso da matéria fresca destes e também, na atividade da nitrogenase, nos níveis inferiores de contaminação.

V - DISCUSSÃO

A presença, em concentrações crescentes, de metais pesados no solo foi avaliada neste trabalho através de três experimentos seguindo metodologias diferentes de forma a se observar o efeito no desenvolvimento e na nodulação de várias espécies leguminosas. Observou-se que em todos os estudos realizados houve um efeito deletério no desenvolvimento das espécies com o aumento das concentrações dos metais.

Esta redução variou entre as espécies indicando serem algumas mais tolerantes e/ou resistentes que outras, entretanto o efeito negativo sobre a produção de parte aérea e raízes são concordantes com a literatura, onde encontramos exemplos do efeito deletério dos metais pesados sobre o desenvolvimento de diferentes espécies vegetais, tais como milho (Nascimento, Fontes e Neves, 1997), feijão (Pereira e Nascimento, 1997) e alfafa (Ibekwe *et al.*, 1996).

No primeiro experimento, onde estudou-se as espécies tamboril, sesbania, siratro e leucena, em níveis de contaminação do solo que variaram de 0 a 60%, observou-se que para os dados de parte aérea, sesbania apresentou o maior índice de tolerância no nível de contaminação 15%, entretanto tamboril superou todas as demais espécies nos níveis de contaminação superiores, siratro foi a espécie mais sensível aos metais pesados, tendo sofrido uma redução de 92% no peso da matéria seca da parte aérea no nível de contaminação 5% do solo contaminado, para o sistema radicular de tamboril foi mais tolerante aos metais em todas os níveis de contaminação, seguido de sesbania, já siratro novamente foi a mais sensível.

Tamboril foi a espécie que obteve melhor tolerância e/ou resistência aos metais pesados, mas também foi afetada pela contaminação, sofrendo redução de quase 80% no desenvolvimento da parte aérea a 60%, a concentração mais alta de metais estudada e a 45% para raízes, apresentando um resultado superior ao obtido por Rojas, Siqueira e Moreira (1996) que observaram uma redução de

O número de nódulos obtidos e, conseqüentemente, o seu peso fresco foram severamente afetados pela contaminação do solo por metais pesados, ocorrendo a completa ausência de nodulação em alguns tratamentos.

Tamboril obteve melhores resultados para a nodulação, sendo que esta ocorreu até 45% de contaminação, em sesbania houve nodulação até 30%, e em siratro somente em 15%. Em leucena, apesar de ter sido a espécie mais afetada pela contaminação, foram encontrados alguns poucos nódulos efetivos, de cor rósea no interior, a 45% de contaminação do solo. Estatisticamente, em nenhum dos níveis de contaminação ocorreu nodulação semelhante à testemunha, somente em Siratro o número de nódulos, apesar de inferior à testemunha, foi superior à ausência de nodulação, ao nível de 15% de contaminação, nos demais tratamentos, a pouca nodulação ocorrida foi estatisticamente igual à ausência de nodulação.

Os resultados da nodulação das quatro espécies demonstram que a estirpe BR 4406, inoculada em tamboril, e que corresponde à espécie *Bradyrhizobium japonicum*, identificada por sequenciamento parcial do 16S rRNA (Moreira¹), foi a mais tolerante aos níveis crescentes de metais pesados no solo, tendo obtido maior número de nódulos que as demais espécies vegetais estudadas, ficando de acordo com os resultados obtidos por Angle *et al.* (1993) que observaram que *B.japonicum* foi mais tolerante que outras espécies de bactérias diazotróficas quando isoladas de solo com adição de lodo de esgoto contaminado por metais pesados. Giller *et al.* (1992) também demonstraram a maior tolerância desta espécie a metais do que *Rhizobium meliloti* (*Sinorhizobium meliloti*).

A espécie sesbania demonstrou resultados satisfatórios em todas as variáveis estudadas, chegando a superar tamboril em algumas destas e se igualar em outras, principalmente nos níveis mais baixos de contaminação. Leucena e siratro foram as espécies que mais sofreram com os tratamentos impostos, apesar de Leucena obter alguns resultados semelhantes a Sesbania.

Estes resultados estão em conformidade com a literatura consultada, onde relatam-se os efeitos deletérios da presença destes compostos tóxicos no solo sobre diferentes espécies (Nascimento, Fontes e Neves; 1997; Pereira e Nascimento; 1997; Ibekwe *et al.*; 1996). O fato da espécie Tamboril ser a mais tolerante e/ou resistente aos impactos ocasionados pela presença de

¹Moreira, Fátima M.S. - Departamento de Ciência do Solo, da Universidade Federal de Lavras - DCS/UFLA. 1997. (comunicação pessoal)

metais pesados no solo já era de se esperar, pois sendo esta uma espécie arbórea, possui crescimento mais lento que as demais, permitindo-lhe mais tempo para uma melhor adaptação aos efeitos tóxicos dos metais pesados, também era esperado o alto impacto sobre Siratro, única espécie de hábito herbáceo e crescimento mais rápido.

No segundo experimento foram avaliadas cinco espécies leguminosas herbáceas em níveis mais baixos de contaminação que os anteriormente utilizados. Dentre as espécies utilizadas neste estudo destacou-se o comportamento da Mucuna Preta nos níveis 5 e 10% de contaminação, onde o impacto dos metais diminuiu com o desenvolvimento vegetativo demonstrando uma capacidade de adaptação a este estresse. As demais espécies se comportaram de maneira semelhante, tendo sua taxa de crescimento reduzida com o passar do tempo e com o aumento da contaminação do solo pelos metais pesados, interessante citar o fato de que nos primeiros dez dias do desenvolvimento a 5% de contaminação as espécies Caupi Vermelho, Feijão Vagem UEL-1 e Mungo Verde sofreram o mesmo efeito quanto à redução na taxa de crescimento, ocorrendo neste estágio um decréscimo no seu desenvolvimento para cerca de 80% do obtido pelas testemunhas.

Os dados referentes ao peso da matéria seca da parte aérea demonstraram que Mucuna Preta obteve os melhores índices de tolerância que as demais espécies, indicando ser esta espécie viável para uso em adubação verde de áreas degradadas por metais pesados, devido a ter maior produção de massa e, conseqüentemente de "litter", com maior aporte de matéria orgânica e nutrientes ao solo, a espécie Feijão Bravo do Ceará obteve semelhança com Mucuna Preta quanto à produção de massa verde, mas somente a 5% de contaminação. Quanto à área foliar total a espécie Mucuna Preta foi novamente superior, entretanto Feijão Bravo do Ceará e Feijão Vagem UEL-1 apresentaram resultados semelhantes, indicando que estas três espécies possuem potencial para uso em recobrimento do solo, possibilitando sombreamento e conservação de água no solo.

O desenvolvimento do sistema radicular de todas as espécies foi afetado pelo contaminação crescente dos tratamentos, sendo que a 5% Mucuna Preta e Feijão Bravo do Ceará foram semelhantes, mas a 10% foi Mucuna Preta foi mais resistente. Assim, ambas as espécies possuem capacidade de uso como melhoradoras das características de solo contaminado por baixas concentrações de metais pelo desenvolvimento agressivo do sistema radicular, ocasionando melhoria na aeração e na retenção de umidade no solo. As demais espécies sofreram uma redução drástica no desenvolvimento radicular de cerca de 75% para Caupi Vermelho, 82% para Feijão Vagem UEL-1 e

98% para Mungo Verde no nível mais baixo de contaminação, sendo muito sensíveis para revegetação de áreas com metais pesados.

O severo impacto, no nível acima de 10% de contaminação do solo por metais pesados, sobre a nodulação de quase todas as espécies é um dado preocupante, pois indicou um possível problema quanto ao uso de inoculantes em áreas contaminadas por estes compostos químicos, inviabilizando o uso de leguminosas caso não seja feita uma adubação mineral nitrogenada. Dentre as espécies somente a Mucuna Preta conseguiu nodular a 10%, mas no nível superior foi afetada igualmente às outras, a 5% também houve nodulação de Feijão Bravo do Ceará e Feijão Vagem UEL-1, entretanto apesar da redução na nodulação destas espécies, a atividade da enzima nitrogenase não sofreu redução com a contaminação, pelo contrário foi superior à testemunha, mesmo com número reduzido de nódulos, que indica um aumento na atividade desta enzima que poderia vir a suprir os efeitos deletérios da toxidez dos metais pesados no solo. Neste caso as estirpes BR 2613, BR 322 e BR 2405, identificadas por Moreira²², inoculadas em Feijão Bravo do Ceará, Feijão Vagem UEL-1 e Mucuna Preta, respectivamente, podem ser indicadas para inoculação destas espécies para uso como adubação verde em áreas com baixo nível de contaminação do solo por metais pesados.

Exceto a estirpe BR 322, identificada como *Rhizobium tropici*, todas as demais utilizadas possuem características culturais de crescimento que poderiam caracterizá-las como pertencentes ao gênero *Bradyrhizobium*, assim os resultados obtidos para Feijão Bravo do Ceará e Mucuna Preta, mostrando menor impacto da contaminação sobre a nodulação destas estirpes, estariam de acordo com Angle *et al.* (1993) e Giller *et al.* (1992) que observaram a maior tolerância de *B.japonicum* a metais pesados que outras bactérias diazotróficas, entre elas algumas pertencentes ao gênero *Rhizobium*. A baixa nodulação das testemunhas em Caupi Vermelho e Mungo Verde indica que outros fatores influenciaram a nodulação destas espécies.

Em outro experimento realizado com tamboril e timbouva, duas leguminosas arbóreas, submetidas à inoculação, nitrogênio mineral e sem fornecimento de nitrogênio, em cinco níveis de contaminação do solo por metais pesados realizou-se a análise fatorial do experimento para cada uma das duas espécies. Para a espécie tamboril observou-se que não houve efeito diferenciado das formas de fornecimento de nitrogênio para os dados relativos ao desenvolvimento da planta, afetando

²²Moreira, Fátima M.S. - Departamento de Ciência do Solo, da Universidade Federal de Lavras - DCS/UFLA. 1997. (comunicação pessoal)

somente a nodulação desta espécie. Em alfafa, Ibekwe *et al.* (1996), demonstraram também não haver diferença entre a inoculação e o fornecimento mineral de nitrogênio.

Os pesos das matérias secas da parte aérea e de raiz sofreram reduções com o aumento da concentração de metais no solo, como observado na literatura e nos dados anteriormente discutidos, tendo-se obtido um alto índice de tolerância nestas variáveis, principalmente até o nível de 20%, onde a redução ficou em torno de 30%, diferentemente de Rojas, Siqueira e Moreira (1996) que obtiveram uma redução de 80% nesta mesma concentração.

Os dados referentes à nodulação, número e peso da matéria fresca de nódulos, demonstraram não ter havido diferença entre o tratamento inoculado e a testemunha, o que indica a provável presença de estirpes nativas no solo que devem ter nodulado as plantas, o que não veio a ocorrer no tratamento com adubação mineral, que apesar de ter ocorrido nodulação, não apresentou-se significativo.

A atividade da nitrogenase do sistema radicular de tamboril apresentou um aumento de cerca de 70% no nível de 5% e igualou-se à testemunha a 10%, sofrendo um maior impacto nos níveis superiores, este resultado está em concordância com aqueles obtidos no segundo experimento realizado neste trabalho, onde as espécies Feijão Bravo do Ceará, Feijão Vagem UEL-1, e Mucuna Preta tiveram aumentos de 40%, 120% e 60%, respectivamente, na atividade da nitrogenase de seus nódulos. Este aumento na atividade desta enzima talvez possa ser atribuído a algum mecanismo de defesa da simbiose, onde devido ao efeito fitotóxico dos metais sobre as plantas e o microsimbionte, que ocasionam uma redução no desenvolvimento das plantas, buscam uma maneira de suprir o fornecimento e/ou armazenamento de nitrogênio nos tecidos da planta, mantendo com isso um pequeno desenvolvimento vegetativo.

A outra espécie estudada neste experimento, a timbouva teve uma resposta diferenciada da obtida para tamboril, sendo que na análise de variância obteve-se interação significativa entre os níveis de contaminação e as formas de fornecimento de nitrogênio para todas as variáveis, exceto peso da matéria seca da parte aérea, que somente sofreu efeito dos níveis de contaminação, nesta variável obteve-se altos índices de tolerância até 20% de contaminação.

Houve aumento na produção do sistema radicular nos níveis de 5% e 10% de contaminação, ocorrendo uma redução nos níveis superiores, com fornecimento de nitrogênio mineral às plantas,

ficando acima dos valores obtidos para os tratamentos com inoculação e a testemunha, que sofreram redução nos pesos do sistema radicular em todos os níveis de contaminação.

Os dados referentes à nodulação demonstram a superioridade do tratamento onde as plantas foram inoculadas, comparados à testemunha, entretanto foram obtidos nódulos nos dois outros tratamentos, provavelmente devido à presença de estirpes nativas no solo diluente. Quanto ao efeito dos níveis crescentes de metais no solo sobre a nodulação das espécies observou-se que houve um aumento nos valores referentes ao número de nódulos obtidos, peso da matéria fresca destes e na atividade da nitrogenase, nos níveis inferiores de contaminação, sendo que a 5% foi estatisticamente superior à testemunha nas três variáveis, e para o número de nódulos isto também ocorreu a 10%, neste nível as outras duas variáveis foram estatisticamente iguais à testemunha, somente a 40% de contaminação houve um efeito negativo sobre os dados de nodulação, ficando estatisticamente inferiores à testemunha, estes resultados podem indicar que algum, ou alguns, dos metais presentes neste solo pode influenciar positivamente a nodulação desta espécie, quando em baixas concentrações no solo, já que um ligeiro aumento na concentração deste ocasiona um decréscimo na nodulação.

Os resultados diferenciados para as espécies tamboril e timbouva, pertencentes ao mesmo gênero *Enterolobium*, demonstram que o efeito deletério dos metais pesados não pode ser generalizado para espécies diferentes daquelas analisadas nos estudos, necessitando-se assim de maiores estudos que demonstrem o potencial de outras espécies na recuperação de áreas degradadas com metais pesados.

VI - CONCLUSÕES

- O aumento da concentração de metais pesados no solo causou um efeito deletério sobre o desenvolvimento vegetativo e nodulação de todas as espécies estudadas, as quais apresentaram respostas diferenciadas;
- Mucuna Preta apresentou alta resistência e grande produção de massa vegetal até o nível de 10% de contaminação;
- Feijão Bravo do Ceará e Feijão Vagem UEL-1 apresentaram uma certa tolerância aos metais, entre as espécies herbáceas;
- Ao contrário de Tamboril, em Timbouva houve maior desenvolvimento na presença de metais quando houve fornecimento de nitrogênio mineral;
- Mucuna Preta e Tamboril são as espécies mais promissoras para programas de revegetação de solos contaminados com metais pesados;
- Em níveis baixos de contaminação por metais no solo, houve estímulo da atividade da enzima nitrogenase na maioria das espécies estudadas;
- Estirpes de *Bradyrhizobium* nodularam em níveis mais elevados de contaminação, do que estirpes de *Azorhizobium* e *Rhizobium*, indicando maior tolerância destas;

VII - REFERÊNCIAS

- AMARAL SOBRINHO, N.M.B.; VELLOSO, A.C.X.; COSTA, L. M. Simulação de aterro de resíduos siderúrgicos: Movimento de metais pesados em colunas de solo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 24, v.2, Goiânia, 1993. **Resumos...** Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1993. p.295-296.
- ANGLE, J.S.; McGRATH, S.P.; CHAUDRI, A.M.; CHANEY, R.L.; GILLER, K.E. Inoculation effects on legumes grown in soil previously treated with sewage sludge. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.25, n.5, p.575-580, MAY. 1993.
- BAKER, A.J.M. Heavy metal accumulation and tolerance in british populations of the metallaphyte *Thlaspi caerulescens* J-and-C Presl (Brassicaceae). **New Phytologist.**, Cambridge, v.127, n.1, p.61-68, MAY. 1994.
- BAKER, A.J.M. Metal tolerance. **New Phytologist**, Cambridge, v.106, n.1, p.93-111, JAN. 1987.
- BONI, N.R.; ESPÍNDOLA, C.R. e GUIMARÃES, E.C. Uso de leguminosas na recuperação de um solo decapitado. In: SIMPÓSIO SUL-AMERICANO, 1, E SIMPÓSIO NACIONAL, 2, DE ÁREAS DEGRADADAS, Foz do Iguaçu, 1994. **Anais...** Curitiba: Fundação de Pesquisas Florestais, 1994. p.563-568.
- BROWN, G.; BRINKMANN, K. Heavy metal tolerance in *Festuca ovina* L. from contaminated sites in the Eifel Mountains, Germany. **Plant and Soil**, Dordrecht, n.143, v.2, p.239-247, JUNE. 1992.
- BROWN, S.L.; CHANEY, R.L.; ANGLE, J.S.; BAKER, A.J.M. Phytoremediation potential of *Thlaspi caerulescens* and *Bladder campion* for zinc- and cadmium-contaminated soil. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.23, n.6, p.1151-1157, NOV. 1995.
- CAMPELLO, E.F.C. O papel de leguminosas arbóreas noduladas e micorrizadas na recuperação de áreas degradadas (Parte I). In: RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS - 2 CURSO DE ATUALIZAÇÃO, Curitiba, 1996. **Anais...** Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 1996, p.09-16.
- CHAUDRI, A.M.; McGRATH, S.P.; GILLER, K.E.; RIETZ, E.; SAUERBECK, D.R. Enumeration of indigenous *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* in soils previously treated with metal-contaminated sewage sludge. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.25, n.3, p.301-309, MAR. 1993.

- CHAUDRI, A.M.; McGRATH, S.P.; GILLER, K.E. Metal tolerance of isolates of *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* from soil contaminated by past applications of sewage sludge. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.24, n.2, p.83-88, FEB. 1992.
- COTRIM, A.R. **Metais Pesados na Agricultura: Consequências das elevadas concentrações de Mercúrio, Cádmiio e Chumbo no solo.** São Paulo: Produquímica Ind. e Com., 1994. 48 p.
- DAVIDE, A.C.. Seleção de espécies vegetais para recuperação de áreas degradadas. In: SIMPÓSIO SUL-AMERICANO, 1, E SIMPÓSIO NACIONAL, 2, DE ÁREAS DEGRADADAS, Foz do Iguaçu, 1994. *Anais...* Curitiba: Fundação de Pesquisas Florestais, 1994. p.111-122.
- DUXBURY, T.; BICKNELL, B. Metal-tolerance bacterial populations from natural and metal-polluted soils. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.15, n.3, p.243-250, MAR. 1983.
- FRANCO, A.A.; CAMPELLO, L.E.D.; FARIA, S.M. Revegetação de áreas de mineração de bauxita em Porto Trombeta - PA com leguminosas arbóreas noduladas e micorrizadas. In: SIMPÓSIO SUL-AMERICANO, 1, E SIMPÓSIO NACIONAL, 2, DE ÁREAS DEGRADADAS, Foz do Iguaçu, 1994. *Anais...* Curitiba: Fundação de Pesquisas Florestais, 1994. p.145-153.
- FRANCO, A.A.; CAMPELLO, E.F.C.; DA SILVA, E.M.R.; DIAS, L.E.; FARIA, S.M. Uso de leguminosas com rizóbio e fungos micorrízicos como agentes para a revegetação de solos degradados. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 24, Goiânia, 1993. *Resumos...* Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1993, v.2. p.337-338. .
- GILDON, A.; TINKER, P.B. A Heavy metal-tolerant strain of a mycorrhizal fungus. *Transactions British Mycological Society*, Londres, v.77, n. 3, p.648-649, june. 1981.
- GILLER, K.E.; NUSSBAUM, R.; CHAUDRY, A.M.; McGRATH, S.P. *Rhizobium meliloti* is less sensitive to heavy-metal contamination in soil than *R.leguminosarum* bv. *trifolii* or *R. loti*. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.25, n.2, p.273-278, FEB. 1993.
- GRIFFITH, J.J.; DIAS, L.E.; JUCKSCH, I. Novas estratégias ecológicas para a revegetação de áreas mineradas no Brasil. In: SIMPÓSIO SUL-AMERICANO, 1, E SIMPÓSIO NACIONAL, 2, DE ÁREAS DEGRADADAS, Foz do Iguaçu, 1994. *Anais...* Curitiba: Fundação de Pesquisas Florestais, 1994. p.31-43.
- HATTORI, H. Influence of heavy metals on soil microbial activities. *Soil Science and Plant Nutrition*, Tokio, v.38, n.1, p.93-100, JAN. 1992.
- HEGGO, A.; ANGLE, J.S.; CHANEY, R.L. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on heavy metal uptake by soybeans. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.22, n.6, p.865-869, JUNE. 1990.

- IBEKWE, A.M.; ANGLE, J.S.; CHANEY, R.L.; van BERKUM, P. Zinc and cadmium toxicity to alfalfa and its microsymbiont. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.25, n.3, p.1032-1040, SEPT-OCT. 1996.
- KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plantas**. Boca Raton: CRC Press, 1985. 315p.
- KIEHL, E.J. **Fertilizantes orgânicos**. Piracicaba: Agronômica CERES, 1985. 492p.
- KOOMEN, I.; McGRATH, P. Mycorrhizal infection of clover is delayed in soils contaminated with heavy metals from past sewage sludge applications. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.22, n. 6, p.871-873, JUNE. 1990.
- LAGERWERFF, J.V. Lead, mercury and cadmium as environmental contaminants. In: **Micronutrients in agriculture**, Madison: Soil Science Society of America, 1972. p.593-636.
- MALAVOLTA, E. **Fertilizantes e seu impacto ambiental: Metais pesados, mitos, mistificação e fatos**. São Paulo: Produquímica Ind. e Com., 1994. 153p.
- MATTIAZZO, M.E.; GLÓRIA, N.A. Parâmetros para adição a solos de resíduos contendo metais. I - Estudos com soluções. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 25, Viçosa, 1995. **Resumos....** Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1995, v.4. p.2315-2317.
- McGRATH, S.P.; BROOKES, P.C. Effects of potentially toxic metals in soil derived from past applications of sewage sludge on nitrogen fixation by *Trifolium repens* L. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.20, n.4, p.415-424, APR. 1988.
- NASCIMENTO, C.W.A.; FONTES, R.L.F.; NEVES, J.C.L. Absorção e distribuição de cádmio em duas cultivares de milho de diferentes graus de sensibilidade ao elemento. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 26, Rio de Janeiro, 1997. **Anais...** Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1997. (CD-ROM)
- NOGUEIRA, A.V. **Manganese Toxicity in Mingbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] and Effects of Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza on Plant Manganese Tolerance**. Inglaterra: University of Reading, 1994. 125p. (Tese - Mestrado em Microbiologia).
- OCTIVE, J.C.; JOHNSON, A.C.; WOOD, M. Effects of previous aluminium exposure on motility and nodulation by *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.26, n.11, p.1477-1482, NOV. 1994.
- OMAE, S. **Absorção de cádmio em solo podzólico vermelho-amarelo-orto e glei húmico da região do Vale do Ribeira - SP e terra roxa estruturada do município de Piracicaba - SP**. Piracicaba: Imprensa Universitária, 1984. 41p. (Tese - Mestrado em Solos).

- PAGE, A.L.; BINGHAM, F.T. Cadmium residues in the environment. **Residues Review**, New York, v.48, p.1-44. 1973.
- PEREIRA, J.B.M.; NASCIMENTO, C.W.A. Absorção e distribuição de Cd e micronutrientes em cultivares de feijoeiro expostas à doses de cádmio. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 26, Rio de Janeiro, 1997. **Anais...** Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1997. (CD-ROM)
- REICHMANN NETO, F. Recuperação de áreas degradadas na região sul. In: CONGRESSO FLORESTAL PANAMERICANO, 1, Curitiba, 1993. **Anais...** Curitiba: Sociedade Brasileira de Silvicultura/Sociedade Brasileira de Engenheiros Florestais, 1993, v.1. p.102-107.
- RIBEIRO FILHO, M.R. **Metais pesados em solos de área de rejeitos da industrialização do zinco**. Lavras:UFLA, 1997. 45p. (Tese - Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas).
- ROJAS, E.P.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S. Crescimento de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong. com e sem micorrização em solo contaminado com metais pesados. In: SOLO-SUELO - CONGRESSO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DO SOLO, 23, Águas de Lindóia, 1996. **Anais...** Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1996. (CD-ROM)
- SMITH, S.R. and GILLER, K.E. Effective *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolli* present in five soils contaminated with heavy metals from long-term applications of sewage-sludge or metal mine spoil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.24, n.8, p.781-788, AUG. 1992.
- STEVENSON, F.J. **Cycles of soil: Carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients**. New York: John Wiley, 1986. 380p.
- TURNER, A.P.; GILLER, K.E.; McGRATH, S.P. Long term effects on *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolli* of heavy metal contamination of land from the application of sewage sludge. In: ALLAN, R.J.; NRIAGU, J.O. **Heavy metals in the environment**, Toronto, 1995. p.442-445.
- TYLER, G. Heavy metal pollution and soil enzymatic activity. **Plant and Soil**, Netherlands, v.41, n.2 p.303-311, JUNE. 1974.
- VICENT, J.M. **A manual for the practical study of root-nodule bacteria**. London: JBP, 1970. 164p. (Handbook, 15)

ANEXOS

ANEXO I

Análise estatística do experimento 1 - Desenvolvimento e Nodulação de Leguminosas em Misturas de Solos com Diferentes Níveis de Metais Pesados.

Anexo I.A - Análise de Variância para quatro espécies leguminosas desenvolvidas sob 5 níveis de contaminação do solo por metais pesados.

ESPÉCIE	Mat. Seca da Parte Aérea	Mat. Seca de Raízes	Mat. Fresca de Nódulos	Número de Nódulos
Tamboril	0,00	0,00	0,00	0,00
coef. variação	39,22	43,09	51,19	61,03
Sesbania	0,00	0,00	0,00	0,00
coef. variação	79,10	85,19	42,00	87,66
Siratro	0,00	0,00	0,00	0,00
coef. variação	33,97	40,61	66,41	48,42
Leucena	0,00	0,00	0,00	0,00
coef. variação	37,54	33,93	64,08	124,75

Anexo I.B - Teste de Médias para quatro espécies leguminosas desenvolvidas sob 5 níveis de contaminação do solo por metais pesados.

Espécie	Contaminação (%)	Parte Aérea (g Mat. Seca)	Raiz (g Mat. Seca)	Nódulos (g Mat. Fresca)	Número de Nódulos
Tamboril	0	1,58 a	1,32 a	0,38 a	28,75 a
	15	0,91 b	1,11 a	0,13 b	5,75 b
	30	0,85 b	0,50 b	0,13 b	4,13 b
	45	0,56 bc	0,26 b	0,06 b	3,38 b
	60	0,26 c	0,10 b	0,00 b	0,00 b
Sesbania	0	0,38 a	0,38 a	0,40 a	62,00 a
	15	0,32 ab	0,20 ab	0,05 b	3,50 b
	30	0,08 c	0,03 b	0,02 b	2,25 b
	45	0,06 c	0,10 b	0,00 b	0,00 b
	60	0,03 c	0,06 b	0,00 b	0,00 b
Siratro	0	1,22 a	1,80 a	0,23 a	23,50 a
	15	0,10 b	0,15 b	0,03 b	6,25 b
	30	0,02 b	0,05 b	0,00 b	0,00 c
	45	0,01 b	0,01 b	0,00 b	0,00 c
	60	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 c
Leucena	0	0,90 a	0,61 a	0,22 a	11,75 a
	15	0,18 b	0,13 b	0,00 b	0,13 b
	30	0,17 b	0,14 b	0,00 b	0,00 b
	45	0,08 b	0,07 b	0,00 b	0,00 b
	60	0,00 b	0,01 b	0,00 b	0,00 b

Anexo I.C - Equações de regressão e coeficientes de determinação para os pesos das matérias fresca e seca da parte aérea de quatro espécies leguminosas desenvolvidas sob 5 níveis de contaminação do solo por metais pesados.

ESPÉCIES	EQUAÇÃO	r²
Peso da Matéria Seca da Parte Aérea		
Tamboril	$y = -0,0199x + 1,4275$	0,92
Sesbania	$y = -0,0064x + 0,366$	0,87
Siratiro	$y = -0,017x + 0,7792$	0,57
Leucena	$y = 0,8152.e^{-6,4074.x}$	0,91
Peso da Matéria Seca do Sistema Radicular		
Tamboril	$y = -0,0219x + 1,3165$	0,95
Sesbania	$y = -0,0053x + 0,328$	0,90
Siratiro	$y = 1,4423e^{-12,11x}$	0,98
Leucena	$y = 0,7796.e^{-7,1267.x}$	0,88
Número de Nódulos		
Tamboril	$y = -0,0743x + 5,4121$	0,83
Sesbania	$y = 6,239e^{-3,5149x}$	0,88
Siratiro	$y = -0,0793x + 4,7928$	0,77
Leucena	$y = -0,0433x + 2,9879$	0,49
Peso Fresco de Nódulos		
Tamboril	$y = -0,0055x + 0,3055$	0,81
Sesbania	$y = -0,0057x + 0,2633$	0,61
Siratiro	$y = -0,0032x + 0,1475$	0,60
Leucena	$y = -0,0029x + 0,132$	0,49

ANEXO II

Análise estatística do experimento 2 - Metais Pesados em Leguminosas Herbáceas.

Anexo II.A - Análise de Variância para cinco espécies leguminosas herbáceas em 4 níveis de contaminação do solo por metais pesados.

ESPÉCIE	Mat. Seca da Pt. Aérea	Mat. Seca de Raízes	Mat. Fresca de Nódulos	Número de Nódulos	Área Foliar	Atividade da Nitrogenase
Caupi Vermelho	0,00	0,00		0,00	0,00	
coef. variação	92,94	72,24		29,55	94,59	
Fj. Bravo do Ceará	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,35
coef. variação	30,56	33,56	57,45	37,14	29,38	367,72
Fj. Vagem UEL-1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	n.s.
coef. variação	32,76	85,06	86,50	27,47	47,01	314,70
Mucuna Preta	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
coef. variação	29,00	53,94	32,46	31,30	16,03	43,65
Mungo Verde	0,00	0,00	0,07	0,01	0,00	
coef. variação	18,27	69,97	259,67	34,38	109,76	

Anexo II.B - Teste de Médias para cinco espécies leguminosas herbáceas em 4 níveis de contaminação do solo por metais pesados.

Espécie	NC	Pt. Aérea	Raízes	Nódulos		Área Foliar (cm ²)	Atividade da Nitrogenase (mmolC ₂ H ₄ /g.nod/h)
		Mat. Seca (g)	Mat. Seca (g)	Número	Peso Fresco (g)		
Caupi Vermelho	0	2,24 a	0,61 a	4,40 a	0,00	128,09 a	0,00
	5	0,33 b	0,15 b	0,00 b	0,00	42,87 ab	0,00
	10	0,16 b	0,90 b	0,00 b	0,00	15,42 b	0,00
	20	0,06 b	0,70 b	0,00 b	0,00	0,00 b	0,00
Feijão Bravo do Ceará	0	15,64 a	1,95 a	115,60 a	2,46 a	1267,6 a	0,31 b
	5	9,06 b	1,73 a	60,00 ab	2,16 a	734,64 b	0,43 a
	10	1,21 c	0,31 b	0,00 b	0,00 b	131,37 c	0,00 c
	20	0,60 c	0,09 b	0,00 b	0,00 b	28,94 c	0,00 c
Feijão Vagem UEL-1	0	3,70 a	1,63 a	283,20 a	0,86 a	271,48 a	0,11 b
	5	1,69 b	0,30 b	6,60 b	0,13 b	142,85 b	0,23 a
	10	0,38 c	0,13 b	0,00 b	0,00 b	17,59 bc	0,00 c
	20	0,10 c	0,04 b	0,00 b	0,00 b	7,31 c	0,00 c
Mucuna Preta	0	26,70 a	11,86 a	34,60 a	4,78 a	2369,3 a	2,15 b
	5	22,41 ab	11,32 a	14,00 ab	5,00 a	1820,12 b	3,45 a
	10	11,50 bc	5,66 ab	12,00 ab	2,88 a	1103,94 c	3,06 a
	20	0,81 c	0,78 b	0,00 b	0,00 b	140,11 d	0,00 c
Mungo Verde	0	4,12 a	1,12 a	3,20 a	0,15	160,63 a	0,00
	5	0,10 b	0,02 b	0,00 b	0,00	7,10 b	0,00
	10	0,09 b	0,02 b	0,00 b	0,00	6,27 b	0,00
	20	0,05 b	0,02 b	0,00 b	0,00	4,46 b	0,00

Anexo II.C - Equações de regressão e coeficientes de determinação, de cinco espécies leguminosas herbáceas em 4 níveis de contaminação do solo por metais pesados.

ESPÉCIES	EQUAÇÃO	r²
Peso da Matéria Seca da Parte Aérea		
Caupi Vermelho	$y = 1,2669.e^{-0,1684.x}$	0,88
Feijão Bravo do Ceará	$y = 14,465.e^{-0,173.x}$	0,89
Feijão Vagem UEL-1	$y = 3,5321.e^{-0,1853.x}$	0,97
Mucuna Preta	$y = -1,3448x + 27,122$	0,98
Mungo Verde	$y = 1,0471e^{-0,185x}$	0,61
Peso da Matéria Seca de Raízes		
Caupi Vermelho	$y = 0,366.e^{-0,0982.x}$	0,75
Feijão Bravo do Ceará	$y = -0,1013x + 1,906$	0,82
Feijão Vagem UEL-1	$y = 1,0484.e^{-0,1761.x}$	0,93
Mucuna Preta	$y = -0,5961x + 12,618$	0,95
Mungo Verde	$y = -0,044x + 0,68$	0,47
Número Total de Nódulos		
Caupi Vermelho	$y = -0,0488x + 1,732$	0,47
Feijão Bravo do Ceará	$y = -0,4893x + 9,234$	0,77
Feijão Vagem UEL-1	$y = 7,1128.e^{-0,1243.x}$	0,63
Mucuna Preta	$y = -0,2266x + 5,488$	0,96
Mungo Verde	$y = -0,0364x + 1,546$	0,47
Peso Fresco Total de Nódulos		
Caupi Vermelho	Não Significativo	
Feijão Bravo do Ceará	$y = -0,1354x + 2,34$	0,75
Feijão Vagem UEL-1	$y = -0,0366x + 0,568$	0,57
Mucuna Preta	$y = -0,2605x + 5,444$	0,92
Mungo Verde	$y = -0,006x + 0,09$	47
Atividade da Nitrogenase		
Mucuna Preta	$y = -0,0211x^2 + 0,3098x + 2,2261$	0,92

ANEXO III

Análise estatística do experimento 3 -Metais Pesados em Leguminosas Arbóreas com Diferentes Fontes de N (Mineral e Biológico).

Anexo III.A - Análise Fatorial das variáveis de Tamboril inoculado, com adubação nitrogenada mineral e sem fornecimento de nitrogênio, em cinco níveis de contaminação do solo por metais pesados.

Fonte de Variação ⁽¹⁾	GL	Parte Aérea (g mat.seca)	Raiz (g mat.seca)	Nódulos		Ativ. Nitrogenase (mmol C ₂ H ₄ /g nod/h)
				Número ⁽²⁾	(g mat.fresca)	
Contaminação (NC)	4	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00
Fonte de Nitrog.(FN)	2	n.s.	n.s.	0,00	0,00	0,16
NC x FN	8	n.s.	0,42	0,29	0,24	n.s.
Coef.Variação		52,03	60,13	39,73	74,00	117,48

⁽¹⁾ - Números em cor azul indicam significativo a 1%, em verde a 5% e em vermelho não significativo.

⁽²⁾ - Dados Transformados pela equação $\sqrt{x+1}$

- As análises discutidas no texto estão circundadas em magenta

Anexo III.B - Teste de Médias de Tamboril inoculado, com adubação nitrogenada mineral e sem fornecimento de nitrogênio, em cinco níveis de contaminação do solo por metais pesados.

NC %	Parte Aérea	Raiz	Nódulos		Atividade da Nitrogenase **
	Mat.Seca **	Mat.Seca **	Número **	Mat.Fresca **	
0	0,96 a	0,58 a	3,42 a	0,09 a	4,49 ab
5	0,61 bc	0,56 a	2,95 a	0,07 ab	7,62 a
10	0,82 ab	0,55 a	3,24 a	0,09 a	4,57 ab
20	0,73 ab	0,41 ab	2,83 ab	0,05 ab	1,51 b
40	0,37 c	0,12 b	1,18 b	0,01 b	1,00 b

Fonte de Nitrogênio	Nódulos	
	Número **	Mat.Fresca **
Inoculado	3,50 a	0,10 a
N-Mineral	1,67 b	0,02 b
Testemunha	3,01 a	0,07 a

Anexo III.C - Análise Fatorial das variáveis de Timbouva, inoculado, com adubação nitrogenada mineral e sem fornecimento de nitrogênio, em cinco níveis de contaminação do solo por metais pesados.

Fonte de Variação ⁽¹⁾	GL	Parte Aérea (g mat.seca)	Raiz (g mat.seca)	Nódulos		Ativ. Nitrogenase (mmol C ₂ H ₄ /g nod/h)
				Número ⁽²⁾	(g mat.fresca)	
Contaminação (NC)	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
Fonte de Nitrog.(FN)	2	0,00	0,13	0,00	0,00	0,00
NC x FN	8	0,16	0,04	0,00	0,00	0,02
Coef.Variação		25,14	55,99	40,78	101,83	104,43

⁽¹⁾ - Números em cor azul indicam significativo a 1% pelo teste de Tukey, em verde a 5% e em vermelho não significativo.

⁽²⁾ - Dados Transformados pela equação $\sqrt{x+1}$

- As análises discutidas no texto estão circundadas em magenta

Anexo III.D - Teste de Médias das variáveis de Timbouva, inoculado, com adubação nitrogenada mineral e sem fornecimento de nitrogênio, em cinco níveis de contaminação do solo por metais pesados.

Peso da Matéria Seca do Sistema Radicular

Fte.N \ Niv.Cont.	0%	n.s.	5%	n.s.	10%	n.s.	20%	n.s.	40%	n.s.	
Inoculado	n.s.	1,65	0,79		1,27		0,91		0,57		
N-Mineral	*	0,85	AB	1,74	AB	2,02	A	1,51	AB	0,62	B
Testemunha	*	1,40	A	1,47	A	0,87	AB	1,05	AB	0,34	B

Número de Nódulos

Fte.N \ Niv.Cont.	0%	n.s.	5%	**	10%	**	20%	**	40%	n.s.				
Inoculado	**	3,83	AB	4,94	a	A	5,06	a	A	3,71	a	AB	1,08	B
N-Mineral	*	1,37	AB	1,68	b	A	1,31	b	AB	1,00	b	B	1,00	B
Testemunha	n.s.	2,59		2,49	ab		1,19	b		1,49	b		1,14	

Peso da Matéria Fresca de Nódulos

Fte.N \ Niv.Cont.	0%	n.s.	5%	**	10%	**	20%	*	40%	n.s.				
Inoculado	**	0,12	AB	0,03	a	A	0,24	a	AB	0,22	a	AB	0,00	B
N-Mineral	n.s.	0,01		0,02	b		0,01	b		0,00	b		0,00	
Testemunha	n.s.	0,08		0,10	ab		0,01	b		0,13	ab			

Atividade da Nitrogenase

Fte.N \ Niv.Cont.	0%	n.s.	5%	**	10%	*	20%	*	40%	n.s.				
Inoculado	**	1,45	AB	3,22	a	A	2,35	a	AB	2,06	a	AB	0,00	B
N-Mineral	n.s.	0,00		0,72	b		1,04	ab		0,00	b		0,00	
Testemunha	n.s.	0,98		1,08	b		0,00	b		1,42	ab			

(1) - Letras diferentes indicam diferença estatística a 1% (**), 5% (*) ou teste não significativo (n.s.);

(2) - Letras minúsculas, em vermelho, comparam entre linhas o efeito das fontes de nitrogênio dentro de cada nível de contaminação do solo por metais pesados;

(3) - Letras maiúsculas, em azul, comparam entre colunas o efeito dos níveis de contaminação do solo por metais pesados dentro de cada fonte de nitrogênio.