

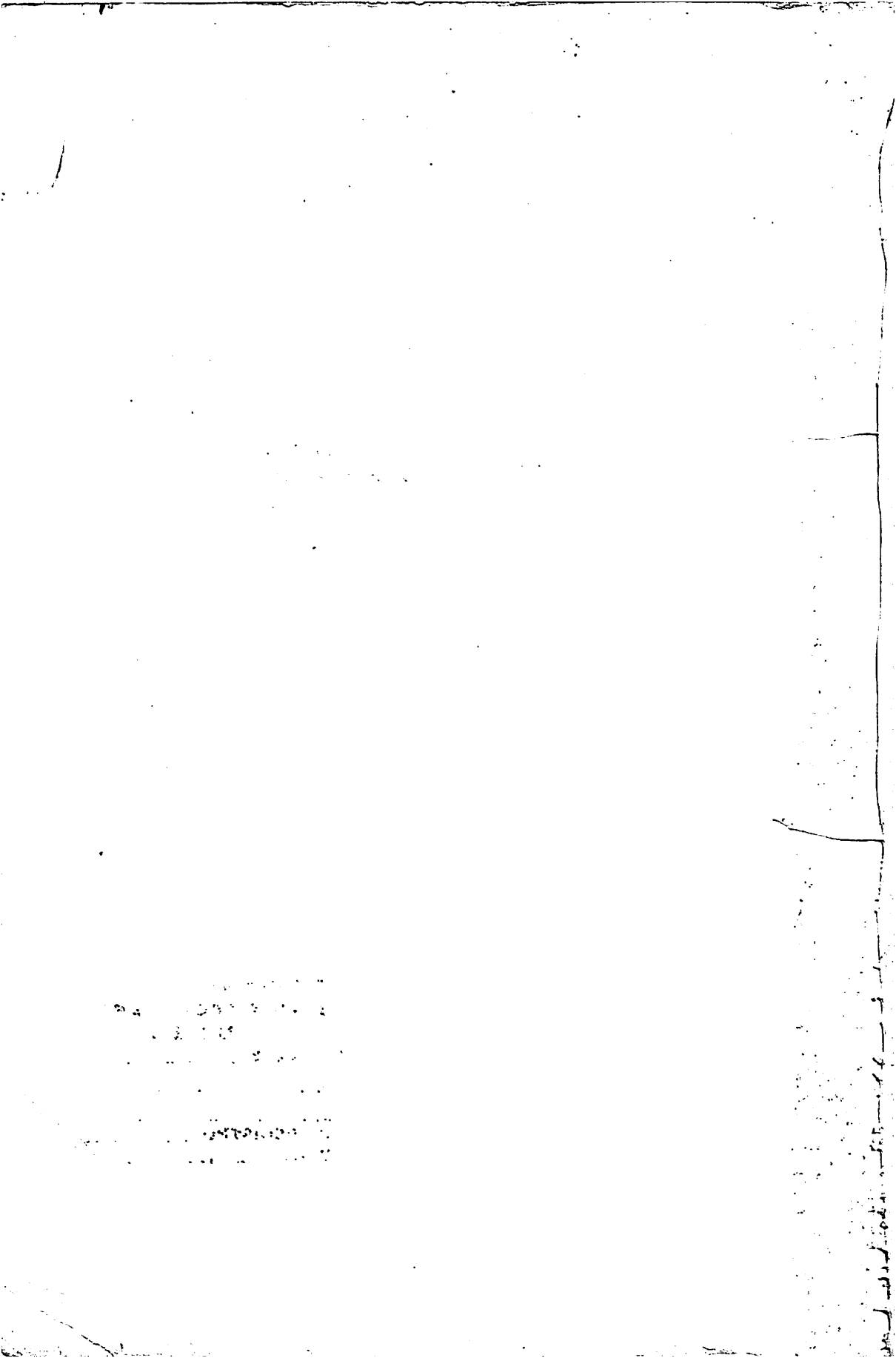


UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS

**COMPORTAMENTO DE FUNGOS
ECTOMICORRÍZICOS, *Acacia mangium* E
ESPÉCIES DE *Pinus* e *Eucalyptus* EM SOLO
CONTAMINADO POR METAIS PESADOS**

PAULO HENRIQUE GRAZZIOTTI

1999



48808

MFN 34264

PAULO HENRIQUE GRAZZIOTTI

COMPORTAMENTO DE FUNGOS ECTOMICORRÍZICOS, *Acacia mangium* E ESPÉCIES DE *Pinus* e *Eucalyptus* EM SOLO CONTAMINADO POR METAIS PESADOS

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Solos e Nutrição de Plantas, para a obtenção do título de "Doutor".

Orientador
Prof. Dr. José Oswaldo Siqueira

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRSP
1999

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

Grazziotti, Paulo Henrique

Comportamento de fungos ectomicorrízicos, *Acacia mangium* e espécies de *Pinus* e *Eucalyptos* em solo contaminado por metais pesados / Paulo Henrique Grazziotti. – Lavras : UFLA, 1999.

177 p. : il.

Orientador: José Oswaldo Siqueira.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Metal pesado – Tolerância. 2. *Eucalypto*. 3. *Pinus*. 4. *Acacia mangium*. 5. Fungo ectomicorrízico. 6. Toxidez. 7. Fitorremediação. 8. Teor. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-589.221

-634.97342

-631.41


PAULO HENRIQUE GRAZZIOTTI

COMPORTAMENTO DE FUNGOS ECTOMICORRÍZICOS, *Acacia mangium* E ESPÉCIES DE *Pinus* e *Eucalyptus* EM SOLO CONTAMINADO POR METAIS PESADOS

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Solos e Nutrição de Plantas, para a obtenção do título de "Doutor".

APROVADA em 17 de dezembro de 1999

| | |
|---|------|
| Prof ^ª Dulcinéia de Carvalho | UFLA |
| Prof ^ª Fátima Maria S. Moreira | UFLA |
| Prof. Janice Guedes de Carvalho | UFLA |
| Prof. Sebastião Carlos da Silva Rosado | UFLA |


Prof. Dr. José Oswaldo Siqueira
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

**Aos meus pais Henrique e Alcy.
Às minhas irmãs Alcione, Alcinea e Adriana.**

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me permitir vencer mais essa etapa.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao CNPq pela oportunidade de realização do curso e concessão da bolsa de estudos.

À companhia Mineira de Metais (CMM) e a Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão (FAEPE), pelo apoio financeiro para realização desse trabalho.

Ao Professor José Oswaldo Siqueira, pela orientação e ensinamentos atualizados.

Ao Professor Hélcio pelo grande amizade, sugestões e apoio na conclusão deste trabalho.

Aos Professores Fátima, Dulcinéia, Rosado e Janice, pelas valiosas sugestões.

Aos amigos Diércules, Divino, Cláudio, João Batista e Osmar, aos bolsistas Juliano, José Geraldo, Helton, Wagner, Anderson e Marcão e aos funcionários Manoel e Fabiano, pela imprescindível contribuição na realização deste trabalho.

Aos demais Professores e funcionários do Departamento de Ciência do Solo – UFLA, pelos ensinamentos, ajuda ou convivência.

A Franceli e familiares, pelo amor, carinho, amizade, dedicação e amparo nas horas mais difíceis.

Ao Aldo, Osmar, João Batista, Ronald, Divino, Paula, Diércules, Marco, Alexandre, Geraldo, Wagner, Cláudio, Eliane e Adriana, entre outros, pela amizade, pelas idéias e agradável convívio.

A Embrapa – Recursos Genéticos e Biotecnologia, na pessoa da Dra. Sueli e Dr. Cabral, pelo grande apoio na conclusão deste trabalho.

Aos demais colegas de curso e a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

Página

| | |
|---|----|
| RESUMO GERAL | i |
| GENERAL ABSTRACT | ii |
| CAPÍTULO 1 | 1 |
| 1. Introdução Geral | 1 |
| 2. Referencial Teórico | 2 |
| 2.1. Metais pesados e espécies arbóreas | 2 |
| 2.2. Importância das ectomicorrizas | 11 |
| 2.3. Tolerância de fungos ectomicorrízicos em cultura pura | 21 |
| 3. Referencias Bibliográficas | 28 |
| | |
| CAPÍTULO 2: Comportamento de isolados de fungos ectomicorrízicos em solo e meio de cultura contaminados por metais pesados | 39 |
| Resumo | 39 |
| Abstract | 40 |
| 1. Introdução | 41 |
| 2. Material e Métodos | 46 |
| 2.1. Fungos estudados | 47 |
| 2.2. Comportamento dos isolados em meio com diferentes proporções de solo contaminado (Experimento 1) | 47 |
| 2.3. Resposta do Pt-306 e Sb a doses crescentes de Zn, Cu ou Cd em meio de cultura (Experimento 2) | 50 |
| 2.4. Cálculos e análises estatísticas | 51 |
| 3. Resultados e Discussão | 52 |
| 3.1. Comportamento dos isolados em meio com diferentes proporções de solo contaminado (Experimento 1) | 52 |
| 3.2. Resposta do Pt-306 e Sb a doses crescentes de Zn, Cu ou Cd em meio de cultura (Experimento 2) | 62 |
| 4. Conclusões | 69 |
| 5. Referências Bibliográficas | 70 |
| | |
| CAPÍTULO 3: Comportamento de espécies de <i>Eucalyptus</i> , <i>Pinus</i> . e <i>Acacia mangium</i> em solo com excesso de metais pesados | 76 |
| Resumo | 76 |
| Abstract | 77 |
| 1. Introdução | 78 |
| 2. Material e Métodos | 82 |
| 2.1. Formação das mudas | 82 |
| 2.2. Os níveis de contaminação e o preparo dos solos | 86 |

| | |
|--|-----|
| 2.3. O experimento: Condução e avaliação..... | 86 |
| 3. Resultados e Discussão | 90 |
| 3.1. Sintomas de fitotoxidez e sobrevivência | 90 |
| 3.2. Crescimento das plantas | 102 |
| 3.3. Simbiontes radiculares | 110 |
| 3.4. Teores de metais pesados nas plantas | 115 |
| 3.5. Consideração gerais | 139 |
| 4. Conclusões..... | 145 |
| 5. Referências Bibliográficas | 146 |
| ANEXO | 152 |

RESUMO GERAL

GRAZZIOTTI, Paulo Henrique. **Comportamento de fungos ectomicorrízicos, *Acacia mangium* e espécies de *Pinus* e *Eucalyptus* em solo contaminado por metais pesados.** Lavras: UFLA, 1999. 177p. (Tese - Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas)*

A mineração, refino de minério e outras atividades industriais têm contribuído para a contaminação do solo por metais pesados, causando danos ambientais e degradação de extensas áreas no mundo todo. A revegetação destas áreas é necessária, porém dificultada pela alta toxicidade dos metais as plantas e organismos do solo. O restabelecimento de um ecossistema funcional presume o conhecimento da importância dos macro e microcomponentes desse sistema, envolvendo componentes acima e abaixo da superfície do solo. Neste trabalho avaliaram-se: o comportamento de doze isolados de fungos ectomicorrízicos pertencentes as espécies de *Pisolithus* spp, *Suillus bovinus* e *Scleroderma* sp. em meio contendo solo contaminado (SC) ou adições crescentes de sulfatos de Zn, Cu ou Cd; e o comportamento de 13 espécies de *Eucalyptus*, 3 de *Pinus* e *Acacia mangium* em solo contendo diferentes proporção de SC por metais pesados. A contaminação do meio de crescimento dos fungos por metais pesados reduz o crescimento destes, sendo esse efeito diferenciado. Em geral, os isolados de *Pisolithus* spp foram mais tolerantes do que os de *S. bovinus* e o de *Scleroderma* sp., destacando-se o isolado Pt-306, que foi considerado tolerante. A produção de pigmentos extracelulares pelos isolados Pt-306 e Sb foi estimulada pela adição de solo contaminado ou de Zn, Cu e Cd adicionados individualmente ao meio de cultura. Entretanto, isto não se relacionou com a tolerância aos metais pesados. O Pt-306 foi também tolerante a Zn, Cu e Cd individualmente, enquanto o isolado Sb de *S. bovinus* foi tolerante somente ao Zn. O crescimento do isolado Pt-306 aumentou com a adição de pequenas doses de Cu ao meio de cultura. O efeito inibidor do Cd para o Pt-306 sugere que este elemento é o principal responsável pela redução do crescimento deste isolado na presença de solo contaminado, enquanto a elevada sensibilidade do isolado Sb a contaminação múltipla foi resultante do efeito somatório dos diversos metais contaminantes. No estudo com arbóreas, verificou-se que a *A. mangium* foi a única espécie categorizada como tolerante, enquanto o *E. torelliana*, *E. citriodora* e *E. grandis* foram moderadamente tolerantes, as outras espécies de eucaliptos foram sensíveis e as de *Pinus* muito sensíveis. O *E. torelliana* e *A. mangium* foram as únicas espécies que apresentaram elevada sobrevivência com menor intensidade de sintomas de fitotoxidez. A colonização ectomicorrízica

* Comitê Orientador: Prof. José Oswaldo Siqueira – UFLA (Orientador), Prof^ª Dulcinéia de Carvalho - UFLA e Prof^ª Fátima Maria S. Moreira - UFLA

foi reduzida em todas as espécies nas misturas com altas proporções de SC, sendo que *A. mangium* e *E. grandis*, espécies tolerantes, apresentaram maior colonização na contaminação elevada. A colonização por fungos MA foi baixa em todas as misturas estudadas, exceto na *A. mangium* no controle, que foi de 32%, e que também foi reduzida com a elevação da contaminação. A absorção dos metais, especialmente Zn e Cd, aumentou proporcionalmente à elevação da contaminação, atingindo níveis tóxicos nas plantas e relacionando-se com a redução no crescimento. Os teores destes metais atingiram valores de 596 a 1760 mg kg⁻¹ para Zn e de 7,5 a 36,1 mg kg⁻¹ para Cd, na mistura com maior proporção de SC. Todas as espécies apresentaram maior concentração dos metais nas raízes em relação a parte aérea em todas as misturas com SC, especialmente na *A. mangium* e *E. grandis*. Porém isto não foi observado na *E. citriodora*, também considerada moderadamente tolerante. Já o *E. torelliana* apresentou teores de metais mais baixos, indicando exclusão na absorção destes. O excesso de metais pesados no solo causou desbalanço nutricional nas plantas. As espécies mais tolerantes, *A. mangium*, *E. torelliana*, *E. citriodora* e *E. grandis*, são promissoras para a formação de maciços florestais em áreas contaminadas em regiões tropicais, ao contrário das espécies de *Pinus* estudadas, que se mostraram muito sensíveis.

GENERAL ABSTRACT

BEHAVIOR OF ECTOMYCORRHIZAL FUNGI, *Acacia mangium* and species of *Pinus* and *Eucalyptus* IN SOIL CONTAMINATED WITH HEAVY METAL

GRAZZIOTTI, Paulo Henrique. Behavior of ectomycorrhizal fungi, *Acacia mangium* and species de *Pinus* and *Eucalyptus* isolates in soil contaminated with heavy metal. Lavras: UFLA, 1999. 177p. (Doctoral Thesis in Soil Science and Plant Nutrition)*

Mining, ore processing and other industrial activities have contributed significantly to soil contamination with heavy metals, and thereby causing environmental damage and extensive land degradation around the world. Although mandatory, revegetation of these areas is rather difficult due to metal toxicity to plants and soil organisms. The re-establishment of a functional ecosystem requires knowledge of the importance of all its above and below

* Quiddance Committee: Prof. José Oswaldo Siqueira – UFLA (Major Professor), Prof^ª Dulcineia de Carvalho - UFLA e Prof^ª Fátima Maria S. Morcira - UFLA

ground components. In this work, the behavior of 12 ectomycorrhizal fungal isolates belonging to *Pisolithus tinctorius*, *Suillus bovinus* and *Scleroderma* sp. in culture media amended with Zn, Cu, Cd; and 13 species of *Eucalyptus*, 3 of *Pinus* and *Acacia mangium* were assessed for the effects of heavy-metal soil contamination. Contamination of the growth media by heavy metals reduced growth of all fungal isolates, in a differentiated way. In general *Pisolithus* isolates were more tolerant than *S. bovinus* or *Scleroderma* sp., being Pt-306 considered the most tolerant isolate. All the others exhibited differentiated behavior. *S. bovinus* isolates considered tolerant to Zn were sensitive to multiple soil contaminants and presence of other Cu or Cd in the media. Production of extracellular pigments by Pt-306 and Sb were enhanced by either addition of contaminated soil or Zn, Cd and Cu individually. However such response was not related to tolerance of isolates to heavy metals. Isolate Pt-306 was also tolerant to Zn, Cu and Cd whereas Sb was tolerant to Zn alone. Growth of Pt-306 was favored by addition of low doses of Cu. The inhibition of Pt-306 by Cd suggest this element as the main inhibitory metal in the contaminated soil, whereas the high sensitivity of isolate Sb to multiple soil contamination resulted from synergistic inhibitory effects of the various contaminant metals in the soil. In the study with trees, *A. mangium* was the only species considered as tolerant. *E. torelliana*, *E. citriodora* e *E. grandis* were considered moderately tolerant and all the others sensitive to contamination. *E. torelliana* and *A. mangium* exhibited high survival rates and low intensity of toxicity symptoms. Ectomycorrhizal colonization was reduced in all species at high contamination, whereas colonization by AM fungi was very low independent of contamination, except for *A. mangium* that exhibited 32% colonization, which was inhibited by high contamination. Plant metal uptake, especially Zn and Cd, increased proportionally with contamination rates, reaching toxic levels and therefore reducing growth. Concentration of these metal reached 596 to 1,260 mg kg⁻¹ for Zn and 7.5 to 36.1 mg kg⁻¹ for Cd in the most contaminated soil mix. Metal concentration were much higher in the root tissue than in the shoots of all species and mixes, especially in *A. mangium* and *E. grandis*. Nevertheless such effects were not found in *E. citriodora* also considered tolerant in the present study. *E. torelliana* exhibited low metal concentration, indicating its exclusion in taking up these metals from soil. The excess of heavy metals in the soil mixes resulted in unbalanced nutrition of plants. The most tolerant species *A. mangium*, *E. torelliana*, *E. citriodora* e *E. grandis* are promising species for restoration of contaminated soils in the tropics, in contrast to species of *Pinus* that show high sensitivity to the excess of metals.

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO GERAL

Metais pesados são componentes naturais dos solos e rochas aonde normalmente ocorrem em baixas concentrações, não representando, desta forma, risco para a humanidade e para a vida selvagem. No entanto, as crescentes atividades de mineração, refino de minério e outras atividades industriais têm contribuído para o aumento dos teores desses metais em áreas próximas às indústrias, minas e àquelas usadas como depósito de rejeitos. Nos Estados Unidos, estimou-se que em 1989 foram liberados, no ambiente, 2,6 bilhões de quilogramas de 262 compostos tóxicos diferentes, e que os metais pesados representavam 11% ou 285 milhões de quilogramas desse total (U.S. EPA, 1991 citado por Nellessen e Fletcher, 1993). Apesar de não existirem dados sobre o assunto no Brasil, é possível que a situação deve ser semelhante ou até mesmo pior, uma vez que nossa legislação ambiental e as atividades de fiscalização por parte dos órgãos responsáveis são mais recentes.

Atualmente, no Brasil, a legislação ambiental exige que áreas degradadas devam ser recuperadas. A recuperação de áreas contaminadas por metais pesados visa minimizar o envenenamento dos nichos ecológicos e da população humana e restaurar a biodiversidade e a sustentabilidade dos ecossistemas. Na recuperação, o método de revegetação apresenta vantagens devido à sua natureza permanente, combinada aos baixos custos de manutenção, à proteção contra a erosão eólica e hídrica, à maior estruturação do solo, ao aumento da fertilidade do solo e à melhoria da estética da área. Contudo, a sobrevivência e o crescimento das plantas não são garantidos em áreas contaminadas com metais pesados, mesmo depois de intensivos esforços para promover a estruturação e a fertilidade do solo (Arduini, Godbold e Onnis, 1994). O restabelecimento de um ecossistema funcional presume o conhecimento da importância dos macro e

microcomponentes desse sistema, isto é, elementos acima e abaixo da superfície do solo (Reeves et al., 1979), e da tolerância das espécies aos contaminantes.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Metais pesados e espécies arbóreas

As atividades das indústrias de metais liberam grande quantidade de metais nas suas proximidades e estes não são naturalmente removidos ou degradados, e assim ocorre progressiva acumulação destes no solo ou nos sedimentos aquáticos (Borgegård e Rydin, 1989). Como as plantas não são capazes de evitar completamente a absorção dos metais pesados, diferentes espécies ou ecotipos têm desenvolvido uma larga faixa de mecanismos de tolerância (Baker, 1987, Meharg, 1993), e assim promovido a evolução de resistência a metais em espécies de gramíneas e de arbustos (Cox e Hutchinson, 1981). A origem da resistência a metais nessas populações de plantas é explicado pela seleção natural em populações que possuam genes específicos que desenvolvem os mecanismos de resistência (Baker 1987; Macnair, 1993). Ainda que espécies de gramíneas e arbustivas sejam de longe as mais comuns crescendo em áreas contaminadas por metais pesados, as árvores são também encontradas nessas áreas (Freedman e Huthcinson, 1980). As espécies arbóreas de crescimento rápido, como *Betula* spp. (Denny e Wilkins, 1987a), *Salix* spp. (Kahle, 1993) e *Acer pseudoplatanus* (Turner e Dickinson, 1993a), são capazes de colonizar solos contaminados por metais pesados, contudo sua sobrevivência e estabelecimento nos ambientes contaminados por metais pesados é menos entendida (Dickinson, Lepp e Turner, 1991; Ernst, Verkleij e Schat, 1992).

A sobrevivência e crescimento de plantas em solo contaminado por metais pesados é dificultada, mesmo para as espécies ou ecotipos que apresentam alguma tolerância aos metais. Em *Pinus sylvestris* crescendo a uma

distância de até 40 km de uma indústria de refino de metal observaram-se injúrias visíveis, como clorose e necrose das pontas das acículas, e que a concentração de Cu foi acima de 1,73 mM e de Ni acima de 0,66 mM (Kukkola et al., 1998). A maioria das espécies arbóreas é sensível aos metais pesados e a contaminação do solo pode causar considerável redução da produtividade em plantações de uma única espécie (Breckle e Kahle, 1992) ou mudanças na composição das espécies em florestas mistas (Hutchinson, Bozic e Munoz-Veja, 1986; Bell e Teramura, 1991) por influenciar vários parâmetros das plantas (Figura 1).

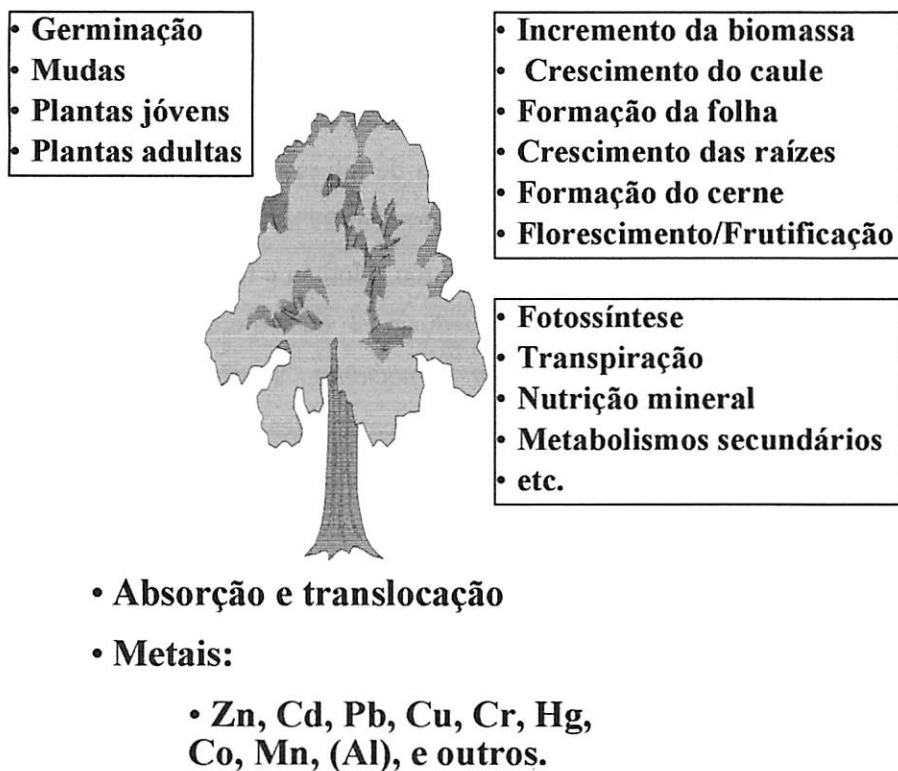


Figura 1. Diagrama esquemático mostrando os principais parâmetros de espécies arbóreas influenciados pelos metais pesados (Modificado de Breckle e Kahle, 1992).

Os metais exercem efeitos deletérios sobre a estrutura e funções das raízes das plantas (Lindberg e Wingstrand, 1985; Jensén e Aðalsteinsson, 1989; Godbold e Hüttermann, 1995; Aðalsteinsson et al., 1997), reduzindo o seu crescimento. Nos países de clima temperado, este efeito tóxico dos metais tem sido considerado um fator contribuinte para o “die-back” (morte das plantas com necrosamento) das florestas. Efeito deletério do Cu sobre o crescimento das raízes tem sido atribuído ao aumento da permeabilidade das membranas das células das raízes (De Vos, et al. 1991).

Várias espécies de arbóreas apresentam resposta semelhante à contaminação do solo por metais pesados em relação à produção de biomassa das raízes (Kahle, 1993). Geralmente, o aumento da adição de metais no substrato de crescimento resulta na inibição da produção de matéria seca da parte aérea e principalmente das raízes. Por exemplo, a adição de 890 μM de Cd ao solo reduziu a produção de matéria seca de raízes de *Pinus taeda* em 57%, *Pinus strobus* em 51%, *Betula alleghaniensis* em 27%, *Liriodendron tulipifera* em 23% e *Prunus virginiana* em 12% (Burton, Morgan e Roig, 1986) e a adição de 400 μM de Zn em solução nutritiva reduziu em 66% o crescimento de raízes de *Eucalyptus urophylla* e *Eucalyptus maculata*, sendo este efeito mais acentuado na produção de raízes do que na de parte aérea (Soares, 1999).

Os metais pesados afetam as espécies, especialmente por aumentar a mortalidade das mudas, reduzindo a habilidade competitiva e a taxa natural de regeneração das espécies (Bell e Teramura, 1991; Breckle e Kahle, 1992). Contudo, a absorção dos metais, sua distribuição nas plantas e a resposta dessas a diferentes doses variam entre as espécies e o metal envolvido (Arduini, Godbold e Onnis, 1996). Estes autores estudando a tolerância de *Pinus pinea*, *Pinus pinaster* e *Fraxilus angustifolia* a doses crescentes de Cd e Cu, observaram que *P. pinea* foi a espécie mais tolerante a Cd, enquanto *F. angustifolia* foi a mais sensível aos dois metais. O *P. pinea* foi a que menos

acumulou os metais. Os autores sugeriram que, em *Pinus*, a cápsula da raiz bem desenvolvida exerceu um papel protetor contra a absorção dos metais pela ponta da raiz. Para os dois metais, o conteúdo na parte aérea em *Pinus* não excedeu 16,5% do conteúdo total (Arduini, Godbold e Onnis, 1996), confirmando que as raízes são barreiras efetivas contra a translocação dos metais. A alta retenção dos metais pelo sistema radicular demonstra que as raízes são o primeiro alvo da toxicidade dos metais e, portanto, exerce um papel determinante na adaptação das espécies não tolerantes à contaminação do solo por metais pesados (Turner e Dickinson, 1993a, Arduini, Godbold e Onnis, 1996).

Em mudas de 3 anos de idade de *P. strobus*, *Acer rubrum* e *Picea abies* crescendo em areia mais solução nutritiva, observou-se redução da iniciação de raízes e desenvolvimento pobre de raízes laterais quando Cd e Zn foram adicionados na solução. Contudo *P. strobus* acumulou mais Cd e Zn nas raízes e os sintomas de fitotoxicidade apareceram nos níveis mais elevados dos metais em relação às outras duas espécies (Mitchell e Fretz, 1977).

Lamersdorf, Godbold e Knoche (1991) demonstraram que 1 μ M de Cd inibiu a elongação de raízes de *P. abies*. Em *Betula pendula*, 2 μ M de Cd causou redução do crescimento somente da parte aérea, enquanto a biomassa das raízes aumentou (Gussarsson, 1994). O Cd acumulou principalmente nas raízes finas e foi pouco transportado para a parte aérea. A concentração de Cd em raízes de *B. pendula* foi 10 vezes a concentração inibitória da elongação das raízes de *Picea abies*. Essa maior tolerância de *B. pendula* envolveu a produção de fitoquelatinas. A adição simultânea do metal e de Sufoximina Butionia (buthionine sulphoximine), inibidor da síntese de fitoquelatinas, provocou a redução severa do crescimento da planta, inclusive raízes (Gussarsson et al., 1996), demonstrando que a produção de fitoquelatinas é um dos mecanismos de tolerância a Cd em *B. pendula*.

Raízes de clones de *B. pendula* e *Betula pubescens* diferem muito quanto ao crescimento em solução nutritiva adicionada de doses crescentes de Cu e Zn (Utriainen et al., 1997), enquanto, em clones mais tolerantes, a concentração de metal que inibe o crescimento em 50% (CI_{50%}) foi de 30 μ M de Cu ou 4000 μ M de Zn. Em clones menos tolerantes estes valores foram de 8 μ M de Cu ou 350 μ M de Zn. Apesar das raízes do clone mais tolerante e do menos tolerante a Zn apresentarem a mesma quantidade de Zn, quando crescidos em concentrações equivalentes às respectivas CI_{50%}, o clone mais sensível apresentou uma tendência de translocar mais Zn para a parte aérea. Comportamento semelhante foi também observado em *E. maculata* e *E. urophylla* crescendo em solução nutritiva adicionada de doses de Zn de até 1600 μ M (Soares, 1999). As duas espécies foram sensíveis à elevação da dose de Zn, sendo a dose crítica de Zn na solução, para produção de parte aérea (redução de 10%), de 170 μ M para *E. maculata* e de 73 μ M para *E. urophylla*, indicando maior tolerância da *E. maculata*. A espécie mais sensível foi aquela que translocou mais Zn para a parte aérea, mesmo não tendo ocorrido diferença no teor de Zn nas raízes das duas espécies.

Em um experimento de curta duração (110 dias) em solução nutritiva, apesar de não significativa, a seguinte ordem crescente de quatro espécies arbóreas foi observada quanto à redução da matéria seca total pela adição de Ni, Cu e Ni + Cu, com sua respectiva produção relativa ao controle em %: 170 μ M de Ni – *Lonicera tatarica* (27) < *Cornus stolonifera* (30) < *Acer rubrun* (52) < *Pinus resinosa* (69); 315 μ M de Cu – *C. stolonifera* (18) < *A. rubrun* (27) < *L. tatarica* (33) < *P. resinosa* (52); 170 μ M de Ni e 315 μ M de Cu – *C. stolonifera* (17) < *L. tatarica* (20) < *A. rubrun* (28) < *P. resinosa* (94) (Heale e Ormrod, 1982). As coníferas são geralmente mais tolerantes do que as plantas caducifólias (Heale e Ormrod, 1982; Patterson e Olson, 1983). Por exemplo, as sementes de arbóreas caducifólias foram mais sensíveis a Cu do que as de

coníferas quanto à germinação (Patterson e Olson, 1983), mostrando claramente o potencial efeito dos metais pesados sobre a revegetação de solos contaminados. Mesmo dentro do gênero *Pinus* existe tolerância diferenciada aos metais pesados. Arduini, Godbold e Onnis (1994) observaram que *P. pinaster* foi ligeiramente mais tolerante a Cu do que *P. pinea*, enquanto este último foi mais tolerante a Cd.

As plantas que crescem em áreas contaminadas necessitam de mecanismos de tolerância em suas raízes para sobreviverem e crescerem. Em geral, existem dois tipos de tolerância: aquela que previne a absorção em excesso de íons de metal (exclusão = limitado influxo ou efluxo de metais pela modificação da afinidade, capacidade ou transporte do íons na plasmalema); e a habilidade de conviver com altas concentrações dos metais nos tecidos (tolerância = quelatão de íons metálicos por ácidos orgânicos ou fitoquelatinas, ou transporte rápido de compostos livres ou quelados para dentro de compartimentos de estocagem, ex. vacúolo) (Utriainen et al., 1997).

A tolerância a metais pesados parece ser uma resposta sincronizada pela planta inteira, que consiste de uma variedade de diferentes mecanismos fisiológicos e bioquímicos (Baker, 1984; Kahle, 1993). A evolução da resistência a metais tem sido demonstrada em espécies de plantas arbustivas, e a ocorrência de seleção natural de genótipos resistentes ocorrendo em populações é altamente significativa para explicar a sobrevivência de plantas de ciclo de vida curto em ambientes contaminados por metais pesados (Baker, 1987; Outridge e Hutchinson, 1991). Contudo, apesar das árvores serem comumente encontradas em áreas contaminadas por metais pesados em concentrações tóxicas (Freedman e Hutchinson, 1980; Eltrop et al., 1991), a existência de resistência a metais em populações de árvores tem sido raramente demonstrada.

Ecotipos de *Betula* e *Salix* tolerantes a Pb e Zn têm sido identificados crescendo em áreas de minas de Pb abandonadas na Alemanha (Eltrop et al.,

1991) e Inglaterra (Utriainen et al., 1997). Contudo, *Betula* e *Salix* possuem um ciclo de vida curto quando comparado a outros gêneros de arbóreas. Ciclos longos com maturidade tardia impedem uma rápida melhoria na tolerância a metais pela seleção de mudas tolerantes, particularmente em áreas antrópicas, onde a contaminação do solo pode ocorrer dentro do tempo de vida de uma árvore individual.

A existência de tolerância a metais em algumas populações de plantas arbustivas e gramíneas está bem documentada (Baker, 1984). Em poucos casos, a indução de baixo nível de tolerância a metais em plantas individuais pela pré exposição aos metais também tem sido demonstrada (Baker et al., 1986). A tolerância a Zn, Cd, Cu e Ni foi induzida em culturas de células de *A. pseudoplatanus* pelo cultivo sucessivo das células em meio contendo doses sub letais dos metais (Dickinson et al., 1992; Watmough, Gallivan e Dickinson, 1995). Isto demonstra a ocorrência de alterações na expressão gênica em resposta aos metais, sugerindo que a tolerância a metais em células de meristemas pode ser induzida *in vivo*. As plantas parecem conter um maior número de reações para toxicidade dos metais do que se havia pensado anteriormente, provendo genótipos tolerantes e não tolerantes com alguma capacidade para significativo ajuste ou adaptação fenotípica ao estresse causado por metais. O potencial para tolerância a metais está contido no genoma, porém sua expressão só ocorre sob exposição aos metais. Dentro de um limite definido pelo seu genótipo, um indivíduo possui uma variedade de adaptações fisiológicas as quais fornecem certo grau de plasticidade, que permite que a planta se ajuste às mudanças ocorridas no ambiente num curto espaço de tempo (Sultan, 1987). Assim, pode ser particularmente crucial para a sobrevivência de árvores e de outras plantas de ciclo longo expressar rápidas adaptações em resposta às mudanças do ambiente, nas quais a longevidade limita a oportunidade para uma rápida seleção de genótipos tolerantes (Dickinson, Lepp

e Turner, 1991). Estes resultados indicam que tolerância a metais pesados parece não ser tão estável como se pensava, e que certo grau de tolerância aos metais pode ser conseguido pelo pré tratamento das plantas aos metais (Cox e Hutchinson, 1981; Outridge e Huthcinson, 1991; Watmough, Gallivan e Dickinson, 1995), talvez refletindo a habilidade da planta de se adaptar ao estresse causado pelos metais pesados.

Os meristemas de plantas e calos de culturas de células não são homólogos e a tolerância a metais pode ter surgido da seleção de células do meristema resistentes durante a exposição aos metais na área de origem, essas células podem pré-existir no meristema devido às mutações ou indução da tolerância (Watmough e Dickinson, 1995). Tal indução pode ser resultado da indução de genes que fornecem mecanismos de resistência, sem necessitar de alterações genéticas, sendo simplesmente uma resposta fenotípica (plástica) (Dickinson, Lepp e Turner, 1991). Adaptações facultativas estão sob controle genético normal e podem ser um importante componente da resposta de plantas a estresses temporários ou flutuantes (Watmough e Dickinson, 1995). A indução de tolerância a metais pesados em indivíduos pode também ser benéfico por evitar a redução da diversidade genética que ocorre com a seleção genotípica; plantas de ciclo longo requerem uma quantidade máxima de variabilidade para se adaptarem aos estresses ambientais ao longo de suas vidas (Watmough e Dickinson, 1995).

A tolerância de pólenes de *Eucalyptus calophylla* a Al não se correlacionou com a presença do elemento no solo onde cresceram as plantas, e não foi observado nenhum aumento na sobrevivência ou crescimento de mudas formadas a partir de plantas oriundas de solos com excesso de elemento em relação a outras crescendo em áreas sem o problema (Egerton-Warburton, Griffin e Lomont, 1993). Os autores concluíram que não houve evidência para a tolerância a Al geneticamente determinada em *E. calophylla* crescendo em solos

de minas de carvão. Turner e Dickinson (1993a) não encontraram evidências para tolerância a metais pesados em *A. pseudoplatamus*, nem em solução nutritiva nem em solo. Os autores também concluíram que não existiu uma tolerância genética e herdável selecionada no modelo clássico. Nenhuma diferença significativa pode ser identificada entre as mudas de áreas contaminadas e aquelas de áreas não contaminadas.

Existem limitadas evidências para o tolerância aos metais pesados ocorrendo em plantas de ciclo longo (Dickinson, Lepp e Turner, 1991), provavelmente devido a dificuldades experimentais associadas com o longo ciclo de vida das plantas (Turner, Dickinson e Lepp, 1993), apesar das diferenças inter e intra específicas quanto à tolerância a metais pesados em árvores (Steiner, McCormick e Canavera, 1980; Eltrop et al., 1991; Arduini, Godbold e Onnis, 1994 e 1996; Soares, 1999; Marques, Moreira e Siqueira, 2000). Marques, Moreira e Siqueira (2000), estudando a tolerância de 20 espécies arbóreas tropicais à multicontaminação do solo por metais (Zn, Cd e Pb), observaram que a produção de matéria seca da parte aérea de *Myrsine umbellata*, *Cedrella fissilis*, *Tabebuia impetiginosa* e *Copaiifera langsdorffi* não foi reduzida pela contaminação e outras quatro sofreram pequeno impacto. Exceto *M. umbellata* para Zn e Cd, estas espécies foram capazes de reter os metais nas raízes, com a seguinte faixa da razão R/PA: Zn = 2,4 a 8,5; Cd = 1,7 a 62,3; Pb = 2,3 a 147, indicando ser isto um dos mecanismos de tolerância nestas espécies. Como estas espécies não possuíam histórico prévio de tolerância a metais pesados, isto também demonstra que a tolerância a metais pesados em espécies arbóreas pode não depender de uma seleção genética clássica, mas ocorrer por meio de modificações genéticas estimuladas pelos fatores estressantes do ambiente.

Assim, alguma outra explicação é requerida para justificar a sobrevivência de árvores em solo contaminado. É possível que o grande genoma

das árvores possa fornecer suficiente diversidade biológica para fornecer algum nível de tolerância constitutiva (Turner e Dickinson, 1993a). Combinado com isto, as raízes podem evitar altas concentrações de metais crescendo em subsolo não contaminado ou onde exista menor biodisponibilidade local (Turner e Dickinson, 1993a). Contudo, a contaminação dos solos ocorre até consideráveis profundidades, certamente incluindo as principais zonas radiculares, e amostras de solo com baixo nível de metais não foram coletadas durante extensiva amostragem em áreas contaminadas (Dickinson, Turner e Lepp, 1991; Ribeiro-Filho et al., 1999). Também é possível que estudos com mudas não reflitam precisamente a respostas de árvores adultas ao impacto dos metais pesados (Turner e Dickinson, 1993a). Existem muitas diferenças entre mudas e árvores adultas, tais como a razão de tecidos metabólicos e catabólicos (Pye, 1988), o que resulta em diferentes respostas ao estresse dos metais pesados, contribuindo assim para uma aparente menor tolerância nas mudas.

2.2. Importância das ectomicorrizas

Apesar de toda essa discussão, é consenso, na literatura, que a regulação da absorção dos metais pesados na rizosfera (Denny e Wilkins, 1987a), a acumulação nos tecidos das raízes quando preservadas sua integridade e funções primárias (Meharg, 1993) e uma baixa translocação para a parte aérea são considerados os possíveis mecanismos pelos quais o sistema radicular pode contribuir para a tolerância das espécies arbóreas aos metais pesados. Diferenças na distribuição de metais nas raízes e parte aérea entre plantas tolerantes e não tolerantes têm sido freqüentemente apresentadas (Lolkema et al., 1984; Verkleij e Prast, 1985). Vários trabalhos demonstram que os metais são acumulados mais nas raízes do que na parte aérea das plantas (Taylor e Foy, 1985; Wu e Lin, 1990). Neste sentido, também é consenso a habilidade de fungos micorrízicos de protegerem as plantas hospedeiras da contaminação do solo por metais pesados

por reterem estes nas ou sobre (manto fúngico) as raízes, impedindo a translocação para a parte aérea.

A tolerância de Zn em espécies de *Betula* crescendo em área de minas é pelo menos parcialmente devido às associações ectomicorrízicas (Denny e Wilkins, 1987b; Wilkins, 1991), embora Gussarsson et al. (1996) tenham demonstrado o envolvimento da produção de fitoquelatinas em raízes de *B. pendula* crescendo em solução nutritiva adicionada de doses de Cd. Contudo, não é provável que um único mecanismo explique sozinho o fenômeno da tolerância a metais pesados e sim que haja um conjunto de respostas da planta, envolvendo os mecanismos de tolerância, ou por evitar a toxicidade dos metais (Turner e Dickinson, 1993b).

A tolerância a metais pesados em plantas tem sido estudada detalhadamente em termos de fisiologia, ecologia e evolução (Baker, 1987; Macnair, 1993). A co-evolução de simbioses em solos naturalmente ou antropicamente poluídos tem sido ilustrada para associações de rizóbio com leguminosa (Wu e Lin, 1990) e para micorrizas arbusculares com gramíneas (Dueck et al., 1986). No entanto, apesar da ampla ocorrência de fungos ectomicorrízicos (FEM) em áreas altamente contaminadas com metais pesados, a co-evolução desses fungos com suas espécies hospedeiras, nessas áreas contaminadas, não tem sido estudada em detalhe.

As associações micorrízicas podem proteger as plantas dos metais pesados. Diversos trabalhos têm demonstrado que plantas colonizadas por fungos ectomicorrízicos crescem mais do que aquelas não colonizadas, em ambiente contaminado por metais pesados (Tabela 1). Este maior crescimento observado nas plantas colonizadas parece ser devido ao efeito protetor exercido pelo fungo, retendo no micélio os metais (raízes colonizadas) e reduzindo sua translocação para a parte aérea da planta (Tabela 2). No entanto, os resultados diferem entre os isolados e espécies de FEM, plantas hospedeiras, diferentes

metais pesados e as condições experimentais usadas. Jones e Hutchinson (1986) mostraram que *Scleroderma flavidum* foi o único fungo, entre quatro testados, capaz de aumentar a tolerância a Ni em *Betula papyrifera* colonizada, contudo, nenhum dos fungos alterou a toxicidade de Cu.

Tabela 1. Crescimento relativo (CR) de plantas associadas ou não com fungos ectomicorrízicos (FEM) em substratos contaminados por metais pesados

| Planta Hospedeira | FEM | Metal (μM) | I | CR (%) | Referência |
|---|------------------------------|-------------------------|---|--------|------------------------------|
| <i>Betula sp.</i> (Tolerante) | <i>Amanita muscaria</i> | 1500 (Zn) | + | 58 | Brown e Wilkins, 1985b |
| | | | - | 43 | |
| <i>Betula sp.</i> (\pm tolerante) | <i>A. muscaria</i> | 1500 (Zn) | + | 48 | Brown e Wilkins, 1985b |
| | | | - | 23 | |
| <i>Betula sp.</i> (Não tolerante) | <i>A. muscaria</i> | 1500 (Zn) | + | 36 | Brown e Wilkins, 1985b |
| | | | - | 13 | |
| <i>Betula papyrifera</i> | <i>Scleroderma flavidum</i> | 85 (Ni) | + | 78 | Jones et al., 1986 |
| | | | - | 42 | |
| <i>B. papyrifera</i> | <i>S. flavidum</i> | 85 (Ni) | + | 90 | Jones e Hutchinson, 1986 |
| | | | - | 71 | |
| <i>Pinus rigida</i> | <i>Pisolithus tinctorius</i> | 200 (Al) | + | 97 | Cumming e Weinstein, 1990 |
| | | | - | 54 | |
| <i>Pinus strobus</i> | <i>P. tinctorius</i> | 1853 (Al) | + | 82 | Schier e McQuattie, 1995 |
| | | | - | 22 | |
| <i>Eucalyptus urophylla</i> | <i>P. tinctorius</i> | 60 (Ni) | + | 61 | Aggangan et al., 1998 |
| | | | - | 30 | |

()=metal estudado; I= inoculação; CR(%)=(crescimento no tratamento com metal/crescimento no controle) 100

Tabela 2. Concentração (Conc.) de metais pesados na parte aérea (PA) e raízes (R) de plantas colonizadas por fungos ectomicorrizicos (FEM) em substratos contaminados

| Planta hospedeira | FEM | Metal (μM) | I | Conc. na PA ($\mu\text{g g}^{-1}$) | Conc. na R ($\mu\text{g g}^{-1}$) | Referência |
|--------------------------|------------------------------|-------------------------|--------|--------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------|
| <i>Betula papyrifera</i> | <i>Scleroderma flavidum</i> | 85 (Ni) | + - | 130 180 | 1200 840 | Jones e Hutchinson, 1986 |
| <i>B. papyrifera</i> | <i>S. flavidum</i> | 85 (Ni) | + - | 16 62 | 1219 1028 | Jones et al., 1986 |
| <i>Pinus vigida</i> | <i>Pisolithus tinctorius</i> | 200 (Al) | + - | 179 383 | - - | Cumming e Weinstein, 1990 |
| <i>Pinus sylvestris</i> | <i>Suillus bovinus</i> [NP1] | 14000 (Zn) | + - | 162 196 | 925 273 | Colpaert e Van Assche, 1992a |
| <i>P. sylvestris</i> | <i>S. bovinus</i> [P2] | 14000 (Zn) | + - | 150 196 | 1108 273 | Colpaert e Van Assche, 1992a |
| <i>P. sylvestris</i> | <i>Paxillus involutus</i> | 14000 (Zn) | + - | 104 196 | 708 273 | Colpaert e Van Assche, 1992a |
| <i>P. sylvestris</i> | <i>S. bovinus</i> [Sb+Zn] | 3000 (Zn) | + - | 49 129 | 1055 1064 | Bücking e Heyser, 1994 |
| <i>Picea abies</i> | <i>Laccaria laccata</i> | 190 (Cd) | + - | 10 26 | 264 218 | Galli et al., 1993 |
| <i>P. sylvestris</i> | <i>S. bovinus</i> [P3] | 44,5 (Cd) | + - | 0,3 1,2 | 230 84 | Colpaert e Van Assche, 1993 |
| <i>Pinus strobus</i> | <i>Pisolithus tinctorius</i> | 927 (Al) | + - | 149 292 | - - | Schier e McQuattie, 1995 |

()=metal estudado; I.= inoculação; []=isolado

Mudas de *Betula*, *Pinus* e *Picea* são menos susceptíveis a concentrações tóxicas de Zn, Cu, Ni e Al quando associadas com várias espécies de FEM; isto está relacionado a uma correspondente redução da concentração dos metais na parte aérea (Cumming e Weinstein, 1990; Wilkins, 1991). [Espécies arbóreas lenhosas de Ericaceae, *Calluna vulgaris*, *Vaccinium macrocarpon* e *Rhododendron ponticum* só crescem em condições de alta concentração de Zn e Cu (cultivo em areia), na presença de seus respectivos fungos endófitos (Bradley, Burt e Read, 1982), aparentemente devido à presença da hifa dentro das células corticais das raízes das plantas, prevenindo a translocação dos metais para a parte aérea, e assim impedindo que estes atinjam concentrações tóxicas.]

Colpaert e Van Assche (1993), ao avaliarem o efeito tóxico de uma concentração sub-letal de Cd em mudas de *P. sylvestris* colonizadas por fungos ectomicorrízicos, observaram que todos os nove fungos testados promoveram um efeito protetor contra a toxicidade por Cd. Estes autores sugeriram que esse resultado foi devido à capacidade do fungo de reter Cd dentro ou sobre seu micélio. Denny e Wilkins (1987d) e Colpaert e Van Assche (1992a) também observaram que o micélio extramatricial tem uma significativa função na retenção de altas quantidades do íon Zn. [A quantidade de tecido fúngico produzido pelo microsimbionte correlaciona-se positivamente com a proteção da planta hospedeira contra toxicidade por metais pesados (Jones e Hutchinson, 1988a). Os resultados apresentados corroboram a idéia de que o maior crescimento das plantas colonizadas é devido à capacidade do fungo micorrízico de prevenir a translocação dos metais para a parte aérea (Tabela 2). A maior concentração de metais observada nas raízes, em relação à parte aérea, parece ser devido à habilidade do fungo em reter os metais sobre ou dentro do micélio, e não a uma maior absorção pela raiz propriamente. A considerável quantidade de biomassa fúngica produzida pelas associações ectomicorrízicas suporta esta idéia.]

Em *P. sylvestris* crescendo em substrato contaminado com Zn, raízes colonizadas com *Scleroderma citrinum*, *Paxillus involutus* ou dois diferentes isolados de *Suillus bovinus* apresentaram maior concentração de Zn do que as colonizadas por *Thelephora terrestris* e *Laccaria laccata* (Colpaert e Van Assche, 1992a). A concentração mais alta de Zn nas raízes colonizadas por fungos ectomicorrízicos sugere que o fungo é capaz de reter Zn dentro ou sobre seu micélio. A variação na concentração de Zn entre diferentes micorrizas é maior do que a variação na biomassa dos fungos ou na espessura do manto. A capacidade de retenção de Zn no micélio é espécie-específica e isto é determinado pelas propriedades bioquímicas do mecanismo de retenção (Colpaert e Van Assche, 1992b).

Após o plantio de espécies arbóreas, as comunidades de FEM sofrem alterações com o tempo, e a ausência da associação ectomicorrízica pode ser a causa do pobre estabelecimento de plantios em alguns solos, incluindo solos contaminados por metais pesados (Burton, Morgan e Roig, 1984). Contudo, a significância evolucionária da habilidade de uma população de arbóreas em suportar concentrações altas de metais pesados ser devida à colonização micorrízica das raízes não tem sido realmente considerada, embora a possibilidade de ocorrência de mudanças genéticas em ciclos de vida mais curtos, como o dos fungos, seja consideravelmente maior. Desta forma, a elucidação das mudanças genéticas na comunidade micorrízica parece essencial para um bom entendimento da sobrevivência das plantas de ciclo longo e não tolerantes em solos contaminados por metais pesados.

Mais de 5400 espécies de FEM, de 148 gêneros diferentes, têm sido identificadas no mundo inteiro, sendo a maioria de solos de florestas temperadas (Allen et al., 1995). Muitos FEM são associados com florestas de coníferas de baixa diversidade de plantas e apresentam uma certa especificidade a hospedeiros. Em uma escala local, a diversidade de fungos é alta com o número

de espécies de FEM variando de 13-35 por 0,1 ha (Bruns, 1995); contudo, em uma floresta desenvolvida, a variação genética intra-espécies em FEM é geralmente baixa (Dahlberg e Stenlid, 1994). Estes fatores também podem influenciar o tipo e a frequência de adaptação genotípica a metais pesados.

Isolados de *Pisolithus tinctorius* de uma área de mina de carvão com solo ácido foram mais tolerantes a Al do que isolados de solos não contaminados (Egerton-Warburton e Griffin, 1995). Neste estudo, a sensibilidade de 19 isolados a Al foi correlacionada com o nível de Al do solo de origem dos isolados. A habilidade de isolados de *Suillus luteus*, *S. bovinus* e *Amanita muscaria* de sobreviverem e crescerem na presença de Cd e Zn também correlacionou-se com o nível de metal do solo de origem (Colpaert e Van Assche, 1992a, 1993). Em contraste, a tolerância a Cu em três isolados de *L. laccata*, cinco de *P. involutus* e um de *S. citrinum*, não foi relacionada com a contaminação por Cu dos sítios de origem (Howe, Evans e Ketteridge, 1997). Visto que somente 1 a 5 isolados de cada espécie foram estudados nestes trabalhos, tais resultados devem ser interpretados com cautela. Em um estudo mais detalhado, 10 isolados de *P. involutus*, obtidos em diversos solos, apresentaram diferenças significativas quanto à tolerância a Zn (Denny e Wilkins, 1987c). No entanto, os autores também não observaram relação entre a sensibilidade de isolados e índices de contaminação do solo de origem. Fungos tolerantes a metais normalmente são mais abundantes em solos com altas concentrações de metais, porém estes também podem ser isolados de solos não contaminados, o que sugere a existência de uma ampla variação genética para tolerância a metais nas populações de fungos micorrízicos.

Estudos com mudas colonizadas por FEM sugerem que a proteção conferida às plantas hospedeiras pelos FEM contra os metais pesados também não depende do sítio de origem do fungo. Dez isolados de *P. involutus* de ambientes contaminados e não contaminados não apresentavam nenhuma

relação entre a proteção conferida à planta hospedeira e a contaminação de seu sítio de origem (Denny e Wilkins, 1987c). A sensibilidade a Cd e Zn em *S. luteus* e *S. bovinus*, em simbiose com *P. sylvestris*, também pareceu ser independente do sítio de origem (Colpaert e Van Assche, 1992a; 1993). Deste modo, a contribuição da associação ectomicorrízica parece ser dependente do comportamento dos fungos na presença das raízes (Brown e Wilkins, 1985a, b; Jones e Hutchinson, 1986).

Como visto, espécies arbóreas podem sobreviver em solos altamente contaminados por metais pesados (apesar do crescimento ser reduzido) e, ao contrário das plantas herbáceas, existem poucas evidências da tolerância geneticamente herdável em árvores. Espécies arbóreas e outras plantas de ciclo de vida longo obviamente respondem mais lentamente, porém podem ser capazes de sobreviver devido a uma maior amplitude do genoma (Wilkinson e Dickinson, 1995), o que promove maior variabilidade e maior plasticidade. A plasticidade fenotípica pode permitir a sobrevivência em ambientes extremos, promovendo um significativo grau de adaptação à toxicidade de metais, até mesmo em plantas não tolerantes (Dickinson et al., 1992). Contudo, uma explicação mais completa para a sobrevivência de árvores em solo contaminado deveria considerar o papel da associação micorrízica, no contexto fisiológico, como barreira entre as raízes e os metais pesados e, no contexto genético, de sua habilidade de desenvolver tolerância a metais. Efetivamente, o menor ciclo de vida dos fungos pode facilitar mudanças genéticas no complexo fungo-raiz (micorriza) no tempo de vida de uma planta individualmente. Deste modo, a micorriza poderia permitir um ajuste às condições locais de solo ao facilitar a absorção de alguns elementos químicos e exclusão de outros. Daí surge, também, a possibilidade de que muitas das respostas de plantas, atribuídas a sua plasticidade fenotípica, às condições de solo, podem ser devidas às mudanças genéticas, as quais são mais restritas às comunidades de fungos micorrízicos do

que às plantas (Wilkinson e Dickinson, 1995). No entanto, o real significado das mudanças genéticas na comunidade de FEM sobre a adaptação das plantas ao ambiente ainda não é conhecido.

O principal papel evolucionário da micorriza, talvez, seja facilitar a adaptação das plantas às condições de solo. É claro que, para isto, não necessariamente sejam requeridos novas mutações na comunidade de fungos micorrízicos, como mostrado pela ausência de relação da tolerância com a contaminação do sítio de origem; variações genéticas já presentes nos fungos podem prover genótipos que crescem bem com uma determinada desvantagem competitiva em uma condição de solo. A existência desta variação genética pode ser demonstrado pela diferença de concentração de metais pesados entre basidiocarpos de oito espécies de fungos ectomicorrízicos coletados de uma mesma área de mina de carvão mineral abandonada e apresentando alto teores de metais pesados (Tabela 3). Além disso, as concentrações de alguns metais observadas nos basidiocarpos foram muitas vezes maiores do que aquelas observadas em plantas hospedeiras ocorrendo na mesma área (Tabela 3) e até mesmo maiores do que a concentração de metais observadas no solo (Tabela 4). Estes resultados, bem como aqueles de crescimento e translocação de metais para a parte aérea em plantas colonizadas (Tabela 1 e 2), são indícios da grande significância dos FEM na adaptação das plantas hospedeiros em condições de solo contaminado por metais pesados.

Tabela 3. Concentração de metais pesados em basidiocarpos de fungos ectomicorrízicos e em *Pinus resinosa*

| Fungo/ Pinus | Metal | | | | | |
|----------------------------------|---------------------|-----|-----|------|------|-----|
| | Al | Cd | Cr | Cu | Mn | Zn |
| | mg kg ⁻¹ | | | | | |
| <i>Amanita muscaria</i> | — | 0.7 | 0.2 | 13.4 | 37.6 | 60 |
| <i>A. pantherina</i> | 38 | 3.4 | 0.8 | 11.4 | 8.8 | 82 |
| <i>Leccinum sp.</i> | 24 | 0.4 | 0.9 | 12.2 | 9.2 | 86 |
| <i>Pisolithus tinctorius</i> | 2328 | 1.1 | 8.6 | 7.1 | 84.0 | 38 |
| <i>Scleroderma aurantium</i> | 293 | 0.4 | 1.1 | 7.1 | 30.4 | 341 |
| <i>Suillus sp.</i> | 81 | 2.1 | 0.7 | 8.2 | 31.6 | 44 |
| <i>S. hirtellus</i> | 47 | 0.2 | 0.4 | 5.9 | 45.0 | 46 |
| <i>S. luteus</i> | 56 | 2.0 | 0.4 | 14.5 | 16.0 | 71 |
| <i>P. resinosa</i> ^{1/} | 505 | 0.5 | 3.9 | 2.6 | 1627 | 34 |

Extrator: ácido nítrico

Modificado de Medve e Sayre, 1994

1/ média de folha, caule e raiz

Tabela 4. Concentração de metais pesados e fator de concentração (F_c) em basidiocarpos de dois fungos ectomicorrízicos, crescendo em vários solos.

| Fungo | Solo | | | Basidiocarpo | | | F _c | | |
|--|---------------------|----|-----|--------------|------|-----|----------------|-----|-----|
| | Cd | Zn | Cu | Cd | Zn | Cu | Cd | Zn | Cu |
| | mg kg ⁻¹ | | | | | | | | |
| <i>Amanita muscaria</i> ^{1/} | 1,5 | 7 | 42 | 47,8 | 46,1 | 245 | 32 | 6,6 | 5,8 |
| | 5,3 | 48 | 643 | 33,8 | 58,6 | 394 | 6 | 1,2 | 0,6 |
| | 3,5 | 68 | 317 | 39,6 | 59,7 | 339 | 11 | 0,9 | 1,1 |
| <i>Scleroderma aurantium</i> ^{2/} | 6,5 | 25 | 100 | 0,4 | 7,1 | 341 | 0 | 0,3 | 3,4 |

1/ Research Institute for Nature Management. Annual Report 1984, citado por Doelman, 1986

2/ Medve e Sayre, 1994 (Extrator: ácido nítrico)

2.3. Tolerância de fungos ectomicorrízicos em cultura pura

Os FEM fazem parte dos componentes no ecossistema abaixo da superfície do solo (Gerdemann, 1968; Ruehle e Marx, 1979, Söderström, 1991) e possuem capacidade de tolerar altas concentrações de metais pesados e de reduzir a toxicidade desses metais às plantas hospedeiras. Favorecem, assim, o crescimento e a sobrevivência das plantas em áreas contaminadas por serem capazes de reduzir a translocação dos metais para a parte aérea das plantas. A utilização de mudas colonizadas por esses fungos tem sido considerada uma estratégia promissora na revegetação de áreas contaminadas por metais pesados. Assim, a seleção de fungos ectomicorrízicos tolerantes a metais pesados e com capacidade de proteção às plantas hospedeiras poderá favorecer a revegetação de áreas contaminadas.

Estudos em meio de cultura têm sido conduzidos para determinar a tolerância de diversos FEM a determinadas faixas de metais pesados (McCreight e Schroeder, 1982; Brown e Wilkins, 1985a e c; Denny e Wilkins, 1987c; Jones e Hutchinson, 1988c; Willenborg, Schmitz e Lelley, 1990; Jones e Muehlchen, 1994; Egerton-Warburton e Griffin, 1995; Howe, Evans e Ketteridge, 1997). Tais estudos sugerem que as diferenças de tolerância a metais existentes em FEM são intra e inter específicas (Tabela 5). Howe, Evans e Ketteridge (1997), estudando a tolerância a Cu em três isolados de *L. laccata*, cinco de *P. involutus* e um de *S. citrinum*, observaram que *P. involutus*, em geral, foi o mais tolerante; três dos cinco isolados demonstraram algum crescimento no maior nível de Cu (4 mM de CuSO₄), enquanto nenhum isolado de *L. laccata* cresceu nesta concentração. Todos os isolados de *L. laccata* cresceram no meio contendo 2,5 mM de CuSO₄. O único isolado de *S. citrinum* foi consideravelmente menos tolerante do que as duas outras espécies e não cresceu em meio contendo 10 vezes menos Cu. O *Scleroderma flavidum* também exibiu menor tolerância a Cu e Ni do que *Lactarius rufus* (Jones e Hutchinson, 1988c) e *A. muscaria* foi mais

Tabela 5. Resumo dos estudos de tolerância de FEM em cultura pura. Valores de $CI_{50\%}$ são apresentados

| Fungo | Metal | $CI_{50\%}$ | |
|----------------------------|---------------|---------------------|---------------|
| | | Meio sólido (ágar) | Meio líquido |
| | | μM | |
| <i>Amanita muscaria</i> | Cd, desc. | Cd, 1334-1779 | |
| | Cd, 0-445 | Cd, 178-445 | |
| | Cd, 0,89 | Cd, 445-890 | |
| | Pb, desc. | Pb, 338 $CI_{50\%}$ | |
| | Ni, desc. | Ni, 480 $CI_{50\%}$ | |
| | Zn, 15-15300 | Zn, 7650-15300 | Zn > 15300 |
| | | Zn, 1530-7650 | Zn, 1530-7650 |
| | Zn, 0,8-11500 | Zn, 800-4700 | |
| Cu, 16-2360 | Cu, 785-2360 | Cu, 785-2360 | Cu, 785-2360 |
| | Cu, 785-2360 | Cu, 785-2360 | Cu, 785-2360 |
| <i>Cenocccum geophilum</i> | Cd, 0,9-1930 | | Cd, 9 |
| | Pb, 0,5-1930 | | Pb, 965 |
| | Ni, 1,7-6816 | | Ni, 17 |
| | Zn, 1,5-6117 | | Zn, 153 |
| | Cu, 1,6-6294 | | Cu, 157 |
| | Al, 0,4-14826 | | Al, 371 |
| <i>Cenocccum graniform</i> | Cd, desc. | Cd < 18 | |
| | Pb, desc. | Pb < 4826 | |
| | Ni, desc. | Ni, 809 $CI_{50\%}$ | |
| | Al, 0-18500 | Al, 1850-3700 | |
| <i>Laccaria laccata</i> | Cd, desc. | Cd, 151 $CI_{50\%}$ | |
| | Cd, 0-445 | Cd, 89-178 | |
| | Pb, desc. | Pb, 1,0 $CI_{50\%}$ | |
| | Ni, desc. | Ni, 215 $CI_{50\%}$ | |
| | Al, 0-3706 | Al > 3706 | |
| | Zn, 0-15297 | Zn, 1530-15297 | |
| | Cu, 0-1573 | Cu, 157-1573 | |
| <i>Laccaria bicolor</i> | Cd, 0-10 | Cd, 0,1-0,5 | Cd, 0,1-0,5 |
| <i>Laccaria proxima</i> | Ni, 0-1704 | Ni > 1704 | Ni > 85 |
| | Cu, 0-393 | Cu > 393 | Cu > 63 |

Continua ...

Tabela 5. Continuação...

| Fungo | Concentração testada | CI _{50%} | | |
|------------------------------|------------------------------|---------------------------|------------------|--|
| | | Meio sólido (ágar) | Meio líquido | |
| | | μM | | |
| <i>Lactarius hepaticus</i> | Cd, 0-10 | Cd, 0,1-0,5 | | |
| <i>Lactarius hibbardae</i> | Ni, 0-1704 | Ni < 426 | Ni < 34 | |
| | Cu, 0-393 | Cu > 393 | Cu > 63 | |
| <i>Lactarius rufus</i> | Ni, 0-1704 | Ni < 426 | Ni, 34-85 | |
| | Cu, 0-393 | Cu > 393 | | |
| | Cd, 0-10 | Cd > 10 | | |
| <i>Paxillus involutus</i> | Cd, 0-3 | Cd < 0,3 | Cd > 1,0 | |
| | Cd, 0-890 | Cd < 22 {4} | | |
| | Cd, 0-890 | Cd, 222-444 | | |
| | Cd, 0-445 | Cd < 9 | | |
| | Cd, 0-25 | | Cd, 2,2 | |
| | Zn, 0,8-11500 | Zn, 0,8-800 {3} | | |
| | Zn, 15-14300 | Zn, 1530-7650{2} | Zn, 1530-7650{2} | |
| | Zn, 0-7000 | Zn, 1000-5000{10} | | |
| | Cu, 16-2360 | Cu, 392-785 {2} | Cu, 392-785 {2} | |
| | <i>Pisolithus tinctorius</i> | Cd, desc. | Cd < 89 | |
| Cd, 0-890 | | Cd, 0-222 | | |
| Cd, 0,9-3560 | | | Cd, 89 | |
| Pb, desc. | | Pb, 315 CI _{50%} | | |
| Pb, 0,5-1930 | | | Pb, 965 | |
| Ni, desc. | | Ni, 126 CI _{50%} | | |
| Ni, 1,7-6816 | | | Ni, 170 | |
| Al, 0-18500 | | Al, 0-5560 {3} | | |
| Al, 0-74129 | | Al, 19-74129 {10} | Al, 7413 | |
| Cu, 1,6-6294 | | | Cu, 3148 | |
| Zn, 1,5-6117 | | | Zn, 3060 | |
| <i>Scleroderma aurantium</i> | | Cd, 0-890 | Cd < 890 | |
| | | Cd, 0-890 | Cd < 222 | |
| <i>Scleroderma citrinum</i> | Cd, 0-445 | Cd < 9 | | |

Continua ...

Tabela 5. Continuação..

| Fungo | Concentração testada | CI _{50%} | |
|-----------------------------|-------------------------|----------------------------|---------------|
| | | Meio sólido (ágar) | Meio líquido |
| | | μM | |
| <i>Scleroderma flavidum</i> | Ni, 0-1704 | Ni < 426 | Ni < 34 |
| | Cu, 0-1573 | Cu < 393 | Cu > 63 |
| <i>Suillus bovinus</i> | Cd, 0-890 | Cd < 222 | |
| | Cd, 0-445 | Cd, 9-89 {2} | |
| | Cd, 0-445 | Cd, 89-178 | |
| | Zn, 15-15300 | Zn > 15300 | |
| | Zn, 15-15300 | Zn > 1530-7650 | Zn, 1530-7650 |
| | Cu, 16-2360 | Cu, 393-786 | Cu, 393-786 |
| | Cu, 16-2360 | Cu, 393-786 | Cu, 786-2360 |
| <i>Suillus grevellei</i> | Cd, desc. | Cd < 89 | |
| | Cd, 0-890 | Cd < 222 | |
| | Pb, desc. | Pb, 449 CI _{50%} | |
| | Ni, desc. | Ni < 170 | |
| <i>Suillus luteus</i> | Cd, desc. | Cd, 127 CI _{50%} | |
| | Cd, 0-445 | Cd, 0-9 | |
| | Cd, 0-445 | Cd, 9-89 | |
| | Cd, 0-25 | | Cd, 0,4 |
| | Pb, desc. | Pb, 2549 CI _{50%} | |
| | Pb, 0-125 | | Pb > 125 |
| | Ni, desc. | Ni, 1092 CI _{50%} | |
| | Al, 0-18500 | Al > 18500 | |
| | Zn, 15-15300 | Zn > 15300 | |
| | Zn, 15-15300 | Zn, 7650-15300 | |
| | Cu, 16-2360 | Cu, 786-2360 | |
| Cu, 16-2360 | Cu, 393-786 | | |
| <i>Suillus variegatus</i> | Zn, 0-15300 | Zn, 1530-15300 | |
| | Zn, 0-375 | | Zn, 360 |
| | Cu, 0-1570 | Cu, 157-1570 | |
| | Al, 0-3700 | Al > 3700 | |

Continua ...

Tabela 5. Continuação..

| Fungos | Metal | CI _{50%} | |
|------------------------------|---------------|---------------------------|--------------|
| | | Meio sólido (ágar) | Meio líquido |
| <i>Thelephora terrestris</i> | Cd, desc. | μM | |
| | Cd, 0-445 | Cd, 135 CI _{50%} | |
| | Cd 0,9-3558 | Cd, 178-445 | |
| | Pb, desc. | | Cd, 9 |
| | Pb, 0,5-1930 | Pb, 398 CI _{50%} | |
| | Ni, desc. | | Pb, 965 |
| | Ni, 1,7-6816 | Ni, 327 CI _{50%} | |
| | Zn, 15-15300 | Zn, 7650-15300 | |
| | Zn, 15-15300 | Zn, 1530-7650 | |
| | Zn, 0-15300 | Zn > 15293 | |
| | Zn, 1,56117 | | Zn, 153 |
| | Al, 0-18500 | Al, 1850-3700 | |
| | Al, 0-3700 | Al > 3700 | |
| | Al, 0,4-14826 | | Al, 371 |
| | Cu, 0-1573 | Cu > 1574 | |
| | Cu, 1,6-6294 | | Cu, 157 |

CI_{50%} = Concentração que inibe o crescimento em 50%; { } = número de isolados; desc. = desconhecida.

Modificado de Hartley, Cairney e Meharg (1997).

tolerante a Cd do que quatro outras espécies de FEM (Colpaert e Van Assche, 1992a). É difícil estabelecer comparações entre esses estudos devido ao pequeno número de espécies e, ou isolados usados, a utilização de meios líquidos ou sólidos e, em muitos casos, a falha na obtenção de curvas de respostas a doses sobre adequadas faixas de concentração (Tabela 5).

Existem vários problemas associados com o uso de meios com ágar em estudos de tolerância a metais pesados (Gadd, 1993). A complexação dos metais dentro da matriz do substrato pode ocorrer, alterando a disponibilidade dos metais. O ágar pode, também, conter metais. Estes fatores limitam a utilidade deste método para avaliação da tolerância a metais, pois pode fornecer valores

discrepantes de $CI_{50\%}$, obtidos para determinadas espécies de fungos (Jones e Hutchinson, 1988c). Em geral, valores de $CI_{50\%}$ são consideravelmente menores em meios líquidos do que em meios sólidos (Tabela 5). Por exemplo, o crescimento de *T. terrestris* não foi significativamente reduzido em meio sólido contendo 15 mM de Zn (Jones e Muehlchen, 1994), enquanto em meio líquido, 150 μ M de Zn causaram uma redução na biomassa maior do que 50 % (Tam, 1995).

O crescimento radial sobre ágar é freqüentemente usado para medir toxicidade, contudo tal medida não considera a forma de crescimento e a densidade micelial. Darlington e Rauser (1988) observaram que *P. involutus* crescendo em meio de cultura sólido adicionado de Cd apresentou maior densidade de micélio por apresentar maior número de ramificações laterais em um mesmo ponto da hifa e menor distância entre os pontos de ramificação, demonstrando o quanto podem ser falhos os trabalhos que avaliam toxicidade de metais a FEM pela medição do diâmetro da colônia. Isto parece ser significante uma vez que a densidade micelial pode ser um importante fator na sobrevivência de FEM na presença de metais pesados (Denny e Wilkins, 1987c). A produção de biomassa fúngica determinada em meio líquido fornece dados mais precisos sobre a tolerância a metais, pois independe da forma de crescimento. Além disso, os meios líquidos permitem uma regulação mais precisa da concentração de metal a qual o fungo é exposto. Embora o uso de meios líquidos ofereçam várias vantagens sobre o uso de meios sólidos, é importante considerar que o crescimento micelial em meio líquido sofre estresses, não representando, desta forma, perfeitamente o crescimento micelial no solo. O micélio de fungos basidiomicetos geralmente não se diferencia completamente na ausência de um substrato sólido e isto pode afetar a resposta do organismo aos metais (Hartley, Cairney e Meharg, 1997).

A concentração de íons complexantes ou precipitantes constitui outro problema nos estudo de tolerância a metais em culturas puras. Os fosfatos, que são utilizados em altas concentrações nos meios de culturas, formam precipitados com muitos metais pesados (Angle, Mcgrath e Chaudri, 1992). Esses autores, estudando a influência de fosfatos sobre a toxicidade de Cd em *Rhizobium* spp., observaram que as concentrações acima de 2,1 mM de fosfato reduziram significativamente a toxicidade de Cd. O meio de cultura MNM modificado (Marx, 1969), freqüentemente usado em estudos de resposta de FEM a metais (Egerton-Warburton e Griffin, 1995; Tam, 1995, Howe, Evans e Ketteridge, 1997), contém 1,9 mM de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ mais 3,7 mM de KH_2PO_4 . Nestas concentrações de fosfato, parece improvável que altas concentrações de metais, tais como 74 mM de Al, usado por Egerton-Warburton e Griffin (1995), estariam completamente disponíveis. Desta forma, valores de $\text{CI}_{50\%}$ obtidos nesse estudo devem ser considerados com cautela. Esta discussão demonstra a dificuldade de se estabelecerem comparações entre trabalhos e de prever a concentração real de metal em que o fungo é inibido. Contudo, os ensaios em meio de cultura são de grande valor na comparação prévia da tolerância de diferentes espécies e ou isolados de FEM.

Outro fato não considerado nos experimentos em meio de cultura é que, em geral, áreas contaminadas apresentam contaminações múltiplas. Os processos de mineração, fusão e manufaturação dos metais freqüentemente provocam a contaminação do ambiente por uma mistura de metais potencialmente tóxicos (Hunter, Johnson e Thompson, 1987). As interações entre metais pesados influenciam suas toxicidade para os fungos ectomicorrízicos, e a inibição do crescimento fúngico pela contaminação múltipla não pode ser predita a partir da toxicidade individual (Hartley, Cairney e Meharg, 1997). Contudo, informações sobre as interações de metais potencialmente tóxicos influenciando o crescimento ou a sobrevivência dos

fungos ectomicorrízicos são escassas. Colpaert e Van Assche (1992a), estudando dois isolados de *S. bovinus*, observaram diminuição da toxicidade de Cd^{2+} pela adição de $0,765 \mu M$ de Zn^{2+} . O efeito das interações entre metais variam entre espécies de fungos ectomicorrízicos (Hartley, Cairney e Meharg, 1997). Contudo, os autores observaram que o resultado da maioria das interações reduziu a toxicidade quando comparado com a toxicidade dos metais individuais. Antimônio reduziu a toxicidade de Cd^{2+} para *Lactarius deliciosus*, *Suillus variegatus* e *Suillus granulatus* e a toxicidade da mistura de Cd^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} e Sb^{3-} foi semelhante à causada pelo Cd^{2+} individualmente, também para os três isolados. Isto sugere que a contaminação do solo por uma mistura de metais pesados pode não ser tão tóxica quanto o predito para metais individualmente. Apesar dos estudos com um único metal serem essenciais para a compreensão das complexas relações entre metais pesados e fungos ectomicorrízicos, é claro que estes apresentam pouca relevância prática na predição do efeito da contaminação múltipla do solo sobre os fungos ectomicorrízicos.

3. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

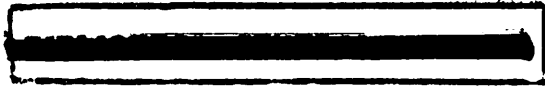
- AÐALSTEINSSON, S.; GUSSARSSON, M.; ASP, H.; JENSÉN, P. Monitoring copper-induced in fine root geometry of birch (*Betula pendula*) using nutrient film technique, *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v.99, n.3, p.379-384, Mar. 1997.
- AGGANGAN, N.S.; DELL, B.; MALAJCZUK, N. Effects of chromium and nickel on growth of the ectomycorrhizal *Pisolithus* and formation of ectomycorrhizas on *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake. *Geoderma*, Amsterdam, v.84, n.1-3, p.15-27, Jun. 1998.
- ALLEN, E.B.; ALLEN, M.F.; TRAPPE, J.M.; MOLINA, R.; RINCON, E. Patterns and regulation of mycorrhizal plant and fungal diversity. *Plant and Soil*, The Hague, v.170, n.1, p.47-62, Mar. 1995.

- ANGLE, J.S.; MCGRATH, S.P.; CHAUDRI, A.M. Effects of media components on toxicity of Cd to rhizobia. **Water Air and Soil Pollution**, Dordrecht, v.64, p.627-633, 1992.
- ARDUINI, I.; GODBOLD, D.L. & ONNIS, A. Cadmium and copper change root growth and morphology of *Pinus pinea* and *Pinus pinaster* seedling. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v92, n.4, p.675-680, Dec. 1994.
- ARDUINI, I.; GODBOLD, D.L. & ONNIS, A. Cadmium and copper uptake and distribution in Mediterranean tree seedlings. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.97, n.1, p.111-117, Oct. 1996.
- BAKER, A.J.M. Environmentally-induced cadmium tolerance in the grass *Holcus lanatus*. **Chemosphere**, Great Britain, v.13, p.585-589, 1984.
- BAKER, A.J.M. Metal tolerance. **The New Phytologist**, Oxford, v.106, n.1, p.93-111, May 1987. Supplement.
- BAKER, A.J.M.; GRANT, C.J.; MARTIN, M.H., SHAW, S.C.; WHITEBROOK, J. Induction and loss of cadmium tolerance in *Holcus lanatus* and other grasses. **The New Phytologist**, Oxford, v.102, n.4, p.575-587, Apr. 1986.
- BELL, R.; TERAMURA, A.H. Soil metal effects on the germination and survival of *Quercus alba* L. and *Q. prinus* L.. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v.31, n.2, p.145-152, Apr. 1991.
- BORGEGÅRD, S.O.; RYDIN, H.. Biomass, root penetration and heavy metal uptake in birch, in a soil cover over copper tailings. **Journal of Applied Ecology**, Oxford, v.26, n.2, p.585-595, Aug. 1989.
- BRADLEY, R; BURT, A.J.; READ, D.J. The biology of mycorrhiza in the Ericaceae VIII. The role of mycorrhizal infection in heavy metal resistance. **The New Phytologist**, Oxford, v.91, n.2, p.197-209, Jun. 1982.
- BRECKLE, S.W.; KAHLE, H. Effects of toxic heavy metals (Cd, Pb) on growth and mineral nutrition of beech (*Fagus sylvatica* L.). **Vegetatio**, v.101, n.1, p.45-53, Jul. 1992.
- BROWN, M.T.; WILKINS, D.A. Zinc tolerance in *Betula*. **The New Phytologist**, Oxford, v.99, n.1, p.91-100, Jan. 1985a.

- BROWN, M.T.; WILKINS, D.A. Zinc tolerance of mycorrhizal *Betula*. **The New Phytologist**, Oxford, v.99, n.1, p.101-106, Jan. 1985b.
- BROWN, M.T.; WILKINS, D.A. Zinc tolerance of *Amanita* and *Paxillus*. **Transactions of the British Mycological Society**, London, v.84, n.2, p.367-369, May 1985c.
- BRUNS, T.D. Thoughts on the processes that maintain local species diversity of ectomycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, The Hague, v.170, n.1, p.63-73, Mar. 1995.
- BÜCKING, H.; HEYSER, W. The effect of ectomycorrhizal on Zn uptake and distribution in seedlings of *Pinus sylvestris* L. **Plant and Soil**, The Hague, v.167, n.2, p.203-212, Dec. 1994.
- BURTON, K.W.; MORGAN, E.; ROIG, A. The influence of heavy metals upon the growth of sitka-spruce in South Wales forests. II. Greenhouse experiments. **Plant and Soil**, The Hague, v.78, n.3, p.271-282, 1984.
- BURTON, K.W.; MORGAN, E.; ROIG, A. Interactive effects of cadmium, copper and nickel on the growth of sitka spruce and studies of metal uptake from nutrient solutions. **The New Phytologist**, Oxford, v.103, n.3, p.549-557, Jul. 1986.
- COLPAERT, J.V.; VAN ASSCHE, J.A. Zinc toxicity in ectomycorrhizal *Pinus sylvestris*. **Plant and Soil**, The Hague, v.143, n.2, p.201-211, Jun. 1992a.
- COLPAERT, J.V.; VAN ASSCHE, J.A. The effects of cadmium and the cadmium-zinc interaction on the axenic growth of ectomycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, The Hague, v.145, n.2, p.237-243, Sep. 1992b.
- COLPAERT, J.V.; VAN ASSCHE, J.A. The effects of cadmium on ectomycorrhizal *Pinus sylvestris* L.. **The New Phytologist**, Oxford, v.123, n.2, p.325-333, Feb. 1993.
- COX, R.M.; HUTCHINSON, T.C. Multiple and co-tolerance in the grass *Deschampsia caespitosa*: adaptation, pre-adaptation and "cost". **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.3, n.1-4, p.731-741, 1981.
- CUMMING, J.R.; WEINSTEIN, L.H. Aluminum-mycorrhizal interactions in the physiology of pitch pine seedlings. **Plant and Soil**, The Hague, v.125, n.1, p.7-18, Jun. 1990.

- DAHLBER, A.; STENLID, J. Size, distribution and biomass of genets in populations of *Suillus bovinus* (L.:Fr.) Roussel revealed by somatic incompatibility. *The New Phytologist*, Oxford, v.128, n.2, p.225-234, Oct. 1994.
- DARLINGTON, A.B.; RAUSER, W.E. Cadmium alters the growth of the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus*: a new growth model accounts for changes in branching. *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, v.66, n.2, p.225-229, Feb. 1988.
- DE VOS, C.H.R.; SCHAT, H., DE WAAL, M.A.M.; VOOJIS, R.; ERNST, W.H.O. Increased resistance to copper-induced damage of the root cell plasmalemma in copper tolerant *Silene cucubalus*. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v.82, n.4, p.523-528, 1991.
- DENNY, H.J.; WILKINS, D.A. Zinc tolerance in *Betula* spp.. I. Effect of external concentration on zinc on growth and uptake. *The New Phytologist*, Oxford, v.106, n.3, p.517-524, Jul. 1987a.
- DENNY, H.J.; WILKINS, D.A. Zinc tolerance in *Betula* spp.. II. Microanalytical studies of zinc uptake into root tissues. *The New Phytologist*, Oxford, v.106, n.3, p.525-534, Jul. 1987b.
- DENNY, H.J.; WILKINS, D.A. Zinc tolerance in *Betula* spp.. III. Variation in response to zinc among ectomycorrhizal associates. *The New Phytologist*, Oxford, v.106, n.3, p.535-544, Jul. 1987c.
- DENNY, H.J.; WILKINS, D.A. Zinc tolerance in *Betula* spp.. IV. The mechanism of ectomycorrhizal amelioration of zinc toxicity. *The New Phytologist*, Oxford, v.106, n.3, p.545-553, Jul. 1987d.
- DICKINSON, N.M.; LEPP, N.W.; TURNER, A.P. How do trees and other long-lived plants survive in polluted environments? *Functional Ecology*, Oxford, v.5, p.5-11, 1991.
- DICKINSON, N.M.; TURNER, A.P.; LEPP, N.W. Survival of trees in a metal-contaminated environment. (Metals in soils, waters, plant and animals. In: INTERNATIONAL CONFERENCE, HELD IN ORLANDO, Florida, 1990. *Proceedings ...Dordrecht: Water Air and Soil Pollution*, 1991. v.57/58, p.627-633.

- DICKINSON, N.M.; TURNER, A.P.; WATMOUGH, S.A.; LEPP, N.W. Acclimation of trees to pollution stress: cellular metal tolerance traits. *Annals of Botany*, London, v.70, n.6, p.569-572, 1992.
- DOELMAN, P. Resistance of soil microbial to heavy metals. In: JENSEN, U; KJØLLER, A.; SØRENSEN, L.H., ED. *Microbial communities in soil*. New York, E.A.S., 1986. p.369-385.
- DUECK, T.A.; VISSER, P.; ERNST, W.H.O.; SCHAT, H. Vesicular-Arbuscular mycorrhizae decrease zinc toxicity to grasses growing in zinc-polluted soil. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.18, n.3, p.331-333, 1986.
- EGERTON-WARBURTON, L.M.; GRIFFIN, B.J. Differential responses of *Pisolithus tinctorius* isolates to aluminum *in vitro*. *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, v.73, p.1229-1233, Jul. 1995.
- EGERTON-WARBURTON, L.M.; GRIFFIN, B.J.; LOMONT, B.B. Pollen-pistil interaction in *Eucalyptus calophylla* provide no evidence of a selection mechanism for aluminum tolerance. *Australian Journal of Botany*, v.41, n.4-5, p.541-552, 1993
- ELTROP, L.; BROWN, G.; JOACHIN, O.; BRINKMAN, K. Lead tolerance of *Betula* and *Salix* in the mining area Mechernich/Germany. *Plant and Soil*, The Hague, v.131, n.2, p.275-285, Mar. 1991.
- ERNST, W.H.O.; VERKLEIJ, JAC; SCHAT, H. Metal tolerance in plants. *Acta Botanica Neerlandica*, Amsterdam, v.41, p.229-248, 1992.
- FREEDMAN, B.; HUTCHINSON, T.C. Pollutant inputs from the atmosphere and accumulations in soils and vegetation near a nickel-copper smelter at Sudbury, Ontario, Canada. *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, v.58, n.1, p.108-132, 1980.
- GADD, G.M. Interactions of fungi with toxic metals. *The New Phytologist*, Oxford, v.124, n.2, p.25-60, Jun. 1993.
- GALLI, U.; MEIER, M.; BRUNOLD, C. Effect of cadmium on non-mycorrhizal and mycorrhizal Norway spruce seedlings [*Picea abies* (L.) Karst.] and its ectomycorrhizal fungus *Laccaria laccata* (Scop. ex Fr.) Bk & Br.: Sulphate reduction, thiols and distribution of the heavy metal. *The New Phytologist*, Oxford, v.125, n.4, p.873-843, Nov. 1993.



- GERDEMANN, J.W. Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.6, p.397-418, 1968.
- GODBOLD, D.L.; HÜTTERMANN, A. Effects of zinc, cadmium and mercury on root elongation of *Picea abies* (Karst.) seedlings, and the significance of these metals to forest die-back. **Environmental Pollution**, Essex, v.38, p.375-381, 1995.
- GUSSARSSON, M. Cadmium-induced alterations in nutrient composition and growth of *Betula pendula* seedlings: the significance of fine root as a primary target for cadmium toxicity. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.17, n.12, p.2151-2163, Nov. 1994.
- GUSSARSSON, M.; ASP, H.; ADALSTEINSSON, S.; JENSÉN, P. Enhancement of cadmium effects on growth and nutrient composition of birch (*Betula pendula*) by buthionine sulphoximine (BSO). **Journal of Experimental Botany**, v.47, n.295, p211-215, Feb. 1996.
- HARTLEY J.; CAIRNEY, J.W.G.; MEHARG, A.A. Do ectomycorrhizal fungi exhibit adaptive tolerance to potentially toxic metals in the environment? **Plant and Soil**, The Hague, v.189, n.2, p.303-319, Feb. 1997.
- HEALE, E.L.; ORMOROD, D.P. Effects of nickel and copper on *Acer rubrum*, *Cornus stolonifera*, *Lonicera tatarica* and *Pinus resinosa*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.60, n.12, p.2674-2681, Dec. 1982.
- HOWE, R.; EVANS, R.L.; KETTERIDGE, S.W. Copper-binding proteins in ectomycorrhizal fungi. **The New Phytologist**, Oxford, v.135, n.1, p.123-131, Jan. 1997.
- HUNTER, B.A.; JOHNSON, M.S.; THOMPSON, D.J. Ecotoxicology of copper and cadmium in a contaminated grassland ecosystem. I. Soil and vegetation contamination. **Journal of Applied Ecology**, Oxford, v.24, n.2, p.573-586, Aug. 1987.
- HUTCHINSON, T.C.; BOZIC, L.; MUNOZ-VEJA, G. Responses of five species of conifer seedling to aluminum stress. **Water Air and Soil Pollution**, Dordrecht, v.31, p.283-294, 1986.

- JENSEN, P.; ADALSTEINSSON, S. Copper effects on active and passive Rb⁺ influx in roots of winter wheat. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v.75, n.2, p.195-200, Feb. 1989.
- JONES, M.D.; BROWNING, M.H.R.; HUTCHINSON, T.C. The influence of mycorrhizal associations on paper birch and jack pine seedlings when exposed to elevated copper, nickel or aluminum. *Water Air and Soil Pollution*, Dordrecht, v.31, p.441-448, 1986.
- JONES, M.D.; HUTCHINSON, T.C. The effect of mycorrhizal infection on the response of *Betula papyrifera* to nickel and copper. *The New Phytologist*, Oxford, v.102, n.3, p.429-442, Mar. 1986.
- JONES, M.D.; HUTCHINSON, T.C. Nickel toxicity in mycorrhizal birch seedlings infected with *Lactarius rufus* or *Scleroderma flavidum*. I. Effects on growth, photosynthesis, respiration and transpiration. *The New Phytologist*, Oxford, v.108, n.4, p.451-459, Apr. 1988a.
- JONES, M.D.; HUTCHINSON, T.C. Nickel toxicity in mycorrhizal birch seedlings infected with *Lactarius rufus* or *Scleroderma flavidum*. II. Uptake of nickel, calcium, magnesium, phosphorous and iron. *The New Phytologist*, Oxford, v.108, n.4, p.461-470, Apr. 1988b.
- JONES, M.D.; HUTCHINSON, T.C. The effects of nickel and copper on the axenic growth of ectomycorrhizal fungi. *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, v.66, n.1, p.119-124, Jan. 1988c.
- JONES, M.D.; MUEHLCHEN, A. Effects of the potentially toxic metals, aluminum, zinc and copper on ectomycorrhizal fungi. *Journal of Environmental Science and Health*, New York, v.29, p.949-966, 1994.
- KAHLE, H. Response of roots of trees to heavy metals. *Environmental and Experimental Botany*, Oxford, v.33, n.1, p.99-119, Jan. 1993.
- KUKKOLA, E.; HUTTUNEN, S. Structural observations on needles to elevated levels of copper and nickel, *Chemosphere*, Great Britain, v.36, n.4-5, p.727-732, 1998
- LAMERSDORF, N.P.; GODBOLD, D.L.; KNOCHE, D. Risk assessment of some heavy metals for the growth of Norway spruce. *Water Air and Soil Pollution*, Dordrecht, v.57/58, p.535-543, 1991.

- LINDBERG, S.; WINGSTRAND, G. Mechanisms for Cd^{2+} inhibition of (K^+ + Mg^{2+}) ATPase activity and K^+ ($^{86}\text{Rb}^+$) uptake in roots of sugar beet (*Beta vulgaris*). *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v.63, n.2, p.181-186, Feb.1985.
- LOLKEMA, P.C.; DONKER, M.H.; SCHOUTEN, A.J.; ERNST, W.H.O. The possible role of metallothioneins in *Silene cucubalus*. *Planta*, New York, v.162, n.2, p.174-179, Sep. 1984.
- MACNAIR, M.R. The genetics of metal tolerance in vascular plants. *The New Phytologist*, Oxford, v.124, n.3, p.541-559, Jul. 1993.
- MARQUES, T.C.L.L.S.M., MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. Crescimento e teores de metais em mudas de espécies arbóreas tropicais em solo contaminado com metais pesados. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 2000 (Aceito para publicação)
- MARX, D.H. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. *Phytopathology*, St.Paul, v.59, n.2, p.153-163, 1969.
- MCCREIGHT, J.D.; SCHROEDER, D.B. Inhibition of growth of nine ectomycorrhizal fungi by cadmium, lead, and nickel *In Vitro*. *Environmental and Experimental Botany*, Oxford, v.22, n.4, p.1-7, 1982.
- MEDVE, R.J.; SAYRE, W.G. Heavy metals in red pines, basidiomycete sporocarps and soils on bituminous stripmine spoils. *Journal of the Pennsylvania Academy of Sciences*, v.68, p.131-135, 1994.
- MEHARG, A.A. The role of the plasmalemma in metal tolerance in angiosperms. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v.88, n.3, p.191-198, Jul. 1993.
- MITCHELL, C.C.; FRETZ, T.A. Cadmium and zinc toxicity in white pine, red maple, and Norway spruce. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Mount Vernon, v.102, n.1, p.81-84, Jan. 1977.
- NELLESSEN, J.E.; FLETCHER, J.S. Assessment of published literature on the uptake, accumulation, and translocation of heavy metals by vascular plants. *Chemosphere*, Great Britain, v.27, n.9, p.1669-1680, 1993.

- OUTRIDGE, P.M.; HUTCHINSON, T.C.** Induction of cadmium tolerance by acclimation transferred between ramets of the clonal fern *Salvinia minima* Baker. *The New Phytologist*, Oxford, v.117, n.4, p.597-605, Apr. 1991.
- PATTERSON, W.A.III; OLSON, J.J.** Effects of heavy metals on radicle growth of selected woody species germinated on filter paper, mineral and organic soil substrates. *Canadian Journal of Forest Research*, Ottawa, v.13, n.2, p.233-238, 1983.
- PYE, J.M.** Impact of ozone on the growth and yield of trees: a review. *Journal of Environmental Quality*, Madison, v.17, n.3, p.347-360, Jul./Sep.1988.
- REEVES, F.B.; WAGNER, D.; MOORMAN, T.; KIEL, J.** The role of ectomycorrhizae in revegetation practices in the semi-arid west. I. A comparison of incidence of mycorrhizae in severely disturbed vs. natural environments. *American Journal of Botany*, Bronx, v.66, n.1, p.6-13, Jan. 1979.
- RIBEIRO-FILHO, M.R.; CURI, N.; SIQUEIRA, J.O.; MOTTA, P.E.F.** Metais pesados em solos de área de rejeitos de indústria de processamento de zinco. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v.23, n.2, p.453-464, Abr./Jun. 1999.
- RUEHLE, J.L.; MARX, D.H.** Fiber, food, fuel, and fungal symbionts. *Science*, Washington, v.206, n.4414, p.419-422, Oct. 1979.
- SCHIER, G.A.; MCQUATTIE, C.J.** Effect of aluminum on the growth, anatomy, and nutrient content of ectomycorrhizal and nonmycorrhizal eastern white pine seedlings. *Canadian Journal of Forest Research*, Ottawa, v.25, n.8, p.1252-1262, 1995.
- SOARES, C.R.F.S.** Toxidez de zinco, cobre, cádmio e chumbo para o eucalipto em solução nutritiva. Lavras - UFLA, 1999. 132p. (Tese-Mestrado)
- SÖDERSTRÖM, B.** The fungal partner in mycorrhizal symbiosis. In: **MARCUS WALLENBERG PRIZE SYMPOSIUM IN STOCKHOLM**, Sweden, 1991, Lectures... Sweden, The Marcus Wallenberg Foundation, 1991. p.5-26.

- STEINER, K.C.; MCCORMICK, L.H.; CANAVERA, D.S. Differential response of paper birch provenance to aluminum in solution culture. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v.10, n.1, p.25-29, 1980.
- SULTAN, S.E. Evolutionary implications of phenotypic plasticity in plants. **Evolutionary Biology**, New York, v.21, p.127-178, 1987.
- TAM, P.C.F. Heavy metal tolerance by ectomycorrhizal fungi and metal amelioration by *Pisolithus tinctorius*. **Mycorrhiza**, New York, v.5, p.181-187, 1995.
- TAYLOR, G.J.; FOY, C.D. Differential uptake and toxicity of ionic and chelated copper in *Triticum aestivum*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.63, n.7, p.1271-1275, Jul. 1985.
- TURNER, A.P.; DICKINSON, N.M. Survival of *Acer pseudoplatanus* L. (sycamore) seedlings on metalliferous soils. **The New Phytologist**, Oxford, v.123, n.3, p.509-522, Mar. 1993a.
- TURNER, A.P.; DICKINSON, N.M. Copper tolerance of *Acer pseudoplatanus* L. (sycamore) in tissue culture. **The New Phytologist**, Oxford, v.123, n.3, p.523-530, Mar. 1993b.
- TURNER, A.P.; DICKINSON, N.M.; LEPP, N.W. Indices of metal tolerance in trees. (Metals in soils, waters, plant and animals. In: INTERNATIONAL CONFERENCE, HELD IN ORLANDO, Florida, 1990. **Proceedings ...Dordrecht: Water Air and Soil Pollution**, 1993. v.57/58, p.617-625.
- UTRIAINEN, M.A.; KÄRENLAMPI, L.V.; KÄRENLAMPI, S.O.; SCHAT, H. Differential tolerance to copper and zinc of micropropagated birches tested in hydroponics. **The New Phytologist**, Oxford, v.137, n.3, p.543-549, Nov. 1997.
- VERKLEIJ, J.A.C.; PRAST, J.E. Cadmium uptake and toxicity of ionic and chelated copper in *Triticum aestivum*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.63, p.1271-1275, 1985.
- WATMOUGH, S.A.; DICKINSON, N.M. Multiple metal resistance and co-resistance in *Acer pseudoplatanus* L. (sycamore) callus cultures. **Annals of Botany**, London, v.76, n.5, p.465-472, 1995.

- WATMOUGH, S.A.; GALLIVAN, C.C.; DICKINSON, N.M. Induction of zinc and nickel resistance in *Acer pseudoplatanus* L. (sycamore) callus cell lines. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v.35, n.4, p.465-473, Jul. 1995
- WILKINS, D.A. The influence of sheathing (ecto-)mycorrhizas of trees on the uptake and toxicity of metals. **Agriculture Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v.35, n.2-3, p.245-260, Apr. 1991.
- WILKINSON, D.M.; DICKINSON, N.M. Metal resistance in trees: the role of mycorrhizae, **Oikos**, Copenhagen, v.72, n.2, p.298-300, Mar. 1995.
- WILLENBORG, A.; SCHMITZ, D.; LELLEY, J. Effects of environmental stress factors on ectomycorrhizal fungi in vitro. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.68, n.8, p.1741-1746, Aug. 1990.
- WU, L.; LIN, S.L. Copper tolerance and copper uptake of *Lotus-purshianus* (Benth) Clem and Clem its symbiotic rhizobium-loti derived from a copper mine waste population. **The New Phytologist**, Oxford, v.116, p.531-539, 1990.

CAPÍTULO 2

COMPORTAMENTO DE ISOLADOS DE FUNGOS ECTOMICORRÍZICOS EM SOLO E MEIO DE CULTURA CONTAMINADOS POR METAIS PESADOS

GRAZZIOTTI, Paulo Henrique. Comportamento de isolados de fungos ectomicorrízicos em solo e meio de cultura contaminados por metais pesados. Lavras: UFLA, 1999. Cap. 2. p.39-75. (Tese – Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas)*

RESUMO

Nove isolados de *Pisolithus tinctorius* (Pt-), dois de *Suillus bovinus* e um de *Scleroderma* sp. foram avaliados quanto ao efeito da contaminação múltipla do solo por metais pesados por meio da adição de misturas de solo-areia contendo 0, 30 e 75% de solo contaminado ao meio de cultura líquido, e avaliou-se a produção da biomassa fúngica. Para um estudo mais detalhado, ensaios independentes foram conduzidos com um isolado tolerante de *P. tinctorius* e um de *S. bovinus*, considerado não tolerante, na presença de cinco proporções de solo contaminado (PSC) e doses crescentes de sulfatos de Zn, Cu e Cd adicionados individualmente ao meio de cultura. A adição de solo contaminado no meio de cultura reduziu o crescimento de todos os isolados, os quais apresentaram grande variação intra e inter específica na tolerância à contaminação múltipla. Em geral os isolados de *P. tinctorius* foram mais tolerantes que os de *S. bovinus* e o *Scleroderma* sp., destacando-se o isolado Pt-306, que foi considerado tolerante. Os demais apresentaram comportamento variado, sendo que os isolados de *Suillus bovinus* considerados tolerantes a Zn foram sensíveis à contaminação múltipla do solo e à presença isolada de Cu ou Cd no meio de cultura. A produção de pigmentos extracelulares pelos isolados Pt-306 e Sb foi estimulada pela adição de solo contaminado ou Zn, Cu e Cd adicionados individualmente ao meio de cultura. Entretanto, isto não se relacionou com a tolerância dos isolados aos metais pesados. O Pt-306 foi também tolerante a Zn, Cu e Cd, enquanto o isolado Sb de *S. bovinus* foi tolerante somente ao Zn. O crescimento do isolado Pt-306 aumentou com a adição de pequenas doses de Cu ao meio de cultura. O efeito inibidor do Cd para o Pt-306 sugere que este elemento é o principal responsável pela redução do

* Comitê Orientador: Prof. José Oswaldo Siqueira – UFLA (Orientador), Prof^ª Dulcinéia de Carvalho - UFLA e Prof^ª Fátima Maria S. Moreira - UFLA

crescimento deste isolado na presença de solo contaminado, enquanto a elevada sensibilidade do isolado Sb à contaminação múltipla foi resultante do efeito sinérgico dos vários metais contaminantes no solo.

ABSTRACT

BEHAVIOR OF ECTOMYCORRHIZAL FUNGAL ISOLATES IN SOIL AND CULTURE MEDIA CONTAMINATED WITH HEAVY METALS

GRAZZIOTTI, Paulo Henrique. Behavior of ectomycorrhizal fungal isolates in soil and culture media contaminated with heavy metals. Lavras: UFLA, 1999. Cap. 2. p.39-75 (Doctoral Thesis in Soil Science and Plant Nutrition)*

Nine isolates of *Pisolithus tinctorius*, two of *Suillus bovinus* and one of *Scleroderma* sp. were assessed for their growth in heavy-metal contaminated soil-sand mixes at proportion of 0, 30 and 75% of contaminated soil in a liquid culture medium. For a more detailed studies independent assays were carried out using a heavy-metal tolerant isolate of *Pisolithus* and one non-tolerant *S. bovinus* in soil mix-medium containing five proportion of contaminated soil and (or) increasing levels of Zn, Cu and Cd as sulfates added to culture media. Addition of contaminated soil into the media reduced mycelial growth of all isolates which show inter and intra specific variations in multiple soil contamination. In general *Pisolithus* isolates were more tolerant than *S. bovinus* or *Scleroderma* sp., being Pt-306 considered the most tolerant isolate. All the others exhibited differentiated behavior. *S. bovinus* isolates considered tolerant to Zn were sensitive to multiple soil contamination and presence of other Cu or Cd in the media. Production of extracelular pigments by Pt-306 and Sb were enhanced by either addition of contaminated soil or Zn, Cd and Cu individually. However such response was not related to tolerance of isolates to heavy metals. Isolate Pt-306 was also tolerant to Zn, Cu and Cd whereas Sb was tolerant to Zn alone. Growth of Pt-306 was favored by addition of low dose of Cu. The inhibition of Cd to Pt-306 suggest this element as the main inhibitory metal in the contaminated soil, whereas the high sensitivity of Sb isolate to multiple soil contamination resulted from synergistic inhibitory effects of the various contaminant metals in the soil.

* Quidance Committee: Prof. José Oswaldo Siqueira – UFLA (Major Professor), Prof^{es} Dulcinéia de Carvalho - UFLA e Prof^{es} Fátima Maria S. Moreira - UFLA

1. INTRODUÇÃO

Os fungos que formam as ectomicorrizas são, na sua grande maioria, Basidiomicetos, que pela ocorrência generalizada em florestas com plantas hospedeiras e efeitos sobre estas, tomam-se componentes importantes dos ecossistemas naturais e florestas plantadas (Parke, Linderman e Black , 1983; Heinrich, Mulligan e Patrick, 1988). Em solos com excesso de metais pesados, estes fungos em simbiose podem aumentar a absorção de nutrientes pelas raízes e a imobilização de metais pesados, reduzindo a absorção ou translocação destes para a parte aérea da planta, conferindo à planta maior tolerância a estes fatores estressantes (Brown e Wilkins, 1985a; Denny e Wilkins, 1987a e b; Dixon e Buschena, 1988). Jones, Browning e Hutchinson (1986) observaram que mudas de *Betula papyrifera* colonizadas por *Scleroderma flavidum* na presença de 85 μM de Ni cresceram 54% a mais que as plantas não colonizadas. Este maior crescimento observado nas plantas colonizadas é devido ao efeito protetor exercido pelo fungo, retendo no micélio (raízes colonizadas) os metais e reduzindo sua translocação para a parte aérea da planta (Brown e Wilkins, 1985a; Jones, Browning e Hutchinson, 1986). A inoculação por *Suillus luteus* reduziu a concentração de Cd, Ni, Pb e Zn em acículas de *Pinus banksiana* e *Picea glauca*, exceto na concentração mais elevada de metais adicionadas no solo, concentrações essas que inibiram a colonização micorrízica (Dixon e Buschena, 1988). A colonização ectomicorrízica reduziu a concentração de Zn na parte aérea e aumentou o acúmulo deste no sistema radicular (Brown e Wilkins, 1985a). No entanto, esse resultados diferem entre os isolados e espécies de fungos ectomicorrízicos, plantas hospedeiras, diferentes metais pesados e as condições experimentais usadas. Jones e Hutchinson (1986) observaram que *Scleroderma flavidum* foi o único fungo, entre quatro testados, capaz de aumentar a tolerância a Ni em *B. papyrifera* colonizada, contudo, nenhum dos fungos estudados alterou a toxicidade de Cu.

Para se obter benefícios dos microrganismos para as plantas em condições com concentrações tóxicas de metais pesados, é necessário conhecer o impacto dos metais poluentes sobre os microrganismos de interesse específico. No caso dos fungos ectomicorrízicos, existem evidências de variações intra e inter específicas e de ecoadaptação à diversos fatores, incluindo indicações de tolerância a metais pesados (Brown e Wilkins, 1985b; Colpaert e Van Assche, 1987; 1992a; Jones e Hutchinson, 1988; Egerton-Warburton e Griffin, 1995; Hartley, Cairney e Meharg, 1997; Hartley et al., 1997). Por exemplo, *Lactarius rufus* exibiu menor sensibilidade a Cd do que *Laccaria bicolor* e *Lactarius hepaticus* (Jongbloed e Borst-Pauwels, 1990), enquanto *S. bovinus* foi menos sensível a Zn do que outras quatro espécies de fungos ectomicorrízicos (Colpaert e Van Assche, 1987). Variações intra específicas também ocorrem na tolerância de isolados de *Paxillus involutus* (Denny e Wilkins, 1987a; Howe, Evans e Ketteridge, 1997), *Pisolithus tinctorius* (Egerton-Warburton e Griffin, 1995) e *Laccaria laccata* (Howe, Evans e Ketteridge, 1997). Dentre cinco isolados de *Paxillus involutus*, Howe, Evans e Ketteridge (1997) verificaram que três apresentaram algum crescimento na concentração de Cu de até 4 mM e foram considerados tolerantes

Os mecanismos pelos quais os fungos podem tolerar os metais pesados são numerosos e variam quanto à sua ação (Gadd, 1993). Entre esses mecanismos, incluem-se processos externos às hifas, que resultam na precipitação dos metais, o que os tornam indisponíveis: ligação a polímeros da parede celular, tais como quitina ou melanina, e processos internos nas células fúngicas, onde os metais podem ser complexados, compartimentalizados ou volatizados. Dos vários mecanismos de tolerância de fungos a metais pesados citados por Gadd (1993), poucos já foram investigados para fungos ectomicorrízicos, como demonstrado por Galli, Schuepp e Brunold (1994) em sua revisão sobre o assunto. Entre os mecanismos ainda não estudados para

fungos ectomicorrízicos está a ligação de metais pesados por melaninas extracelulares ou da parede celular, apesar de fortes evidências para o envolvimento dessas no mecanismo de tolerância de vários fungos a metais pesados.

Os fungos pigmentados possuem maior virulência, resistência ao ataque microbiano e sobrevivência sob condições ambientais de estresses, inclusive sob contaminação por metais pesados (Sakaguchi e Nakajima, 1987; Gadd e Rome, 1988; Siegel, Galun e Siegel, 1990; Wang e Casadevall, 1994; Fogarty e Tobin, 1996). Gadd e Rome (1988) observaram que, em geral, melanina, obtida de *Aureobasidium pullulans* e *Clamidosporium resinae*, absorveu mais cobre do que a biomassa intacta dos fungos e que a adição de melanina extraída do isolado de *A. pullulans* pigmentado no meio de crescimento do isolado albino, na presença de Cu, resultou numa redução na toxicidade causada pelo elemento, como evidenciado pelo aumento na taxa de crescimento e na produção de biomassa (Gadd e Rome, 1988). Os autores propuseram que esse efeito foi devido à ligação ou seqüestro do metal pela melanina. *Clamidosporium cladosporoides* pigmentado adsorveu 2,5 a 4 vezes mais Ni, Cu, Zn, Cd e Pb do que *Penicillium digitatum* albino e numa taxa de 4 a 6 vezes maior (Siegel, Galun e Siegel, 1990; Fogarty e Tobin, 1996). A desorção dos metais foi menor na melanina extracelular do que na biomassa pigmentada ou albina, indicando o efeito da ligação dos metais pela melanina (Gadd e Rome, 1988).

As melaninas são pigmentos de alto peso molecular, marrom-escuros ou pretos e são formadas pela polimerização oxidativa de compostos fenólicos (Fogarty e Tobin, 1996), e que aparecem como densos grânulos de elétrons em micrografias eletrônicas (Gadd, 1993). São encontradas em animais, plantas, fungos e bactérias (Bell e Wheeler, 1986; Fogarty e Tobin, 1996), sendo que, em fungos, elas são localizadas na parede celular ou como polímeros extracelulares. As melaninas extracelulares podem ser formadas pela liberação das melaninas

ligadas à parede celular, e portanto são geralmente idênticas àquelas localizadas na parede celular ou podem ser sintetizadas no meio externo à célula, e assim mais corretamente definidas como “extracelulares”. Isto ocorre por meio da oxidação de fenóis pela oxidasas fenólicas excretadas no meio externo (Bell e Wheeler, 1986; Fogarty e Tobin, 1996). As melaninas contêm grupos carboxílicos, fenólicos, hidroxílicos e aminas, os quais as fornecem muitos sítios potenciais para ligação ou bioadsorção para íons metálicos (Schnitzer e Neyroud, 1975; Fogarty e Tobin, 1996).

Nas melaninas, como em outros tipos de biomassa e biosorventes, é provável que vários grupos funcionais contribuam em diferentes graus para a ligação dos metais, resultando numa faixa de múltiplos sítios de ligação não equivalentes (McBride, 1978). Froncisz, Sama e Hyde (1980) demonstraram que Cu liga-se principalmente a grupos carboxílicos em melaninas formadas por catecol em $\text{pH} < 5$, mas em $\text{pH} > 6$ o Cu liga-se principalmente a grupos hidroxílicos fenólicos. Em contraste, em estudo da absorção de Fe e Cu por polímeros fenólicos de fungos por elétron ressonância de giro, sugere-se que grupos contendo nitrogênio de metades proteináceas estão envolvidos na ligação (Saiz-Jiminez e Shafizadeh, 1984), enquanto múltiplos grupos de quinonas têm sido propostos como os sítios de coordenação para absorção de urânio (Sakaguchi e Nakajima, 1987).

A feniltioureia e o ácido *p*-aminobenzóico são inibidores da síntese de melanina e fornecem uma adicional evidência para o papel da melanina na absorção de Cd (Siegel, Galun e Siegel, 1990). *P. digitatum*, depois de quatro dias, e *C. cladosporoides*, depois de 2 e 4 dias de crescimento, apresentavam níveis relativos de melanina de 0, 10 e 190 e taxas de absorção de aproximadamente 4,9; 5 e 17 $\text{nmol mg}^{-1} \text{h}^{-1}$, respectivamente. Contudo, depois de 4 dias de crescimento na presença de 2,5 mM de feniltioureia ou do ácido *p*-aminobenzóico, o *C. cladosporoides* apresentou níveis relativos de melanina de

121 e 97, e taxa de absorção de Cd foi de 9,1 e 8,6 nmol mg⁻¹ h⁻¹, respectivamente (Siegel, Galun e Siegel, 1990; Fogarty e Tobin, 1996). Assim, a ligação e, ou seqüestro de metais por melaninas fúngicas podem representar um mecanismo de proteção para microrganismos que crescem em certos ambientes contaminados por metais pesados (Fogarty e Tobin, 1996). A biomassa da maioria dos fungos de solo é pigmentada (Bell e Wheeler, 1986), então as interações melaninas-íons metálicos são também ecologicamente significantes em termos de poluição do solo e nutrição de planta (Senesi, Sposito e Martin, 1987).

O efeito simultâneo dos metais pesados sobre os fungos ectomicorrízicos, sobre as plantas hospedeiras e sobre a própria associação dificulta a avaliação da tolerância desses fungos a metais pesados em simbiose com suas plantas hospedeiras, mesmo sob condições controladas (casa de vegetação ou síntese *in vitro*). Assim, a importância dos experimentos em cultura pura é aceita pela maioria dos pesquisadores, para uma seleção prévia ou como uma ferramenta no estudo dos mecanismos de tolerância desses fungos aos metais pesados, apesar da incerta relação entre a tolerância em cultura pura e em simbiose (Jones e Hutchinson, 1988; Hartley, Cairney e Meharg, 1997).

Outro problema é que a maioria dos trabalhos em cultura pura realizado até o momento estuda a tolerância dos fungos ectomicorrízicos aos metais individualmente, e ao contrário, no ambiente, raramente ocorre contaminação por um único metal. Os processos de mineração, fusão e manufatura dos metais freqüentemente provocam a contaminação do ambiente por uma mistura de metais potencialmente tóxicos (Hunter, Johnson e Thompson, 1987). As interações entre os metais pesados influenciam suas toxicidade para os fungos ectomicorrízicos, e a inibição do crescimento fúngico pela contaminação múltipla não pode ser predita a partir da toxicidade individual (Hartley et al., 1997). Contudo, informações sobre as interações de metais potencialmente

tóxicos influenciando o crescimento ou a sobrevivência dos fungos ectomicorrízicos são escassas. Colpaert e Van Assche (1992a), estudando dois isolados de *S. bovinus*, observaram diminuição da toxicidade de Cd^{2+} pela adição de $0,765 \mu M$ de Zn^{2+} . O efeito das interações entre metais variam entre espécies de fungos ectomicorrízicos (Hartley et al., 1997). Contudo, os autores observaram que o resultado da maioria das interações reduziu a toxicidade quando comparado com a toxicidade dos metais individuais. Antimônio reduziu a toxicidade de Cd^{2+} para *Lactarius deliciosus*, *Suillus variegatus* e *Suillus gramulatus* e a toxicidade da mistura de Cd^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} e Sb^{3-} foi semelhante à causada pelo Cd^{2+} isoladamente, também para os três isolados. Estes resultados sugerem que a contaminação do solo por uma mistura de metais pesados pode não ser tão tóxica quanto o predito para metais individualmente. Apesar dos estudos com um único metal serem essenciais para a compreensão das complexas relações entre metais pesados e fungos ectomicorrízicos, é claro que estes apresentam pouca relevância prática na predição do efeito da contaminação múltipla do solo sobre os fungos ectomicorrízicos.

No presente trabalho avaliou-se o comportamento de doze isolados de fungos ectomicorrízicos pertencentes às espécies de *Pisolithus tinctorius*, *Suillus bovinus* e *Scleroderma* sp. em meio contendo solo contaminado ou adições crescentes de Zn, Cu ou Cd.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido em Laboratório de Microbiologia do Solo da UFLA, de março a dezembro de 1998, e constou de experimentos em que a fonte de contaminação por metais pesados foi uma amostra de solo coletada em área de rejeito industrial da Companhia Mineira de Metais (CMM), localizada em Três Marias – MG, contendo (em $mg\ dm^{-3}$): Zn = 17.937, Cd = 202, Pb = 359 e

Cu = 1.843, além de outros elementos em baixos teores; e de experimentos em que a contaminação foi obtida pela adição de sais puros de Zn, Cd e Cu no meio de crescimento.

2.1. Fungos estudados

Os isolados estudados são colonizadores de raízes de *Eucalyptus* e *Pinus* e foram obtidos de varias origens (Tabela 1). Os isolados de *Pisolithus* foram aqui referidos como *Pisolithus tinctorius* (Pt-), apesar de trabalhos recentes de caracterização genética, como o de Gomes et al. (1999), propõem que nem todos os isolados aqui estudados são *P. tinctorius*. Os isolados foram mantidos em meio Melin-Norkrans modificado (MNM) (Marx, 1969), com pH de 5,6 (Tabela 2). O isolado Sb+Zn é uma sub-cultura do isolado Sb que tem sido cultivada desde 1990 em meio MNM adicionado de 5 mM de Zn-EDTA fornecido pelo Dr. Heike Bücking, - Universidade de Bremen - Alemanha. O inóculo utilizado nos experimentos foram discos de 5 mm de diâmetro contendo micélio, retirados das bordas das colônias crescidas em placas de Petri com 20 ml de meio sólido MNM, com pH de 5,6, por 20 dias em incubadora a 28°C.

2.2. Comportamento dos isolados em meio com diferentes proporções de solo contaminado (Experimento 1)

Para avaliar o comportamento dos isolados (Tabela 1) em relação à contaminação do solo por vários metais pesados, estes foram inoculados em meio MNM líquido contendo três níveis de contaminação: 0, 30 e 75% de solo contaminado em uma mistura solo-areia, com quatro repetições em DIC. As referidas proporções de solo contaminado (PSC) foram consideradas sem contaminação, contaminação moderada e contaminação elevada, respectivamente. As amostras de solo e areia foram previamente secas ao ar e passadas em peneira com abertura de malha de 1 mm para o solo e 2 mm para a

Tabela 1. Isolados de *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker e Couch (Pt-), *Suillus bovinus* (Fr.) O. Kuntze (Sb) e *Scleroderma* sp. (Scl) empregados nos experimentos

| Isolado | Origem | Fornecido |
|----------------------|----------------------------------|---|
| Pt-H6 | - /Canadá | Universidade de Laval - Quebec |
| Pt-H15 | - /Canadá | Universidade de Laval - Quebec |
| PT-RV82 | <i>Eucalyptus</i> / Brasil | Dep ^{to} de Microbiologia - UFV |
| Pt-90A | <i>Eucalyptus</i> / Brasil | Dep ^{to} de Microbiologia - UFV |
| Pt-441 | <i>Eucalyptus</i> / Brasil/ESALQ | Dep ^{to} de Ciência Floresta - UFPA |
| Pt-185 | <i>Pinus</i> /USA-Marx | Dep ^{to} de Microbiologia - UFV |
| Pt-270 | <i>Pinus</i> /USA-Marx | Dep ^{to} de Microbiologia - UFV |
| Pt-303 | <i>Pinus</i> /USA-Marx | Dep ^{to} de Microbiologia - UFV |
| Pt-306 | <i>Pinus</i> /USA-Marx | Dep ^{to} de Microbiologia - UFV |
| Sb | <i>Pinus</i> / - | Dep ^{to} de Ecologia Microbiana - UL |
| Sb+Zn | <i>Pinus</i> / - | Dep ^{to} de Ecologia Microbiana - UL |
| Scl D ⁽¹⁾ | <i>Eucalyptus</i> /Brasil | Dep ^{to} de Microbiologia - UFV |

* UFV = Universidade Federal de Viçosa; ESALQ = Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz; UL = Universidade de Lund, Suécia; Dep^{to} = Departamento.

areia. Antes da mistura, a areia foi lavada em água corrente e seca em estufa a 180°C por duas horas, em seguida foi lavada com HCl 1N e novamente com água corrente, com água destilada e finalmente seca em estufa. Vinte gramas de cada mistura de solo contaminado e areia foram colocadas em Erlenmeyers de 125 ml e adicionados de 60 ml de meio MNM líquido (Tabela 2), com pH 5,6. Em seguida, a suspensão foi autoclavada a 120°C por 20 minutos, deixada esfriar à temperatura ambiente e inoculadas com os isolados por meio de 10 discos de 5 mm de diâmetro. Em seguida, os frascos foram incubados a 28°C por períodos diferentes em função do crescimento de cada isolado, sendo: de 10 dias para os Pt-185, Pt-303 e Pt-306; de 15 dias para os Pt-270, Pt-H6, Pt-441, Pt-90A e Sb; e de 30 dias para os Pt-H15, Pt-Rv82, Sb+Zn e Scl D, sendo estes

períodos suficientes para o crescimento micelial cobrir a superfície do meio no tratamento controle. Após o período de crescimento, o micélio foi coletado em peneira de 0,053 mm, lavado em água corrente, seco em estufa com ventilação forçada, a 70°C, durante 72 h, e o peso da matéria seca determinado.

Tabela 2. Composição do meio Melin-Norkrans modificado (MNM) líquido e sólido utilizados nos experimentos

| Componentes por litro | Meio líquido ^{1/} | Meio sólido |
|---|----------------------------|-------------|
| KH ₂ PO ₄ , mg | 500 | 500 |
| (NH ₄) ₂ HPO ₄ , mg | 250 | 250 |
| MgSO ₄ .7H ₂ O, mg | 150 | 150 |
| CaCl ₂ .2H ₂ O, mg | 50 | 50 |
| NaCl, mg | 25 | 25 |
| FeCl ₃ (1%), ml | 1,2 | 1,2 |
| Glicose, g | 2,5 | 10 |
| Extrato de malte, g | - | 3 |
| Tiamina HCl, µg | 0,1 | |
| Agar, g L ⁻¹ | - | 15 |

* Marx (1969).

1/ Para os experimentos com metais adicionados na forma de sais, devido à ocorrência de precipitações durante o preparo do meio, o (NH₄)₂HPO₄ foi excluído, o KH₂PO₄ aumentado para 750 mg e o N fornecido por meio de 203 mg de NH₄Cl.

Para melhor avaliar o impacto da contaminação, estudaram-se, em outros ensaios adicionais, faixas mais amplas de PSC em dois isolados com comportamento distintos, com base nos resultados do ensaio anterior. Foram selecionados o Pt-306 como tolerante e o Sb como não tolerante, os quais foram inoculados e crescidos em seis PSC (0, 20, 40, 60, 80 e 100% para o Pt-306 e 0, 5, 10, 15, 20 e 25% para o Sb), testados separadamente em delineamento inteiramente casualizado, com oito repetições. Após a autoclavagem dos Erlenmeyers contendo o meio de cultura e as misturas solo-areia, determinaram-

se os teores de Zn, Cd, Cu e Pb e a absorvância a 350 nm do meio de cultura, sendo esta última realizada devido à observação, nos ensaios anteriores, de que alguns isolados produziam maior pigmentação nos tratamentos com solo contaminado. A inoculação dos isolados foi realizada por meio de 6 discos de 5 mm de diâmetro por frascos, os quais foram incubados a 28°C por 20 dias. Após este período, a solução sobrenadante foi filtrada em papel de filtro (Watman Nº 42) para a determinação do pH, teores de Zn, Cd, Cu e Pb e absorvância a 350 nm para quantificar a produção de pigmentos. O micélio produzido foi colhido e processado como no ensaio anterior.

2.3. Resposta do Pt-306 e Sb a doses crescentes de Zn, Cu ou Cd em meio de cultura líquido (Experimento 2)

Com objetivo de identificar qual metal presente no solo contaminado foi responsável pela inibição do crescimento, dos isolados Pt-306 e Sb, estes foram crescidos em meio MNM suplementado com cinco concentrações de Zn, Cu ou Cd para avaliação da ação isolada de cada metal sobre estes isolados. As concentrações dos metais testadas foram determinadas em testes preliminares e obtidas a partir de soluções estoques de $ZnSO_4$, $CuSO_4$ e $CdSO_4$. Devido as diferenças entre os isolados quanto à tolerância aos metais pesados, as concentrações dos metais foram diferentes para Cu e Cd (Tabela 3), e cada combinação isolado versus metal compôs um experimento independente, todos em delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições. A parcela experimental foi composta de um Erlenmeyer (125 ml) contendo 25 ml de meio MNM líquido (pH 4,8) (Tabela 2), inoculados com quatro discos de 5 mm de diâmetro. Após 20 dias de incubação, o micélio foi avaliado como nos ensaios anteriores e a solução sobrenadante filtrada em papel de filtro (Watman Nº 42) para a determinação da absorbância a 350 nm.

Tabela 3. Concentrações de Zn, Cu e Cd testadas no crescimento dos isolados Pt-306 e Sb

| Isolado | Metal/Concentração estudada | | | | |
|-----------|-----------------------------|------|------|------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| | Zn, mM | | | | |
| Pt-306/Sb | 0 | 0,75 | 1,5 | 2,25 | 3 |
| | Cu, mM | | | | |
| Pt-306 | 0 | 0,47 | 0,94 | 1,41 | 1,88 |
| Sb | 0 | 0,03 | 0,06 | 0,09 | 0,12 |
| | Cd, µM | | | | |
| Pt-306 | 0 | 9 | 18 | 27 | 36 |
| Sb | 0 | 1,78 | 3,56 | 5,34 | 7,12 |

2.4. Cálculos e análises estatísticas

Para o ensaio com todos os isolados em três níveis de contaminação, após a análise de variância dos dados, a produção de micélio seco de cada fungo foi comparada entre os tratamentos de contaminação (PSC) pelo teste de Tukey ($P > 0,05$), empregando-se o Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (SAEG 5.0-93, UFV). Para comparação entre isolados, determinou-se o índice de tolerância (IT%) obtido pela percentagem de matéria seca de micélio nas misturas com 30 e 75% de solo contaminado em relação ao controle.

A produção de pigmentos extracelulares foi expressa pela absorbância total (350 nm) e absorbância específica (absorbância a 350 nm por grama de matéria seca de micélio). Para os demais ensaios, os dados de micélio seco, absorbância total e absorbância específica foram submetidos à análise de variância pelo SAEG 5.0-93 - UFV, de regressão pelo programa TableCurve 3.01 (Jandel Corporation), e o valor de F foi calculado e testado pelo programa F Calc32 versão 1.1. Para determinação da PSC na mistura solo-areia e da concentração de cada metal individualmente ($CI_{50\%}$) suficientes para inibição do

crescimento dos isolados em 50%, utilizaram-se as equações de regressão para produção de micélio seco em função da PSC no meio de crescimento.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Comportamento dos isolados em meio com diferentes proporções de solo contaminado (Experimento 1)

A adição da mistura solo-areia com 30% de solo contaminado reduziu o crescimento da maioria dos isolados, exceto para os Pt-441, Pt-90A e Pt-306 (Figura 1 e 2), sendo que este último foi o único que não teve seu crescimento reduzido no tratamento que recebeu mistura com 75% de solo contaminado, mostrando-se pouco sensível à contaminação do meio por vários metais pesados. Essa redução do crescimento da maioria dos isolados mesmo na menor PSC reforça a preocupação crescente com a contaminação dos ecossistemas por metais pesados devido às conseqüências sobre os componentes funcionais dos ecossistemas, como os fungos micorrízicos. A produção de massa seca de micélio do Pt-185, Pt-303, Pt-306, Pt-441, Sb, Sb+Zn, Scl D e Pt-Rv82 foi semelhante entre os tratamentos com solo contaminado (Figura 1), enquanto o Pt-270, Pt-H6, Pt-90A e Pt-H15 tiveram seu crescimento menor na mistura com 75% de solo contaminado do que naquela com 30%, demonstrando resposta diferenciada nas condições de contaminação moderada e de alta contaminação.

Baseando-se nos índices de tolerância (IT%), o Pt-306 e o Pt-90A foram classificados como tolerantes à condição moderada de contaminação (30% de PSC) (Figura 3), o que de fato não reduziu significativamente ($P \leq 0,05$) o crescimento. Já o Sb+Zn, Sb e SclD foram não tolerantes, apresentando redução da MSM superior a 80%. O Pt-441, Pt-H6, Pt-Rv82 e Pt-185 foram classificados como medianamente tolerantes e o Pt-303, Pt-270 e Pt-H15 como pouco tolerantes. Já na mistura com 75% de PSC, apenas o Pt-306 foi tolerante, o

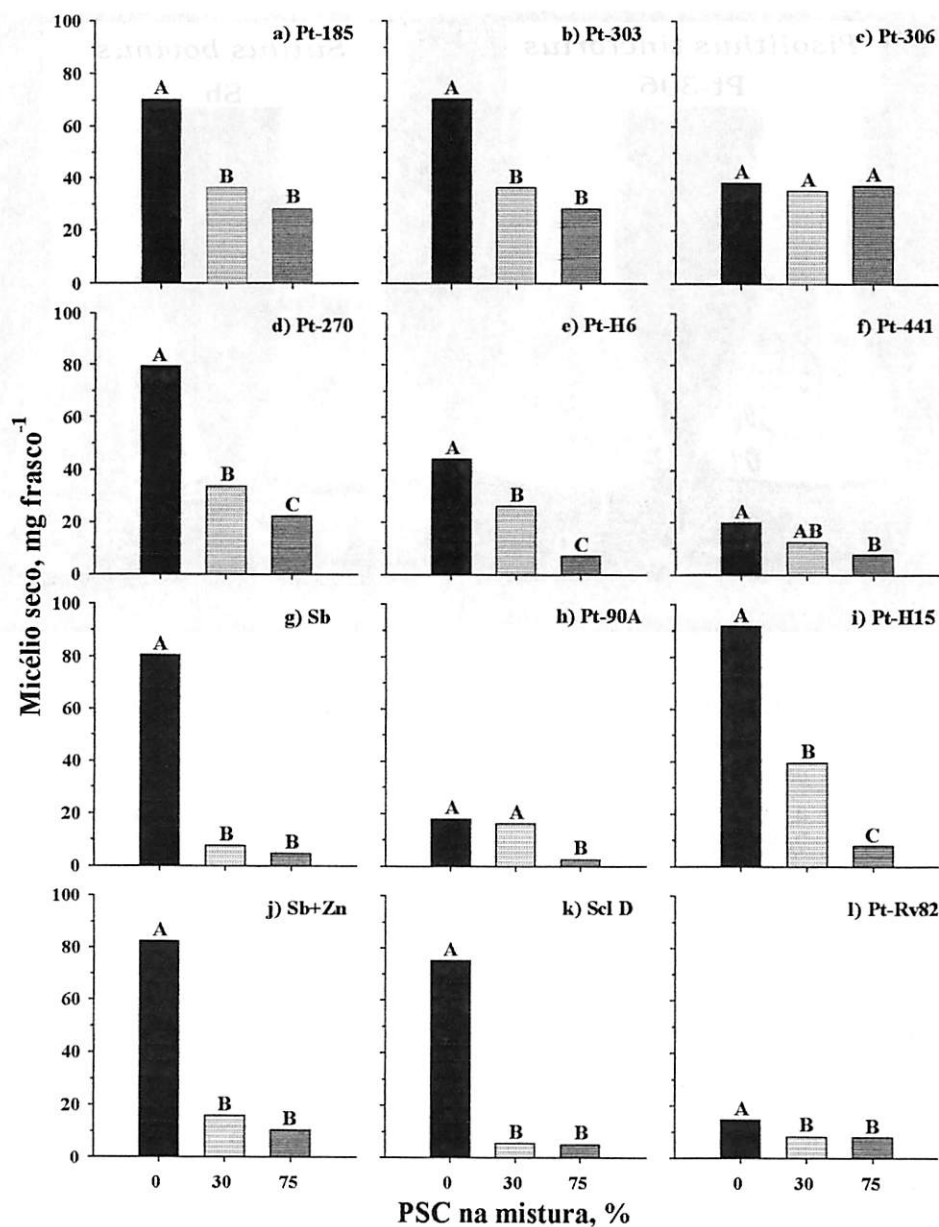


Figura 1. Produção de massa seca de micélio de isolados de *Pisolithus tinctorius*, *Suillus bovinus* e *Scleroderma* sp. em meio MNM contendo mistura de solo e areia com diferentes proporções de solo contaminado (PSC).



Figura 2. Índice de tolerância (IT%) e categorização de isolados de fungos ectomicorrízicos em meio MNM contendo mistura de solo e areia, com 30 e 75% de solo contaminado. IT% \leq 25% = Não tolerante; 26 a 50% = Pouco tolerantes; 51 a 75% = Medianamente tolerantes; \geq 76% = Tolerantes.

Pt-RV82 foi medianamente tolerante, Pt-441, Pt-185, Pt-303 e Pt-270 foram pouco tolerantes e Pt-90A, Pt-H6, Pt-H15, Sb+Zn, Sb e Scl D foram não tolerantes à contaminação elevada. Estes resultados e o de outros autores (McCreight e Schroeder, 1982; Brown e Wilkins, 1985b; Colpaert e Van Assche, 1987; Jones e Hutchinson, 1988; Jongbloed e Borst-Pauwels, 1990; Willenborg, Schmitz e Lelley, 1990) demonstram que fungos ectomicorrízicos apresentam diferença intra e inter-específica quanto à tolerância a metais pesados. Entre os isolados que apresentaram tolerância à contaminação

moderada, somente o Pt-306, Pt-Rv82, Pt-303 e Pt-270 mantiveram a mesma classificação na contaminação elevada (75% de PSC). Os demais isolados tiveram comportamento diferenciado nos dois níveis de contaminação, em destaque o Pt-90A, Pt-H6 e Pt-H15, que foram classificados como não tolerantes sob alta contaminação. É interessante observar que somente os isolados de *Pisolithus* apresentaram tolerância à contaminação dos solo por metais pesados. Este comportamento corrobora com a grande distribuição geográfica do gênero e sua tolerância a uma variedade de ambientes adversos (Marx, 1991). Isolados desta espécie apresentam grande diversidade genética (Junghans et al., 1998) e plasticidade quanto à adaptação ecológica. Isto tem grande relevância prática, considerando que mudas de árvores colonizadas por isolados de *P. tinctorius* selecionados sobrevivem e se desenvolvem melhor em áreas degradadas (Cordell et al., 1987, Marx, 1991), pois estes fungos aumentam a habilidade da planta hospedeira em tolerar o estresse hídrico, acidez elevada, temperaturas extremas, fertilidade baixa e toxidez de metais pesados (Cordell et al., 1987). O isolado Pt-306 apresentou elevada tolerância aos metais pesados (Figura 3), sobrevivendo e crescendo satisfatoriamente no meio com solo contaminado simultaneamente por Zn, Cu, Cd e Pb. Isto sugere que este isolado apresenta co-tolerância a estes metais, fato também observado por Tam (1995) para outro isolado de *P. tinctorius*. Isto, no entanto, não parece regra, pois alguns fungos apresentam tolerância a diversos metais, enquanto outros podem ser tolerantes a alguns metais e não tolerantes a outros. A presença simultânea de diversos metais no solo em estudo pode ter inibido o crescimento de algum isolado pela ação de apenas um metal ou a combinação de dois ou mais. Isto explica parte dos resultados com os isolados citados na literatura como tolerantes a algum metal, como: Pt-Rv82 e Pt-185 tolerantes a alumínio (Vieira, 1984); e Sb e Sb+Zn, tolerantes a Zn (Bücking e Heyser, 1994) e que, no presente estudo, não apresentaram tolerância. Vieira (1984) concluiu que o Pt-Rv82 e Pt-185 foram

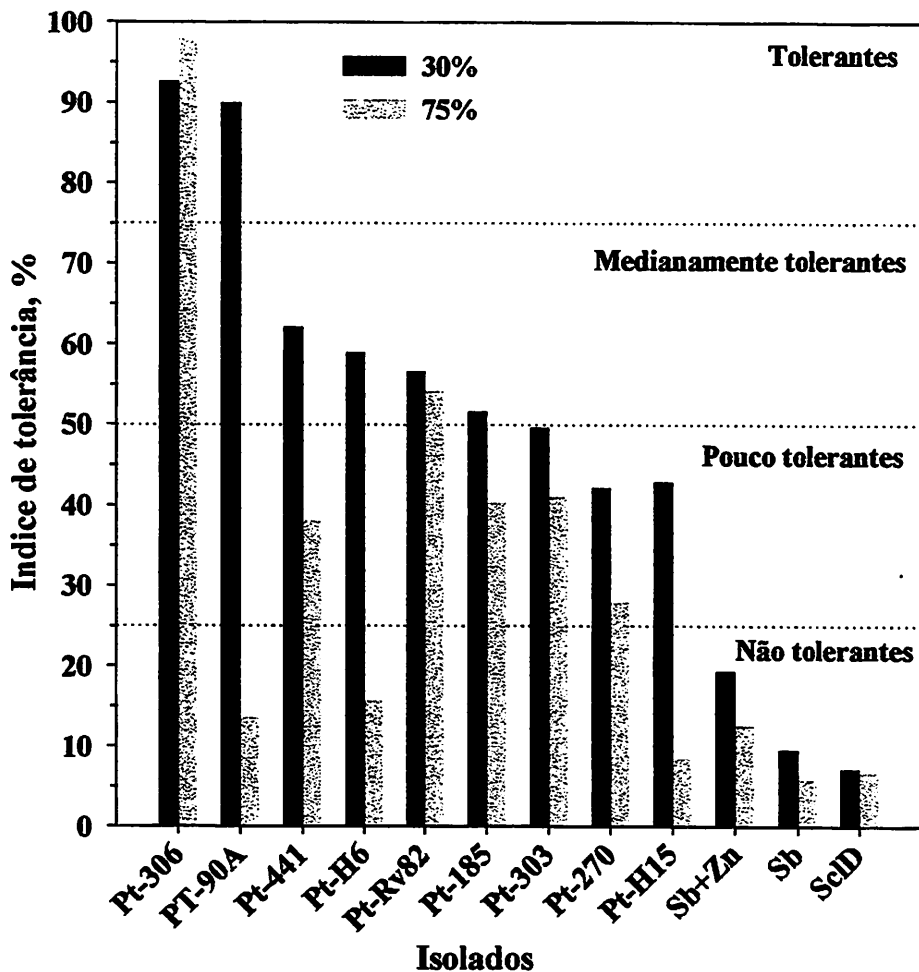


Figura 3. Crescimento dos isolados Pt-306 e Sb no controle e na mistura solo-areia com 30% de solo contaminado e o escurecimento do meio de cultura do isolado Pt-306 na presença de solo contaminado, com 10 dias de idade.

tolerantes a concentrações de Al de até 55,6 mM. No presente trabalho, na mistura com 75% de solo contaminado, o Pt-Rv82 foi classificado como medianamente tolerante e o Pt-185 como pouco tolerante, demonstrando, outra vez, o comportamento específico de cada isolado em relação a diferentes metais. Bücking e Heyser (1994) observaram que o Sb e Sb+Zn em simbiose com *Pinus sylvestris*, crescendo em placas de Petri contendo Perlita enriquecida com solução nutritiva adicionada de até 3 mM de Zn, foram capazes de manter os teores de Zn na parte aérea das plantas dentro da faixa normal para a espécie. Estes autores concluíram que a sub-cultura Sb+Zn, a qual foi pré-cultivada em meio enriquecido com Zn-EDTA, foi mais eficiente do que a cultura mãe (Sb) na proteção da planta hospedeira. Estes isolados comportaram-se como não tolerantes e não houve diferença entre eles (Figuras 1 e 2). Isto pode ser devido à contaminação múltipla. Algum dos metais no solo em estudo pode ter sido responsável pela inibição. Isto demonstra a importância de se avaliar a co-tolerância de isolados de fungos ectomicorrízicos à contaminação por metais pesados em trabalhos que visem a seleção de fungos ectomicorrízicos tolerantes pois, em geral, a contaminação por metais pesados no ambiente ocorre simultaneamente por mais de um metal.

O Pt-306 e Pt-Rv82, mesmo sob alta contaminação, foram classificados como tolerante e moderadamente tolerante, respectivamente. No entanto, nenhum dos isolados aqui estudados foram obtidos de sítios que apresentassem qualquer tipo de contaminação com metal pesado. Isto corrobora a idéia de que não existe relação entre a contaminação do solo de origem dos isolados e a tolerância deles a metais pesados (Howe, Evans e Ketteridge, 1997; Denny e Wilkins, 1987a), apesar de alguns trabalhos sugerirem tal relação (Egerton-Warburton e Griffin, 1995; Colpaert e Van Assche, 1992b, 1993). A tolerância a Cu em três isolados de *Laccaria laccata*, cinco de *Paxillus involutus* e um de *Scleroderma citrinum* não foi relacionada com a contaminação por Cu dos sítios

de origem (Howe, Evans e Ketteridge, 1997). Denny e Wilkins (1987a) também não observaram relação entre a tolerância a Zn de 10 isolados de *Paxillus involutus*, obtidos de diversos solos, e índices de contaminação do solo de origem. Estes resultados sugerem que fungos tolerantes a metais podem ser mais abundantes em solos com altas concentrações de metais, porém também podem ser isolados de solos não contaminados, indicando existir uma ampla variação genética para tolerância a metais nas populações de fungos ectomicorrízicos.

A elevação na PSC na mistura solo-areia até 100% (Figura 4) mostrou que o Pt-306, considerado tolerante, sofreu pouca inibição com até 40% de solo contaminado na mistura, enquanto o Sb, com apenas 5,4%, teve seu crescimento reduzido em 50%, o que só aconteceu para o Pt-306 com 65,4% de solo contaminado na mistura. O Pt-306 teve seu crescimento estimulado nas menores PSC, só apresentando redução no crescimento a partir da PSC de 15,2%, indicando que algum componente presente no solo contaminado, talvez algum metal, quando adicionado em pequenas proporções, estimulou o crescimento do isolado. Já para o Sb, apesar de ter sido submetido a PSC muito inferiores (0 a 25%), a produção de MSM foi sempre decrescente. Esses resultados confirmam a maior tolerância do Pt-306 em relação ao Sb nesta condição de contaminação.

O pH da solução do meio de cultura na ausência de contaminação (controle) diminuiu de 5,6, original do meio, para valores em torno de até 3,2, para ambos isolados (Figura 4). Já na presença do solo contaminado por metais pesados, esta redução foi menor, e diminuiu para em média 5,2 para o Pt-306 e 4,8 para o Sb. A redução do pH da solução em relação ao pH ajustado é resultante da atividade metabólica dos fungos, e a menor redução na presença da contaminação deve ser por causa do menor crescimento dos isolados nestes tratamentos e a presença do próprio solo contaminado, que possui maior poder tampão do que a areia, presente no controle.

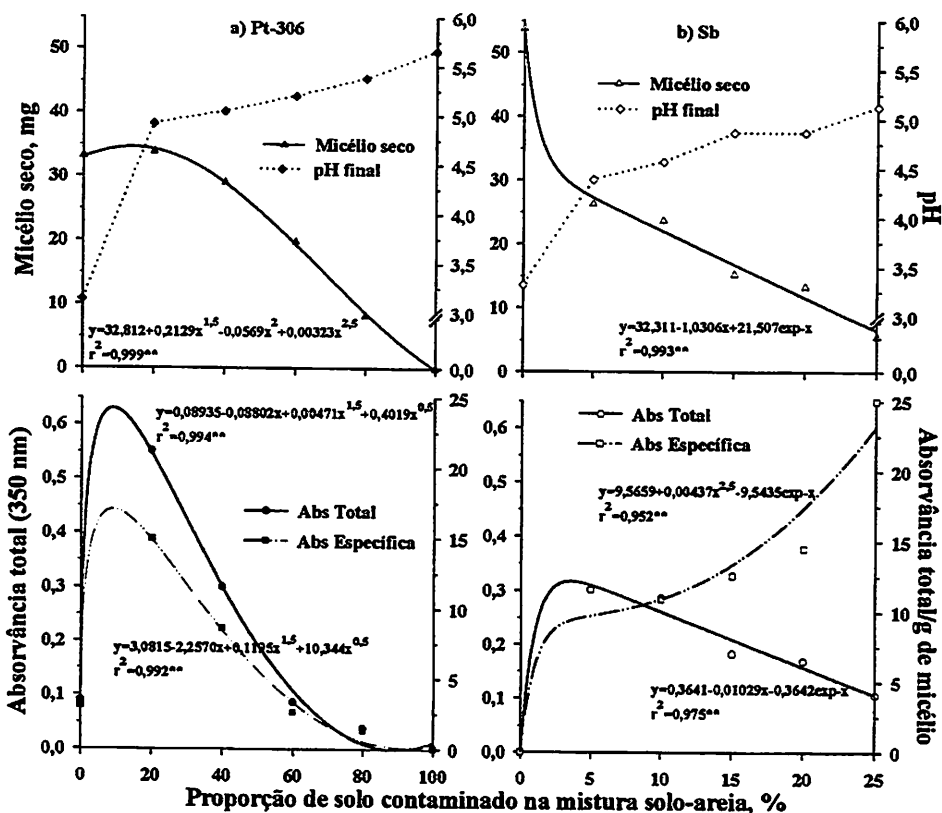


Figura 4. Crescimento (massa micelial), produção de pigmentos extracelulares (absorvância) e pH final da solução do meio de cultura do isolado Pt-306 (tolerante) e do Sb (não tolerante) em meio MNM contendo mistura de solo e areia com diferentes proporções de solo com contaminação múltipla por metais pesados.

A produção de pigmentos extracelulares do Pt-306 e Sb aumentou com a elevação da PSC na mistura solo-areia (Figura 4), sendo que a máxima para o Sb foi próximo da metade da máxima do Pt-306, e foi obtida na PSC de 3,6%, que foi suficiente para reduzir a produção de micélio em 29,1%. Para o Pt-306 a produção máxima de pigmentos foi observado na PSC próxima àquela em que ocorreu a produção máxima de micélio diminuindo simultaneamente, ou seja, a produção de pigmentos acompanhou a mesma tendência da produção de micélio. Na tentativa de separar o efeito da quantidade de micélio na pigmentação, calculou-se a absorvância específica (Absorvância/g de micélio). Para o isolado Pt-306, esta apresentou mesmo comportamento da produção total, aumentando em pequenas PSC e diminuindo nas mais elevadas (Figura 4). Este resultado sugere que a produção de pigmentos extracelulares não está relacionada à maior tolerância deste isolado, mesmo sendo a melanina considerada como um dos mecanismos de tolerância de fungos a metais pesados (Gadd e Rome, 1988; Gadd, 1993; Wang e Casadevall, 1994; Fogarty e Tobin, 1996). Já para o isolado Sb, a produção de pigmentos extracelulares por grama de micélio seco foi induzida e aumentou progressivamente com a elevação da PSC na mistura solo-areia (Figura 4), enquanto a produção total reduziu. Novamente, esses resultados também sugerem a ausência de relação entre a produção de pigmentos e a tolerância a contaminação do solo por metais pesados, visto que este isolado foi classificado como não tolerante para as condições estudadas neste trabalho. No entanto, os fatores responsáveis pela indução da produção de pigmentos extracelulares não puderam ser identificados aqui.

Os teores iniciais dos metais na solução do meio de cultura, em geral, aumentaram com o incremento da proporção de solo contaminado na mistura solo-areia, exceto para o Cu no experimento com Pt-306 (Figura 5). Neste caso, o maior teor foi observado na mistura com 20% de PSC e foi ligeiramente decrescente nas PSC subsequentes. Isto pode ser devido a interações antagônicas

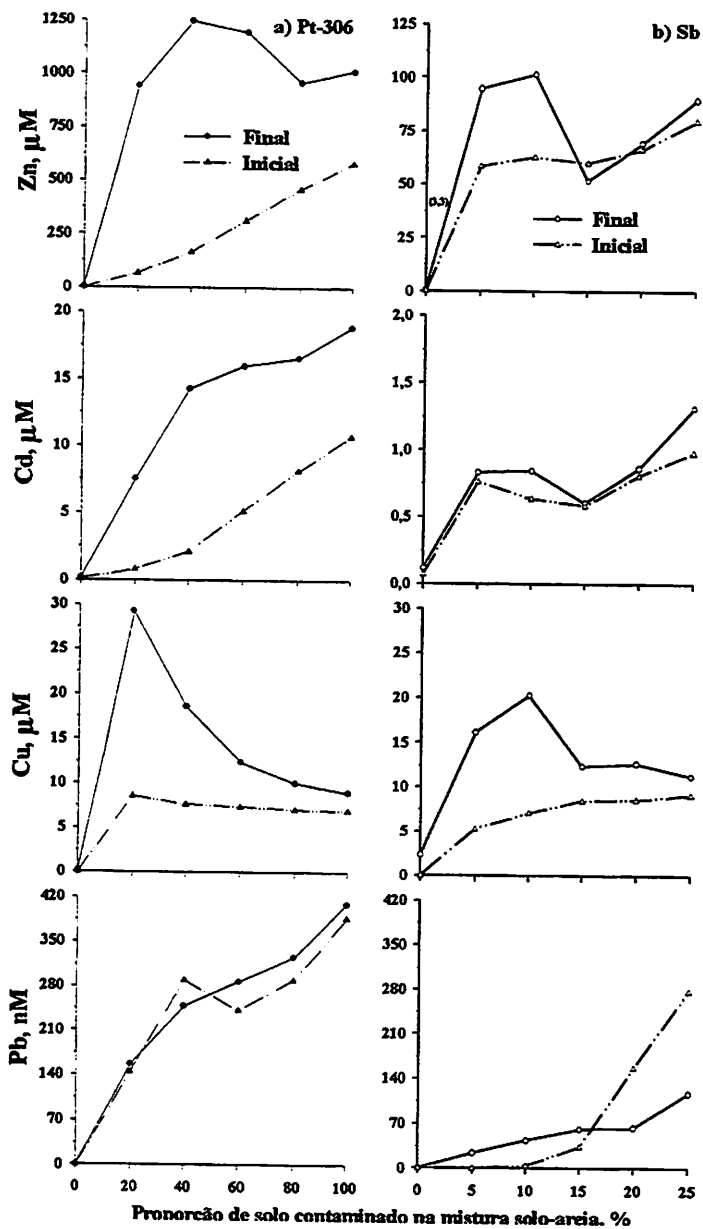


Figura 5. Teores iniciais e finais de metais pesados na solução do meio de cultura (MNM) contendo mistura de solo e areia com diferentes proporções de solo contaminado, onde foram crescidos os isolados Pt-306 e Sb.

com os demais metais presentes no solo. Os teores de Zn, Cd e Cu na solução do meio de cultivo ao final do experimento foram, em geral, maiores que os iniciais (Figura 5). Isso deve ser consequência da queda de pH do meio. Os maiores teores de Cu, Cd e Pb na solução do meio de crescimento do Pt-306 em relação ao Sb (Figura 5) concordam com as maiores PSC estudadas para o Pt-306, e demonstram a capacidade deste isolado de co-tolerar esses metais.

3.2. Resposta do Pt-306 e Sb a doses crescentes de Zn, Cu ou Cd em meio de cultura (Experimento 2)

O crescimento do Pt-306 e Sb foi decrescente com o aumento da concentração de Zn, Cu e Cd no meio de cultura (Figura 6), exceto para o Pt-306 em meio com Cu, cujo o crescimento aumentou com a adição de até 0,51 mM de Cu, sugerindo elevado requerimento de Cu por este isolado, que se mostrou sensível à elevação das concentrações deste elemento no meio. Tam (1995) também observou resposta positiva de um isolado de *P. tinctorius* a doses baixas de Cu, Zn e Fe. Assim, o melhor crescimento do Pt-306 no meio com baixas PSC observado no experimento 1 pode ter sido devido ao fornecimento de Cu pelo solo contaminado.

A redução do crescimento do Sb foi linear com a adição de Zn, enquanto para o Pt-306, inicialmente a redução foi menor, acentuando-se a partir de 2,25 mM de Zn (Figura 6); determinando uma $CI_{50\%}$ ligeiramente mais elevada para este isolado em relação ao Sb. A maior tolerância do Pt-306 a Cu e Cd, em relação ao Sb, é bem evidente. A $CI_{50\%}$ para o Cu do Sb é cerca de quatro vezes menor que a concentração de Cu a partir da qual o crescimento do Pt-306 é inibido e cerca de 10 vezes menor que a $CI_{50\%}$ (Figura 6). Para o Cd, a $CI_{50\%}$ do Sb foi cerca de duas vezes menor do que a do isolado Pt-306. Esses resultados demonstram que os dois isolados diferem pouco quanto à tolerância a Zn, mas o Pt-306 é mais tolerante a Cu e Cd do que o Sb. Isto pode explicar, em parte, a

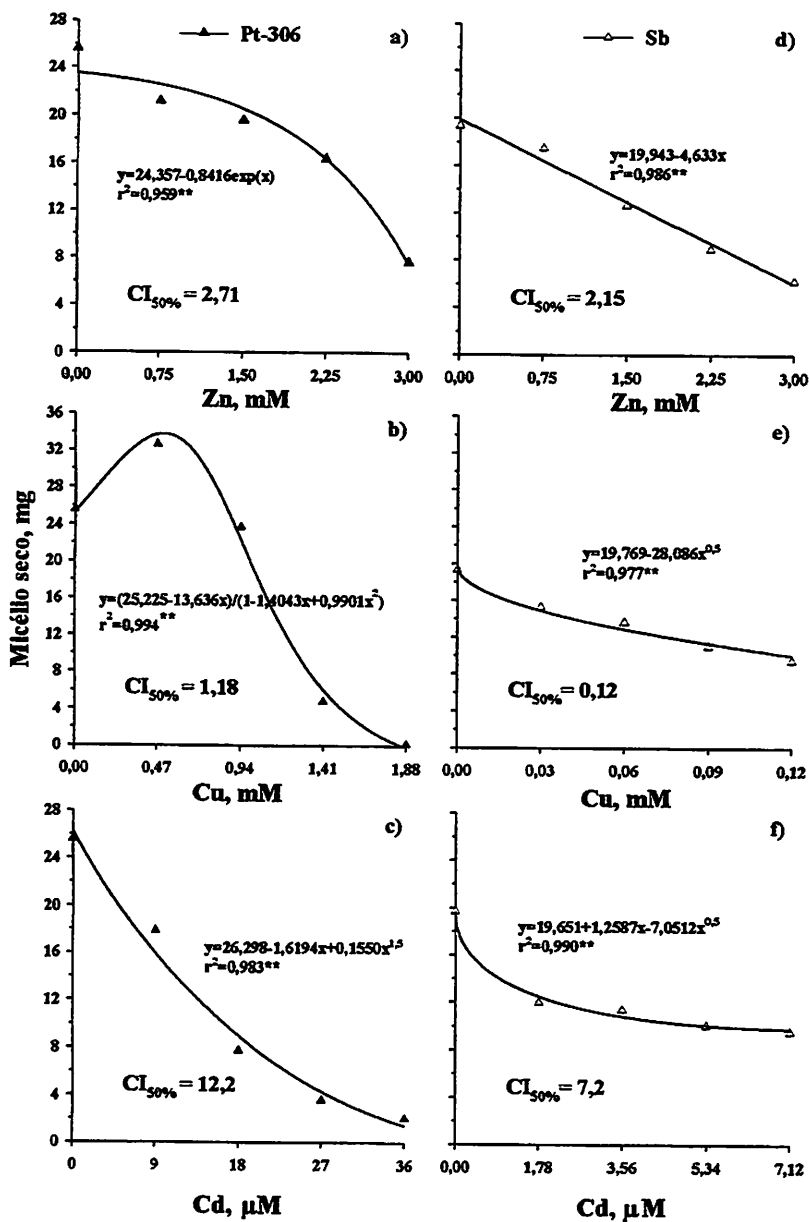


Figura 6. Crescimento dos isolados Pt-306 e Sb em meio MNM líquido contendo doses crescentes de Zn, Cu e Cd.

sensibilidade do Sb nos experimentos com solo contaminado devido à contaminação múltipla. A $CI_{50\%}$ para Zn, Cu e Cd dos dois isolados, quando comparadas aos valores citados na literatura para diversos fungos ectomicorrízicos, em meio líquido (Jones e Hutchinson, 1988; Darlington e Rauser, 1988; Jongbloed e Borst-Pauwels, 1990; Tam, 1995), permitem concluir que o Pt-306 é de fato tolerante a estes três metais e o Sb apenas a Zn, o que concorda com os resultados de Bücking e Heyser (1994), em que este isolado foi capaz de reduzir o efeito da toxicidade de Zn para *P. sylvestris* crescendo em substrato adicionado de solução nutritiva com até 3 mM de Zn. Tam (1995) observou que *P. tinctorius* apresentou maior $CI_{50\%}$ do que *Thelephora terrestris*, *Cenococcum geophilum*, *Hymenogaster* sp. e *Scleroderma* sp. para vários metais, e os valores de $CI_{50\%}$ foram de 0,2 mM para Zn, 0,2 mM para Cu e 10 μ M para Cd, deste modo inferiores aos valores obtidos para o Pt-306. Os fungos ectomicorrízicos possuem a capacidade de tolerar mais de um metal (Colpaert e Van Assche, 1987; Willenborg, Schmitz e Lelley, 1990; Tam, 1995).

No experimento 1, para o Pt-306, as concentrações dos metais no meio de cultura, ao final do experimento, atingiram valores de até 1247 μ M para o Zn, 29,2 μ M para o Cu e 18,9 μ M para o Cd (Figura 5). E estes valores são inferiores ao $CI_{50\%}$ para Zn e Cu observados para esse isolado neste experimento, no entanto, para o Cd, as concentrações observadas foram até mesmo maiores do que o $CI_{50\%}$ (12,2 μ M). Isto sugere que o Cd foi o principal responsável pela redução de crescimento do Pt-306 naquelas condições. É sabido que a toxicidade de Cd pode ser reduzida pela presença simultânea de outros metais, como Zn (Colpaert e Van Assche, 1992a; Hartley et al., 1997), Pb e antimônio (Hartley et al., 1997). A toxicidade de Cd para *Lactarius deliciosus* foi reduzida pela adição de Zn, antimônio, Zn + antimônio ou Zn + Pb, para *Suillus variegatus* pela adição de Zn ou antimônio, e para *Suillus granulatus* pela adição de Pb, antimônio ou Pb + antimônio. Mas deve-se ressaltar que a

interação entre metais é dependente do isolado e da concentração dos metais (Hartley et al., 1997). Para Sb, as concentrações dos metais no meio de cultura, ao final do experimento, atingiram valores de até 101,4 μM para o Zn, 20, 2 μM para o Cu e 1,3 μM para o Cd (Figura 5), também inferiores aos $\text{CI}_{50\%}$ obtidos para este isolado. Estes resultados sugerem que a presença de vários metais simultaneamente no meio de cultura, promovendo um efeito somatório e sinérgico da toxicidade destes, tenha sido a principal causa da redução do crescimento desse isolado, fato também observado por Hartley et al. (1997). Os autores observaram que a adição de Cd + Zn + Pb + Sb resultou numa maior redução do crescimento do que os metais isoladamente para *S. granulatus*, *S. variegatus* e *L. deliciosus*, mas que nem sempre foi a mais tóxica entre as combinações testadas. Por exemplo, para *S. granulatus* a adição de Cd + Zn + Sb foi a combinação que mais reduziu o crescimento. Portanto, para se alcançar sucesso com a utilização de fungos ectomicorrízicos em programas de revegetação de áreas contaminadas por metais pesados, faz-se necessário a seleção de isolados em condições que melhor se aproximem da realidade da área contaminada.

Na ausência de metais, a produção total de pigmentos extracelulares foi 6,6 vezes maior para o Pt-306 do que para o Sb, e a produção de pigmentos por grama de micélio foi 4,9 vezes maior (Figura 7). A produção total de pigmentos extracelulares do Pt-306 aumentou nas doses iniciais de Zn e Cd e nas doses intermediárias de Cu, decrescendo nas maiores doses dos três metais, sendo que a produção total de pigmentos extracelulares máxima ocorreu na presença de 0,43 mM de Zn. Para o isolado Sb, a produção total de pigmentos extracelulares aumentou com o incremento das doses de Zn e Cd, e diminuiu para o Cu (Figura 7). Para o Zn, a produção máxima de pigmentos totais ocorreu na concentração de 0,84 mM, a partir da qual reduziu. A maior pigmentação ocorreu nos

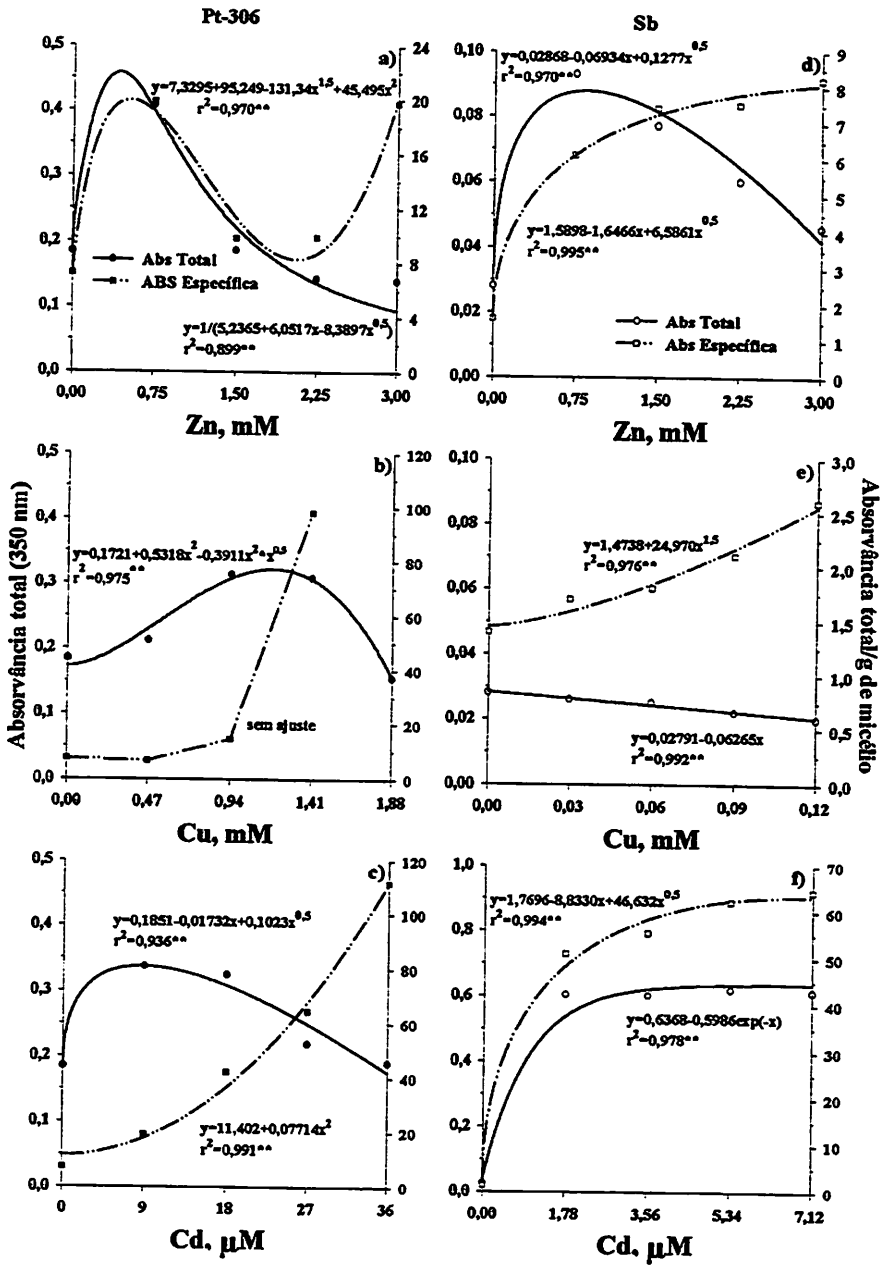
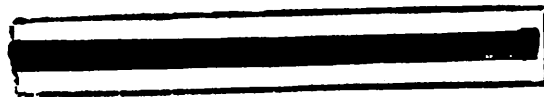


Figura 7. Produção total e por grama de micélio seco de pigmentos extracelulares (absorbância total e específica) da solução do meio de cultura (MNM) contendo doses crescentes de Zn, Cu e Cd, onde cresceram os isolados Pt-306 e Sb.

tratamentos com Cd, sendo esta sete vezes maior que o máximo observado para Zn, e ainda maior do que a observada para o Pt-306. A diminuição da pigmentação, nas doses mais elevadas de metais, foi devido ao efeito inibitório deste no crescimento.

A absorvância específica que exclui o efeito do crescimento foi, em geral, crescente com o aumento das doses dos metais, exceto para o Pt-306 com Zn (Figura 7), o qual seguiu as tendências da absorvância total. Isto indica mecanismos fisiológicos distintos dos fungos em relação aos metais. É interessante notar que a absorvância total e específica deste isolado na presença de Zn foi semelhante àquela observada para o mesmo isolado na presença de PSC crescentes na mistura solo-areia (Figura 4), sugerindo que na presença daquele solo contaminado por vários metais, o Zn foi o metal que mais influenciou o comportamento do Pt-306 quanto à produção de pigmentos extracelulares, o que concorda com os maiores teores deste metal no solo em estudo.

Apesar da indução da maior produção de pigmentos por grama de micélio observada para os dois isolados com o aumento das concentrações dos metais, como visto, essa indução foi de grandezas muito distintas de acordo com o metal e o isolado. Para o Pt-306, a absorvância específica máxima para o Zn foi 5 vezes menor do que a observada para o Cu e 5,6 vezes menor do que para a de Cd. Já para o Sb, a absorvância específica máxima de menor grandeza foi aquela observada para o Cu, e foi 3,2 vezes menor do que a de Zn e 7,8 vezes menor do que aquela para Cd. A pigmentação produzida foi de coloração marrom escura, sugerindo tratarem-se de melaninas extracelulares (Fogarty e Tobin, 1996). Assim, o aumento da produção de pigmentos extracelulares com o incremento dos metais concorda com o fato de que vários metais pesados podem induzir ou acelerar a produção destes pigmentos em certos fungos (Gadd, 1984; Fogarty e Tobin, 1996). A produção de melanina por *Aureobasidium pullulans* e

Clamidosporium resinae é mais rápida e maior na presença 5 mM de Cu (Gadd e Griffiths, 1980; Gadd e Rome, 1988). Fogarty e Tobin (1996) propuseram que isto pudesse ser devido ao fato de que a polimerização do 1,8-dihidroxi-naftaleno para a síntese da melanina parecer ser controlada por uma lactase que contém Cu, de forma que a deficiência do elemento bloqueia a síntese da melanina (Bell e Wheeler, 1986). No entanto, no presente trabalho, a produção de pigmentos (provavelmente melaninas) foi estimulada também por Zn e Cd, e no Sb chegou a produzir 38,7 vezes mais na presença de Cd do que no controle sem metal, demonstrando que outros fatores além do que proposto por Fogarty e Tobin (1996) devem estar envolvidos.

O Pt-306, aqui considerado tolerante a Zn, Cu e Cd, aumentou a produção de pigmentos extracelulares por grama de micélio seco. Este aumento foi de até 2,8 vezes com o incremento de Zn, 13,2 vezes para o Cu e 15,7 vezes para o Cd. Já o Sb, aqui considerado tolerante somente para o Zn, teve sua produção de pigmentos aumentada em até 5,2 vezes com o incremento Zn, 1,9 vezes para o Cu e 38,7 vezes para o Cd, sugerindo que a produção destes pigmentos não está envolvida na tolerância destes isolados aos metais estudados. Apesar de vários trabalhos indicarem a produção de melaninas como mecanismo de tolerância de fungos a metais pesados, devido à sua capacidade de adsorver metais pesados (Sakaguchi e Nakajima, 1987; Gadd e Rome, 1988; Siegel, Galun e Siegel, 1990; Fogarty e Tobin, 1996). Assim, outros mecanismos de tolerância a metais pesados devem existir nos isolados estudados, tais como produção de metalotioneína (Morselt, Smits e Limonard 1986; Howe, Evans e Ketteridge, 1997), adsorção em grânulos de polifosfatos (Tam, 1994), ou ainda outros mecanismos citados por Gadd (1993) para fungos e ainda não investigados para fungos ectomicorrízicos. Portanto, as bases da tolerância destes isolados a metais pesados são ainda desconhecidas.

Diante da dificuldade de se avaliar a biodisponibilidade de metais pesados no solo, a adição de solo contaminado por metais pesado ao meio de cultura, metodologia empregada neste trabalho, para avaliação da tolerância de fungos ectomicorrízicos a contaminação por metais pesados no solo é um procedimento simples e eficaz para o estudo de comportamento de isolados de fungos ectomicorrízicos destinados ao emprego em programas de revegetação de áreas contaminadas. Também permite melhor avaliação do efeito das interações entre metais pesados e de suas interações com o solo, sobre o crescimento dos fungos ectomicorrízicos, o que não é possível em estudos com metais em meio de cultura. É necessário avaliar se esta metodologia permitirá prever a tolerância de isolados a metais pesados quando em simbiose. Para isto faz-se necessário ter hospedeiro compatível com tal isolado e tolerante a elevadas concentrações de metais pesados. Como salientado por Denny e Wilkins (1987a) a resposta dos fungos ectomicorrízicos, aos metais pesados é dependente da tolerância da planta hospedeira.

4. CONCLUSÕES

A adição de solo contaminado no meio de cultura reduziu o crescimento dos isolados estudados, permitindo a categorização destes quanto à tolerância à contaminação do solo por metais pesados.

Os isolados estudados apresentavam variações intra e inter-específicas quanto à tolerância à contaminação, sendo esta dependente do grau de contaminação e do metal contaminante.

O isolado Pt-306 de *Pisolithus tinctorius* apresentou co-tolerância ao Zn, Cu e Cd e foi o mais tolerante à contaminação múltipla do solo por metais pesados.

O isolado Sb de *Suillus bovinus* apresentou tolerância a Zn individualmente similar ao isolado Pt-306 de *Pisolithus tinctorius*, mas foi pouco tolerante a Cu e Cd, e portanto não tolera solo multicontaminado.

O isolado Sb+Zn, considerado tolerante a Zn, não se comportou-se assim em meio contendo solo contaminado por vários metais pesados.

A produção de pigmentos extracelulares nos isolados Pt-306 e Sb foi estimulada pelos metais em meio de cultura, mas isto não se relacionou com a tolerância destes a contaminação por metais pesados.

Pequena dose de Cu favoreceu o crescimento do isolado Pt-306, que teve o crescimento limitado pelo Cd.

A elevada sensibilidade do isolado Sb ao solo contaminado é resultante do efeito aditivo dos metais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BELL, A.A.; WHEELER, M.H. Biosynthesis and functions of fungal melanins. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, v.24, p.411-451, 1986.
- BROWN, M.T.; WILKINS, D.A. Zinc tolerance of mycorrhizal *Betula*. *The New Phytologist*, Oxford, v.99, n.1, p.101-106, Jan. 1985a.
- BROWN, M.T.; WILKINS, D.A. Zinc tolerance of *Amanita* and *Paxillus*. *Transactions of the British Mycological Society*, London, v.84, n.2, p.367-369, May 1985b.
- BÜCKING, H.; HEYSER, W. The effect of ectomycorrhizal on Zn uptake and distribution in seedlings of *Pinus sylvestris* L. *Plant and Soil*, The Hague, v.167, n.2, p.203-212, Dec. 1994.
- COLPAERT, J.V.; VAN ASSCHE, J.A. Heavy metal tolerance in some ectomycorrhizal fungi. *Functional Ecology*, Oxford, v.1, p.415-421, 1987.

- COLPAERT, J.V.; VAN ASSCHE, J.A. The effects of cadmium and the cadmium-zinc interaction on the axenic growth of ectomycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, The Hague, v.145, n.2, p.237-243, Sep. 1992a.
- COLPAERT, J.V.; VAN ASSCHE, J.A. Zinc toxicity in ectomycorrhizal *Pinus sylvestris*. **Plant and Soil**, The Hague, v.143, n.2, p.201-211, Jun. 1992b.
- COLPAERT, J.V.; VAN ASSCHE, J.A. The effects of cadmium on ectomycorrhizal *Pinus sylvestris* L.. **The New Phytologist**, Oxford, v.123, n.2, p.325-333, Feb. 1993.
- CORDELL, C.E.; OWEN, J.H.; MARX, D.H.; FARLEY, M.E. Ectomycorrhizal fungi - Beneficial for mineland reclamation. In: NATIONAL SYMPOSIUM ON MINING, SEDIMENTOLOGY, AND RECLAMATION, Kentucky, 1987. **Proceedings...** Kentucky: University of Kentucky, 1987. p.321-326.
- DARLINGTON, A.B.; RAUSER, W.E. Cadmium alters the growth of the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus*: a new growth model accounts for changes in branching. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.66, n.2, p.225-229, Feb. 1988.
- DENNY, H.J.; WILKINS, D.A. Zinc tolerance in *Betula* spp.. III. Variation in response to zinc among ectomycorrhizal associates. **The New Phytologist**, Oxford, v.106, n.3, p.535-544, Jul. 1987a.
- DENNY, H.J.; WILKINS, D.A. Zinc tolerance in *Betula* spp.. IV. The mechanism of ectomycorrhizal amelioration of zinc toxicity. **The New Phytologist**, Oxford, v.106, n.3, p.545-553, Jul. 1987b.
- DIXON, R.K.; BUSCHENA, C.A. Response of ectomycorrhizal *Pinus banksiana* and *Picea glauca* to heavy metals in soil. **Plant and Soil**, The Hague, v.105, n.2, p.256-271, 1988.
- EGERTON-WARBURTON, L.M.; GRIFFIN, B.J. Differential responses of *Pisolithus tinctorius* isolates to aluminum *in vitro*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.73, n., p.1229-1233, Jul. 1995.
- FOGARTY, R.V.; TOBIN, J.M. Fungal melanins and their interactions with metals. **Enzyme and Microbial Technology**, Guildford, v.19, n.4, p.311-317, Mar. 1996.

- FRONCISZ, W.; SARNA, T.; HYDE, J.S. Cu^{2+} probe of metal-ion binding sites in melanin using electron paramagnetic resonance spectroscopy. I. Synthetic melanins. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, New York, v.202, n.1, p.289-303, Jun. 1980.
- GADD, G.M. Effects of copper on *Aureobasidium pullulans* in solid medium: adaptation not necessary for tolerant behaviour. *Transactions of the British Mycological Society*, London, v.82, n.3, p.546-549, May 1984.
- GADD, G.M. Interactions of fungi with toxic metals. *The New Phytologist*, Oxford, v.124, n.2, p.25-60, Jun. 1993.
- GADD, G.M.; DE ROME, L. Biosorption of copper by fungal melanin. *Applied Microbiology and Biotechnology*, Berlin, v.29, n.10, p.610-617, 1988.
- GADD, G.M.; GRIFFITHS, A.J. Effect of copper on morphology of *Aureobasidium pullulans*. *Transactions of the British Mycological Society*, London, v.74, n.2, p.387-392, Apr. 1980.
- GALLI, U.; SCHUEPP, H.; BRUNOLD, C. Heavy metal binding by mycorrhizal fungi. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v.92, n.2, p.364-368, Aug. 1994.
- GOMES, E.A.; BARROS, E.G.; KASWYA, M.C.M.; ARAÚJO, E.F. Molecular characterization of *Pisolithus* spp. isolates by rDNA PCR-RFLP. *Mycorrhiza*, v.8, n.4, p.197-202, 1999.
- HARTLEY J.; CAIRNEY, J.W.G.; MEHARG, A.A. Do ectomycorrhizal fungi exhibit adaptive tolerance to potentially toxic metals in the environment? *Plant and Soil*, The Hague, v.189, n.2, p.303-319, Feb. 1997.
- HARTLEY, J.; CAIRNEY, J.W.G.; SANDERS, F.E.; MEHARG, A.A. Toxic interactions of metal ions (Cd^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} and Sb^{3+}) on *in vitro* biomass production of ectomycorrhizal fungi. *The New Phytologist*, Oxford, v.137, n.3, p.551-562, Nov. 1997.
- HEINRICH, P.A.; MULLIGAN, D.C.; PATRICK, J.W. The effect of ectomycorrhizas on the phosphorus and dry weight acquisition of *Eucalyptus* seedlings. *Plant and Soil*, The Hague, v.109, n.1, p.147-149, Jun. 1988.

- HOWE, R.; EVANS, R.L.; KETTERIDGE, S.W. Copper-binding proteins in ectomycorrhizal fungi. **The New Phytologist**, Oxford, v.135, n.1, p.123-131, Jan. 1997.
- HUNTER, B.A.; JOHNSON, M.S.; THOMPSON, D.J. Ecotoxicology of copper and cadmium in a contaminated grassland ecosystem. I. Soil and vegetation contamination. **Journal of Applied Ecology**, Oxford, v.24, n.2, p.573-586, Aug. 1987.
- JONES, M.D.; BROWNING, M.H.R.; HUTCHINSON, T.C. The influence of mycorrhizal associations on paper birch and jack pine seedlings when exposed to elevated copper, nickel or aluminum. **Water Air and Soil Pollution**, Dordrecht, v.31, p.441-448, 1986.
- JONES, M.D.; HUTCHINSON, T.C. The effect of mycorrhizal infection on the response of *Betula papyrifera* to nickel and copper. **The New Phytologist**, Oxford, v.102, n.3, p.429-442, Mar. 1986.
- JONES, M.D.; HUTCHINSON, T.C. The effects of nickel and copper on the axenic growth of ectomycorrhizal fungi. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.66, n.1, p.119-124, Jan. 1988.
- JONGBLOED, R.H.; BORST-PAUWELS, G.W.F.H. Differential response of some ectomycorrhizal fungi to cadmium in vitro. **Acta Botanica Neerlandica**, Amsterdam, v.39, n.3, p.241-246, Sep. 1990.
- JUNGHANS, D.T.; GOMES, E.A.; GUIMARÃES, W.V.; BARROS, E.G.; ARAÚJO, E.F. Genetic diversity of the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius* based on RAPD-PCR analysis. **Mycorrhiza**, New York, v.7, p.243-248, 1998.
- MARX, D.H. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. **Phytopathology**, St.Paul, v.59, n.2, p.153-163, 1969.
- MARX, D.H. The practical significance of ectomycorrhiza in forest establishment. In: MARCUS WALLENBERG PRIZE SYMPOSIUM IN STOCKHOLM, Sweden, 1991, Lectures... Sweden: The Marcus Wallenberg Foundation, 1991. p.54-90.

- MCBRIDE, M.B.** Transition metal bonding in humic acid: An ESR study. *Soil Science*, Baltimore, v.126, n.4, p.200-209, Oct. 1978.
- MCCREIGHT, J.D.; SCHROEDER, D.B.** Inhibition of growth of nine ectomycorrhizal fungi by cadmium, lead, and nickel *In Vitro*. *Environmental and Experimental Botany*, Oxford, v.22, n.4, p.1-7, 1982.
- MORSELT, A.F.W.; SMITS, W.T.M.; LIMONARD, T.** Histochemical demonstration of heavy metal tolerance in ectomycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, The Hague, v.96, p.417-420, 1986.
- PARKE, J.L.; LINDERMAN, R.G.; BLACK, C.H.** The role of ectomycorrhizas in drought tolerance of Douglas-fir seedlings. *The New Phytologist*, Oxford, v.95, n.1, p.83-95, Sep. 1983.
- SAIZ-JIMINEZ, C.; SHAFIZADEH, F.** Iron and copper binding by fungal phenolic polymers: An electron spin resonance study. *Current Microbiological*, v.10, n.5, p.281-286, 1984.
- SAKAGUCHI, T.; NAKAJIMA, A.** Accumulation of uranium by biopigments. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, London, v.40, p.133-141, 1987.
- SCHNITZER, M.; NEYROUD, J.A.** Further investigations on the chemistry of fungal "humic acids". *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.7, n.6, p.365-371, Nov. 1975.
- SENESI, N.; SPOSITO, G.; MARTIN, J.P.** Copper (II) and iron (III) complexation by humic acid-like polymers (melanins) from soil fungi. *Science of the Total Environment*, Amsterdam, v.62, p.241-252, 1987.
- SIEGEL, S.M.; GALUN, M.; SIEGEL, B.Z.** Filamentous fungi as metal biosorbents: A review. *Water Air Soil and Pollution*, Dordrecht, v.53, p.335-344, 1990.
- TAM, P.C.F.** Heavy metal tolerance by ectomycorrhizal fungi and metal amelioration by *Pisolithus tinctorius*. *Mycorrhiza*, New York, v.5, p.181-187, 1995.
- VIEIRA, R.F.** Efeito de fatores edáficos associados ao Cerrado no crescimento de *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker e Couch em meio de

cultura e na infecção micorrízica de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden em condições controladas. Viçosa, UFV, 1984. 84p. (Tese - Mestrado)

WANG, Y.; CASADEVALL, A. Decreased susceptibility of melanized *Cryptococcus neoformans* to UV light. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v.60, p.3864-3866, 1994.

WILLENBORG, A.; SCHMITZ, D.; LELLEY, J. Effects of environmental stress factors on ectomycorrhizal fungi in vitro. *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, v.68, n.8, p.1741-1746, Aug. 1990.

CAPÍTULO 3

COMPORTAMENTO DE ESPÉCIES DE *Eucalyptus* spp, *Pinus* spp E *Acacia mangium* EM SOLO COM EXCESSO DE METAIS PESADOS

GRAZZIOTTI, Paulo Henrique. Comportamento de espécies de *Eucalyptus*, *Pinus*. e *Acacia mangium* em solo com excesso de metais pesados
Lavras: UFLA, 1998. Cap. 3. p.76-151 (Tese – Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas)*

RESUMO

No presente estudo, o crescimento de 13 espécies de *Eucalyptus*, 3 de *Pinus* e *Acacia mangium* foi avaliado em misturas de solos com diferentes proporções de solo contaminado (SC) por metais pesados (extraído por Mehlich-1, em mg dm^{-3} : Zn = 17.937, Cd = 202, Pb = 359, Cu = 1.843 e outros), coletado em área de rejeito na Companhia Mineira de Metais (CMM), no Município de Três Marias – MG. As mudas foram inoculadas simultaneamente com fungo ectomicorrízico (*Pisolithus tinctorius*) e micorrízico arbuscular (MA) (*Glomus etunicatum*), foram transplantadas para vasos contendo 1,4 dm^3 de solo e mantidas em casa de vegetação no DCS – UFLA no período de setembro a dezembro de 1997. As espécies foram crescidas em quatro misturas com as seguintes proporções de SC: 0, 5, 10 e 20% v/v, com 9 repetições, por período de 75 dias para os *Eucalyptus* e *A. mangium* e 120 dias para os *Pinus*. O crescimento das espécies reduziu de forma diferenciada com a elevação da contaminação da mistura de solo. A *A. mangium* foi a única espécie categorizada como tolerante. O *E. torelliana*, *E. citriodora* e *E. grandis* foram consideradas moderadamente tolerantes, as demais espécies de *Eucalyptus* como sensíveis e as de *Pinus* muito sensíveis. O *E. torelliana* e *A. mangium* foram as únicas espécies que apresentaram elevada sobrevivência com menor intensidade de sintomas de fitotoxidez. A colonização ectomicorrízica foi reduzida em todas as espécies nas misturas com altas proporções de SC, sendo que *A. mangium* e *E. grandis*, espécies tolerantes, apresentaram maior colonização na contaminação elevada. A colonização por fungos MA foi baixa independentemente da contaminação, exceto na *A. mangium* no controle, que foi de 32%, cuja colonização também foi reduzida com a elevação da contaminação. A absorção dos metais, especialmente Zn e Cd, aumentou proporcionalmente à elevação da

* Comitê Orientador: Prof. José Oswaldo Siqueira – UFLA (Orientador), Prof^ª Dulcineia de Carvalho - UFLA e Prof^ª Fátima Maria S. Moreira - UFLA

contaminação, atingindo níveis tóxicos nas plantas e relacionando-se com a redução no crescimento. Os teores destes metais atingiram valores de 596 a 1760 mg kg⁻¹ para Zn e de 7,5 a 36,1 mg kg⁻¹ para Cd, na mistura com maior proporção de SC. Todas as espécies apresentaram maior concentração dos metais nas raízes em relação à parte aérea em todas as misturas com SC, especialmente na *A. mangium* e *E. grandis*. Porém isto não foi observado na *E. citriodora*, também tolerante no presente estudo. Já o *E. torelliana* apresentou teores de metais mais baixos, indicando exclusão na absorção destes do solo. O excesso de metais pesados nas misturas de solo causou desbalanço nutricional nas plantas. As espécies mais tolerantes, *A. mangium*, *E. torelliana*, *E. citriodora* e *E. grandis*, são promissoras para a formação de maciços florestais em áreas contaminadas em regiões tropicais, ao contrário das espécies de *Pinus* estudadas, que se mostraram muito sensíveis ao excesso de metais no solo.

ABSTRACT

BEHAVIOR OF *Eucalyptus* spp, *Pinus* spp AND *Acacia mangium* IN SOIL MIXES WITH EXCESS OF HEAVY METALS

GRAZZIOTTI, Paulo Henrique. Behavior of *Eucalyptus* spp, *Pinus* spp and *Acacia mangium* in soil mixes with excess of heavy metals. Lavras, UFLA, 1999. Cap. 3. p.76-151. (Doctoral Thesis in Soil and Plant: Nutrition)*

In the present study growth of 13 species of *Eucalyptus*, 3 of *Pinus* and *Acacia mangium* assessed in mixtures of soil containing different proportion of contaminated soil was assessed. Soil used in this study was collected in waste sites of the (Mehlich-1 extracted, in mg dm⁻³: Zn = 17.937, Cd = 202, Pb = 359, Cu = 1.843 e outros) Companhia Mineira de Metais (CMM) in Três Marias – MG. Outplants were simultaneously inoculate with ectomycorrhizal fungi (*Pisolithus tinctorius*) and with the arbuscular mycorrhizal (AM) fungus *Glomus etunicatum* and were transplanted to pots containing 1.4 dm³ of soil and maintained in a Glasshouse at the Soil Science Department of UFLA from September to December of 1997. All species were transferred to soil mixes containing 0, 5, 10 e 20% of contaminated soil and all treatments had nine replications. *Eucalyptus* and *A. mangium* were allowed to grow for 75 days and

* Comitê Orientador: Prof. José Oswaldo Siqueira – UFLA (Orientador), Prof^ª Dulcinéia de Carvalho - UFLA e Prof^ª Fátima Maria S. Moreira - UFLA

Pinus for 120 days. Plant Growth was reduced in different ways for the different species as contamination in the soil mix increased. *A. mangium* was the only species considered as tolerant. *E. torelliana*, *E. citriodora* e *E. grandis* were considered moderately tolerant and all the others sensitive to contamination. *E. torelliana* and *A. mangium* exhibited high survival rates and low intensity of toxicity symptoms. Ectomycorrhizal colonization was reduced in all species at high contamination, whereas colonization by AM fungi was very low independently to contamination, except for *A. mangium* that exhibited 32% colonization, but inhibited by high contamination. Plant metal uptake, specially Zn and Cd increased proportionally with contamination rates, reaching plant toxic levels and therefore reducing growth. Concentration of these metal reached 596 to 1,260 mg kg⁻¹ for Zn and 7.5 a 36.1 mg kg⁻¹ for Cd at the most contaminated soil mix. Metal concentration were much higher in the root tissue than in the shoots of all species and every mixes, specially in *A. mangium* and *E. grandis*. Nevertheless such effects were not found in *E. citriodora* also considered tolerant in the present study. For *E. torelliana* exhibit low metal concentration, indicating its exclusion in taking up these metals from soil. The excess of heavy metals in the soil mixes resulted in unbalanced nutrition of plants. The most tolerant species *A. mangium*, *E. torelliana*, *E. citriodora* e *E. grandis* are promising species for restoration of contaminated soils in the tropics, in contrast to species of *Pinus* that show high sensitivity to the excess of metals.

1. INTRODUÇÃO

Em áreas próximas a mineração, ao refino de minério e outras atividades industriais, geralmente ocorre a contaminação do solo por metais pesados, como verificado por Ribeiro-Filho et al. (1999) em uma industria de Zn em Minas Gerais. Isto causa danos ao meio ambiente e a degradação de extensas áreas devido ao desaparecimento da vegetação. A ausência de vegetação cobrindo a área contaminada facilita a dispersão de partículas de solo contaminado pela erosão, altera o balanço hídrico do solo e pode aumentar o volume de água que percola através do solo, assim a contaminação pode atingir lençóis freáticos e rios (Vangronsveld et al., 1995). A revegetação dessas áreas é essencial para promover a fixação e estabilização do solo e eliminar a erosão.

Contudo, o estabelecimento de uma nova vegetação é dificultada, mesmo depois de intensivos esforços para promover a estruturação e a fertilidade dos solos, devido à alta fitotoxicidade dos metais pesados (Arduini, Godbold e Onnis, 1994). Por isso, é crescente o interesse na tolerância das plantas aos metais pesados.

A colonização e sobrevivência de gramíneas e arbustos em solos contaminados por metais ocorre pela seleção de genótipos com características de resistência herdáveis que ocorrem naturalmente em algumas espécies ou populações (Baker, 1987; Macnair, 1993). Ainda que espécies de gramíneas e arbustos sejam as mais comuns crescendo em áreas contaminadas, algumas espécies arbóreas são também encontradas nessas áreas (Freedman e Huthcinson, 1980). As espécies arbóreas de crescimento rápido, como *Betula* spp (Denny e Wilkins, 1987), *Salix* spp (Kahle, 1993) e *Acer pseudoplatanus* (Turner e Dickinson, 1993a), são capazes de colonizar solos contaminados por metais pesados, contudo a sobrevivência e estabelecimento das espécies arbóreas nos ambientes contaminados por metais pesados são pouco entendidos (Dickinson, Lepp e Turner, 1991; Ernst, Verkleij e Schat, 1992). Espécies arbóreas podem sobreviver nestes solos mesmo com crescimento reduzido, mas existem poucas evidências da herdabilidade da tolerância nas mesmas (Borgegård e Rydin, 1989; Tuner e Dickinson, 1993a e b). As árvores, por produzirem maior biomassa e acumularem maior quantidade de metais que permanecem imobilizados por mais tempo, são de interesse em programas de revegetação de áreas contaminadas por metais pesados.

As associações micorrízicas são importantes na sobrevivência de plantas em áreas contaminadas por influenciarem a absorção dos metais pelas raízes (Wilkinson e Dickinson, 1995), tornando-se de grande importância na revegetação de solos contaminados por metais pesados. A maioria das espécies arbóreas associam-se com uma ou mais espécies de fungos micorrízicos

contaminadas e propiciar ainda algum retorno econômico. No presente trabalho, avaliou-se o comportamento de 13 espécies de *Eucalyptus*, três de *Pinus* e *Acacia mangium* em mistura de solo com excesso de metais pesados.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido em casa de vegetação no Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras – UFLA, no período de janeiro 1997 a dezembro de 1997, em vasos com misturas de solo com diferentes proporções de solo contaminado (SC), representando níveis de contaminação, para onde foram transplantadas mudas de 13 espécies de *Eucalyptus*, três de *Pinus* e *Acacia mangium*.

2.1. Formação das mudas

Estudaram-se 13 espécies de *Eucalyptus*, sendo: *Eucalyptus cloëziana*, *E. maculata*, *E. camaldulensis*, *E. grandis*, *E. pellita*, *E. pilularis*, *E. punctata*, *E. pyrocarpa*, *E. resinifera*, *E. torelliana*, *E. urophylla*, *E. saligna*, *E. citriodora*; três de *Pinus*: *Pinus oocarpa*, *P. elliottii* var. *elliottii*, *P. caribaea* var. *hondurensis* e *Acacia mangium*. As sementes de *Eucalyptus* foram fornecidas pela Companhia CAF Santa Barbara Ltda. - Empresa Belgo Mineira (MG) e as de *Pinus* e *A. mangium* pelo Departamento de Ciências Florestais da UFLA. Antes da germinação, as sementes foram desinfestadas superficialmente com H₂O₂ 30% durante dez minutos, lavadas em água esterilizada, colocadas para germinar em bandeja com areia esterilizada e cobertas com plástico transparente até a germinação. As sementes de *A. mangium* foram também imersas em água aquecida até o ponto de fervura para a quebra da dormência.

Após a germinação, as plântulas foram pulverizadas a cada dois dias com solução nutritiva de Clark (1975), ¼ da força, com o seguinte conteúdo

Onnis (1994) observaram que *P. pinaster* foi ligeiramente mais tolerante a Cu do que *P. pinea*, enquanto este último foi mais tolerante a Cd. Estes resultados demonstram que a tolerância aos metais pesados é espécie dependente.

Tolerância diferencial a metais pesados, entre gêneros de arbóreas tropicais, também tem sido demonstrada (Abouelkhair, 1993; Marques, Moreira e Siqueira, 2000; Soares, 1999). Mudanças de *Eucalyptus camaldulensis* foram mais tolerantes a Cd do que mudas de *Casuarina glauca*, e estas mais tolerantes do que *Cupressus sempervirens* (Abouelkhair, 1993). Entre 20 espécies arbóreas tropicais estudadas, *Myrsine umbellata*, *Cedrella fissilis*, *Tabebuia impetiginosa* e *Copaifera langsdorffi* destacaram-se por terem seu crescimento pouco influenciado em solo contaminado com Zn, Cd, Pb e Cu (Marques, Moreira e Siqueira, 2000). O nível crítico de toxidez de Zn em solução nutritiva foi de 170 μM para *E. maculata* e de 73 μM para *E. urophylla*, indicando maior tolerância da *E. maculata* (Soares, 1999). Espécies arbóreas respondem de maneira distinta aos metais, mesmo entre espécies do mesmo gênero, havendo evidências de relação entre a resposta à contaminação e ao grau de tolerância das espécies. Entretanto, poucos trabalhos avaliaram a tolerância de espécies tropicais aos metais pesados apesar da intensa atividade de mineração e industrialização de metais em áreas tropicais, o que tem provocado uma demanda crescente por tecnologia para a revegetação de áreas contaminadas por metais pesados.

Devido à dificuldade de revegetação de áreas contaminadas por metais pesados, grande número de espécies deve ser estudado quanto à tolerância a esses contaminantes. E como a legislação brasileira permite o reflorestamento com plantas exóticas, espécies como os *Pinus*, consideradas tolerantes em condições de clima temperado, e *Eucalyptus* e *Acacia mangium*, espécies de crescimento rápido, grande distribuição geográfica e plasticidade fenotípica e de valor comercial podem ser apropriadas para a revegetação de áreas

contaminadas e propiciar ainda algum retorno econômico. No presente trabalho, avaliou-se o comportamento de 13 espécies de *Eucalyptus*, três de *Pinus* e *Acacia mangium* em mistura de solo com excesso de metais pesados.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido em casa de vegetação no Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras – UFLA, no período de janeiro 1997 a dezembro de 1997, em vasos com misturas de solo com diferentes proporções de solo contaminado (SC), representando níveis de contaminação, para onde foram transplantadas mudas de 13 espécies de *Eucalyptus*, três de *Pinus* e *Acacia mangium*.

2.1. Formação das mudas

Estudaram-se 13 espécies de *Eucalyptus*, sendo: *Eucalyptus cloëziana*, *E. maculata*, *E. camaldulensis*, *E. grandis*, *E. pellita*, *E. pilularis*, *E. punctata*, *E. pyrocarpa*, *E. resinifera*, *E. torelliana*, *E. urophylla*, *E. saligna*, *E. citriodora*; três de *Pinus*: *Pinus oocarpa*, *P. elliottii* var. *elliottii*, *P. caribaea* var. *hondurensis* e *Acacia mangium*. As sementes de *Eucalyptus* foram fornecidas pela Companhia CAF Santa Barbara Ltda. - Empresa Belgo Mineira (MG) e as de *Pinus* e *A. mangium* pelo Departamento de Ciências Florestais da UFLA. Antes da germinação, as sementes foram desinfestadas superficialmente com H₂O₂ 30% durante dez minutos, lavadas em água esterilizada, colocadas para germinar em bandeja com areia esterilizada e cobertas com plástico transparente até a germinação. As sementes de *A. mangium* foram também imersas em água aquecida até o ponto de fervura para a quebra da dormência.

Após a germinação, as plântulas foram pulverizadas a cada dois dias com solução nutritiva de Clark (1975), ¼ da força, com o seguinte conteúdo

normal (mM): 2,53 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 1,3 KNO_3 ; 0,5 KCl ; 0,9 NH_4NO_3 ; 0,5 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 1,5 $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$; 0,007 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 0,019 H_3BO_3 ; 0,002 ZnSO_4 ; $8,6 \cdot 10^{-5}$ $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; $3,0 \cdot 10^{-4}$ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 0,004 Na_2EDTA e 0,004 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Quando as plântulas atingiram uma altura entre 2 e 4 cm, foram repicadas para bandejas de polietileno com capacidade para 96 tubetes de 50 cm^3 , 1 planta por tubete, sendo utilizado uma bandeja por espécie, quantidade esta suficiente para permitir seleção posterior das mudas. O substrato utilizado para o crescimento das mudas foi uma mistura contendo 15% de areia lavada e 85% de uma amostra de Latossolo Vermelho-Escuro, e adicionada de 5% de composto orgânico, previamente fumigada com Bromex (Brometo de metila 98% + Cloropicrina 2%) na dosagem de $393 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-3}$ de solo. As análises físicas e químicas do substrato encontram-se na Tabela 1.

As sementes de *A. mangium* foram inoculadas cinco dias após a semeadura com a estirpe de rizóbio BR 3617, conforme recomendação da Embrapa – Agrobiologia e obtida da coleção do Laboratório de Microbiologia do Solo, do Departamento de Ciência do Solo da UFLA. O inóculo foi composto por uma suspensão da bactéria (10^9 células mL^{-1}), obtido pelo crescimento desta em meio líquido YM (Yeast Manitol com a seguinte composição, em g L^{-1} : Manitol = 10 ; K_2SO_4 = 0,5; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ = 0,2; NaCl = 0,1 e extrato de levedura = 5 g) sob agitação constante (240 rpm) a 25°C , por sete dias. Esta inoculação foi repetida no momento da transferência das plântulas para os tubetes pela aplicação de 0,5 ml de cultura junto as raízes de cada plântula.

As espécies de *Eucalyptus* e *A. mangium* foram inoculadas com o fungo micorrízico arbuscular *Glomus etunicatum* Becker e Gerdemann, original de agrossistema de cafeeiro da região de Lavras – MG e mantido na coleção do Departamento de Ciência do Solo da UFLA. O inóculo (solo-inóculo) foi obtido em vasos de cultivo com *Brachiaria decumbens* Stapf do Departamento de Ciência do Solo – UFLA, sendo este misturado ao substrato de crescimento das

Tabela 1. Características químicas e físicas do substrato de produção das mudas, solo contaminado (CMM) e as misturas de solo estudadas

| Características | Substrato | | Solo diluente (0%) | Proporção de solo contaminado na mistura (%) | | |
|---|-----------|--------|--------------------|--|------|------|
| | (Mudas) | CMM | | 5 | 10 | 20 |
| PH em água ⁽¹⁾ | 6,4 | 6,1 | 5,7 | 5,7 | 5,8 | 5,9 |
| P, mg dm ⁻³ (²) | 16 | 32 | 8 | 10 | 11 | 13 |
| K, mg dm ⁻³ (³) | 128 | 75 | 34 | 33 | 33 | 39 |
| Ca, mmol _c dm ⁻³ (⁴) | 28 | 32 | 32 | 31 | 30 | 35 |
| Mg, mmol _c dm ⁻³ (⁴) | 16 | 05 | 08 | 11 | 12 | 10 |
| H+Al, mmol _c dm ⁻³ (⁵) | 19 | 21 | 26 | 26 | 26 | 26 |
| Matéria orgânica, g kg ⁻¹ (⁶) | 2,6 | 2,0 | 2,2 | 2,2 | 2,2 | 2,2 |
| V, % | 71 | 63 | 54 | 55 | 55 | 51 |
| Areia, % | 34 | — | 45 | 45 | 45 | 45 |
| Limo, % | 30 | — | 26 | 28 | 31 | 33 |
| Argila, % | 36 | — | 29 | 27 | 24 | 22 |
| Zn, mg dm ⁻³ (⁷) | — | 17.937 | 19 | 832 | 1907 | 2533 |
| Cd, mg dm ⁻³ (⁷) | — | 202 | 1 | 8 | 16 | 34 |
| Pb, mg dm ⁻³ (⁷) | — | 359 | 9 | 29 | 47 | 70 |
| Cu, mg dm ⁻³ (⁷) | — | 1.843 | 23 | 118 | 224 | 394 |

⁽¹⁾Água (1:2,5)/potenciometria. ⁽²⁾Mehlich-1/colorimetria (Vettori, 1969). ⁽³⁾Mehlich-1/fotometria de chama (Vettori, 1969). ⁽⁴⁾KCl mol L⁻¹/titulometria. ⁽⁵⁾CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ (1:2,5) + SMP/potenciometria. ⁽⁶⁾Oxidação com dicromato de potássio. ⁽⁷⁾Mehlich-1/espectrofotometria de absorção atômica.

mudas no momento do plantio, de maneira a atingir uma densidade média final de um esporo por cm³ do substrato, além de outras formas de propágulos como hifas e raízes colonizadas. Para propiciar a associação das espécies com fungos ectomicorrízicos, todas as espécies foram inoculadas simultaneamente com uma mistura de isolados de *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker e Couch, como indicado na Tabela 2. Os isolados de *Pisolithus* foram aqui referidos como *Pisolithus tinctorius* (Pt-), apesar de trabalhos recentes de caracterização genética, como o de Gomes et al. (1999), propuseram que nem todos os isolados aqui estudados são *P. tinctorius*. O inóculo foi obtido a partir de culturas

estoques mantidas em placas de Petri com 20 ml de meio MNM sólido (Marx, 1969), com pH de 5,5. Após 20 dias de crescimento a 28°C, discos de 5 mm de diâmetro, retirados das bordas das colônias, foram transferidos para outras placas contendo 10 ml do mesmo meio, e estas incubadas por 3 dias em câmara de crescimento a 28°C para um pré-crescimento. Ao final deste período, um disco pré-crescido de cada isolado foi inoculado junto às raízes de cada plântula no momento do plantio nos tubetes.

Tabela 2. Isolados de *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker e Couch empregados no estudo

| Isolado | Origem | Fornecido | Usado para inocular |
|--------------------|----------------------------|---|------------------------------|
| Pt-H6 | - | Université Laval – Quebec – Canadá | <i>Eucalyptus/A. mangium</i> |
| Pt-H15 | - | Université Laval – Quebec – Canadá | <i>Eucalyptus/A. mangium</i> |
| Pt-RV82 | <i>Eucalyptus</i> / Brasil | Dep ¹⁰ de Microbiologia – UFV | <i>Eucalyptus/A. mangium</i> |
| Pt-90 ^A | <i>Eucalyptus</i> / Brasil | Dep ¹⁰ de Microbiologia – UFV | <i>Eucalyptus/A. mangium</i> |
| Pt-441 | <i>Eucalyptus</i> / Brasil | Dep ¹⁰ de Ciências Florestais – UFLA | <i>Eucalyptus/A. mangium</i> |
| Pt-185 | <i>Pinus</i> /USA-Marx | Dep ¹⁰ de Microbiologia – UFV | <i>Eucalyptus/A. mangium</i> |
| Pt-270 | <i>Pinus</i> /USA-Marx | Dep ¹⁰ de Microbiologia – UFV | <i>Pinus</i> |
| Pt-303 | <i>Pinus</i> /USA-Marx | Dep ¹⁰ de Microbiologia – UFV | <i>Pinus</i> |
| Pt-306 | <i>Pinus</i> /USA-Marx | Dep ¹⁰ de Microbiologia – UFV | <i>Pinus</i> |

* UFV = Universidade Federal de Viçosa; ESALQ = Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz; Dep¹⁰ = Departamento.

As mudas permaneceram por sete meses nas bandejas, onde receberam a seguinte adubação: a partir do 15º dia 0,5 L por bandeja por semana da solução nutritiva de Clark (1975) ¼ da força, sem P para evitar a inibição da colonização micorrízica. A partir do 90º dia a adubação passou a conter P e a partir de 130 dias as adubações com esta solução passaram a ser 2 vezes por semana.

2.2. Os níveis de contaminação e o preparo dos solos

Os níveis de contaminação foram obtidos pela mistura em diferentes proporções (0, 5, 10, 20%, v/v) de um solo contaminado por metais pesados, coletado em área de rejeito da Companhia Mineira de Metais (CMM), no município de Três Marias – MG, com um Latossolo Vermelho-Escuro (LE) não contaminado, coletado na camada superficial (0-20 cm), no município de São Sebastião da Vitória – MG. Os solos foram secos ao ar e passados em peneira de malha de 4 mm. Visando diminuir diferenças químicas nas misturas, procedeu-se, no LE, a correção da acidez com calcário dolomítico, de modo a elevar o índice de saturação de bases para 60%, sendo este incubado por 15 dias com o teor de umidade em torno de 70% do volume total dos poros (VTP). Passado este período, adicionaram-se ao LE 100 mg de P por kg de solo (superfosfato simples) e, em seguida, prepararam-se as misturas de solo que, após completamente homogeneizadas, foram colocadas em vasos de PVC com capacidade para 1,4 dm³. Amostras foram retiradas de cada mistura de solo para as análises físicas e química (Tabela 1).

Os teores de metais (extraídos por Mehlich-1) nos solos e misturas, assim como outras características químicas e físicas, encontram-se na Tabela 1. Os teores de metais aumentaram proporcionalmente com a elevação da proporção de solo contaminado (x), conforme equações a seguir: Zn=44,0+235,1x-5,3x² (r²=0,99); Cd=0,8+1,7x (r²=0,99); Pb=12,4+3,0x (r²=0,98) e Cu=27,0+18,6x (r²=0,99).

2.3. O experimento: condução e avaliação

O experimento constou de 13 espécies de *Eucalyptus*, 3 espécies de *Pinus* e a *A. mangium*, todas estudadas em quatro misturas de solo contendo diferentes proporções de SC (0, 5, 10 e 20% v/v), com 9 repetições.

Após sete meses as mudas foram agrupadas por tamanho e selecionadas 36 de cada espécie, as quais foram transplantadas uma planta por vaso em blocos experimentais; nesse momento, mediu-se a altura e diâmetro do caule das mudas (Tabela 3). Coletou-se também uma amostra de 5 plantas de cada espécie para avaliação da colonização micorrízica (Tabela 3) e nodulação para a *A. mangium*, que foi, em média, de 136 nódulos e 79,1 mg de matéria seca de nódulo por muda.

Tabela 3. Altura, diâmetro de caule, percentagem de segmentos radiculares colonizados das mudas no momento do plantio nos vasos

| Espécie | Crescimento | | Micorrizas | |
|---|----------------|----------------|---------------|------|
| | Altura | Diâmetro | ECTO | MA |
| | ----- cm ----- | ----- mm ----- | ----- % ----- | |
| <i>E. cloëziana</i> | 14,3 ±1,4 | 2,3 ±0,4 | 12,4 | 15,2 |
| <i>E. maculata</i> | 9,7 ±0,8 | 1,5 ±0,3 | 5,2 | 32,8 |
| <i>E. camaldulensis</i> | 19,8 ±1,8 | 2,2 ±0,5 | 12,4 | 31,0 |
| <i>E. grandis</i> | 14,8 ±1,5 | 2,0 ±0,2 | 1,6 | 26,9 |
| <i>E. pellita</i> | 19,3 ±1,5 | 2,5 ±0,3 | 4,8 | 33,4 |
| <i>E. pilularis</i> | 16,3 ±1,4 | 2,3 ±0,2 | 25,9 | 20,2 |
| <i>E. punctata</i> | 16,4 ±2,0 | 2,7 ±0,6 | 1,6 | 24,0 |
| <i>E. pyrocarpa</i> | 13,6 ±1,1 | 2,0 ±0,4 | 12,8 | 13,5 |
| <i>E. resinifera</i> | 15,7 ±1,0 | 1,9 ±0,3 | 10,3 | 36,0 |
| <i>E. torelliana</i> | 16,4 ±1,1 | 2,5 ±0,2 | 7,4 | 34,8 |
| <i>E. urophylla</i> | 17,6 ±1,9 | 2,5 ±0,3 | 10,4 | 26,8 |
| <i>E. saligna</i> | 17,7 ±2,0 | 1,8 ±0,4 | 8,2 | 18,0 |
| <i>E. citriodora</i> | 15,2 ±1,3 | 1,9 ±0,4 | 24,8 | 27,2 |
| <i>A. mangium</i> | 17,2 ±2,3 | 2,2 ±0,5 | 3,6 | 21,0 |
| <hr style="border-top: 1px dashed black;"/> | | | | |
| <i>P. oocarpa</i> | 13,5 ±0,9 | 2,4 ±0,5 | 60,6 | --- |
| <i>P. elliotii</i> | 13,4 ±0,6 | 2,4 ±0,3 | 25,4 | --- |
| <i>P. caribaea</i> | 15,9 ±0,7 | 2,4 ±0,5 | 54,8 | --- |

Os *Eucalyptus* e a acácia foram crescidos por 75 dias, já o *Pinus*, devido seu crescimento mais lento, por 120 dias, e por isso analisados separadamente. O solo foi mantido úmido pela adição de água deionizada diariamente e pesagem dos vasos a cada 15 dias para equilibrar a umidade próxima a 50% da VTP. No plantio as mudas foram adubadas com solução de NH_4NO_3 de modo a fornecer 25 mg dm^{-3} de nitrogênio por vaso e, aos 30 dias, com solução $\frac{1}{2}$ força proposta por Brundrett et al. (1996) para produção de mudas de *Eucalyptus* colonizadas por fungos micorrízicos, com a seguinte composição normal (μM): $1.350 \text{ NH}_4\text{NO}_3$; 800 KNO_3 ; $250 \text{ Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; $0,5 \text{ MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; $40 \text{ KH}_2\text{PO}_4$; 10 NaFeEDTA ; $10 \text{ H}_3\text{BO}_3$; $2 \text{ Na}_2\text{ZnEDTA}$; $2 \text{ MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; $1 \text{ CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; $0,1 (\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$.

Aos 45 dias e ao final do experimento foram avaliados os sintomas de fitotoxidez pela atribuição de notas, conforme Tabela 4. Ao final do experimento as plantas foram colhidas cortando-se a parte aérea (PA) rente ao solo, a qual foi lavada com água deionizada. As raízes foram lavadas em água corrente até a completa remoção do solo. Em seguida, nas raízes de *A. mangium*, os nódulos foram destacados, contados e pesados após secagem em estufa com circulação de ar a $60\text{-}70^\circ\text{C}$ por 72 h. Para avaliação da colonização micorrízica coletaram-se amostras de raízes finas, nos terços superior, intermediário e inferior do sistema radicular, de modo a se obter uma amostra composta por segmento de 1-2 cm de comprimento. Essas amostras foram preservadas em formalina-álcool-ácido acético (FAA) até a avaliação da colonização micorrízica. A percentagem dos segmentos de raízes colonizadas pelos fungos micorrízicos foi determinada pela técnica de contagem em placa reticulada (Giovanetti e Mosse, 1980). Nos *Eucalyptus* e na *A. mangium*, as raízes foram previamente despigmentadas e coloridas (Phillips e Hayman, 1970). A PA e o restante das raízes foram secas, em estufa com circulação de ar a $60 - 70^\circ\text{C}$, por 72 horas, e após pesadas foram moídas para a digestão nitro-perclórica e obtenção dos extratos para

determinação dos teores de P pelo método colorimétrico, K por fotometria de chama, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Cd, Pb e Cu por espectrofotometria de absorção atômica.

Os dados de colonização micorrízica foram transformados por Arcoseno $((x/100)^{0.5}) \cdot 180/\pi$ porque não seguiram distribuição normal ou por apresentarem valores inferiores a 30% ou superiores a 70%. Em seguida, todos os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o programa estatístico SAEG (Universidade Federal de Viçosa, S d) e as regressões ajustadas pelo programa TableCurve 3.01 (Jandel Corporation), e o valor de F foi corrigido mediante o programa F Calc32 versão 1.1. As equações de regressão encontram-se no Anexo. Para a determinação da proporção de solo contaminado necessária para redução da matéria seca em 50% (PI_{50%}) e o teor de metal na PA na PI_{50%} (TI_{50%}), utilizaram-se as equações de regressão de melhor ajuste para a produção de matéria seca da PA e teor de metal na PA, respectivamente.

Tabela 4. Notas de toxidez atribuídas e os respectivos sintomas observados nas folhas de *Eucalyptus* spp e *Acacia mangium* e nas acículas de *Pinus* spp

| Notas | Sintomas | |
|-------|--|----------------------|
| | Foliar | Nas acículas |
| 1 | Ausência | Ausência |
| 2 | Clorose interveinal e, ou generalizada | Clorose |
| 3 | Pontos e, ou nervuras roxas e, ou 2 | Pontos roxos e, ou 2 |
| 4 | Manchas roxas e, ou 3 | Necrose e, ou 3 |
| 5 | Encarquilhamento e, ou 4 | Morte da planta |
| 6 | Necrose e, ou 5 | ----- |
| 7 | Morte da planta | ----- |

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Sintomas de fitotoxidez e sobrevivência

Os sintomas de fitotoxidez diferiram inter e intra espécies quanto à intensidade e forma, e foram mais acentuados nas misturas de solo com maior grau de contaminação por metais pesados. Nas espécies de *Eucalyptus*, os principais sintomas de fitotoxidez observados na parte aérea (PA) foram redução do crescimento; clorose internerval e generalizada; pontos, nervuras e manchas roxas; encarquilhamento; necrose e morte das plantas (Figuras 1 a 7). Na *A. mangium* e *E. torelliana* somente cloroses foram observadas (Figuras 6 e 7). Nos *Pinus* os principais sintomas observados foram redução do crescimento, clorose, pontos roxos, necrose e morte das plantas (Figura 8). Sintomas de fitotoxicidade dos metais semelhantes foram relatados para *Eucalyptus* (Soares, 1999) e *Pinus* (Heale e Ormorod, 1982). Os principais sintomas de fitotoxidez observados por Heale e Ormorod (1982) em *Pinus resinosa*, causados pela adição de Ni e, ou Cu em solução nutritivas, foram também clorose e necrose das acículas, seguidos de morte das plantas. Heale e Ormorod (1982) e Soares (1999) também observaram diferenças inter e intra específicas quanto aos sintomas de fitotoxidez a metais pesados, e que essas diferenças são dependentes do metal contaminante. Por exemplo, a adição de Zn na solução nutritiva provocou manchas roxas e clorose internerval nas folhas de *E. urophylla*, enquanto em *E. maculata* foi observado clorose internerval em folhas mais jovens e morte de folhas mais velhas, com manutenção da coloração esverdeada, porém com aspecto coriáceo (Soares, 1999). Já para a fitotoxidez causada por Cu, o autor observou principalmente clorose internerval nas folhas mais novas para o *E. maculata* e manchas aquosas, que se tornaram necróticas, e morte de gemas apicais para o *E. urophylla*.

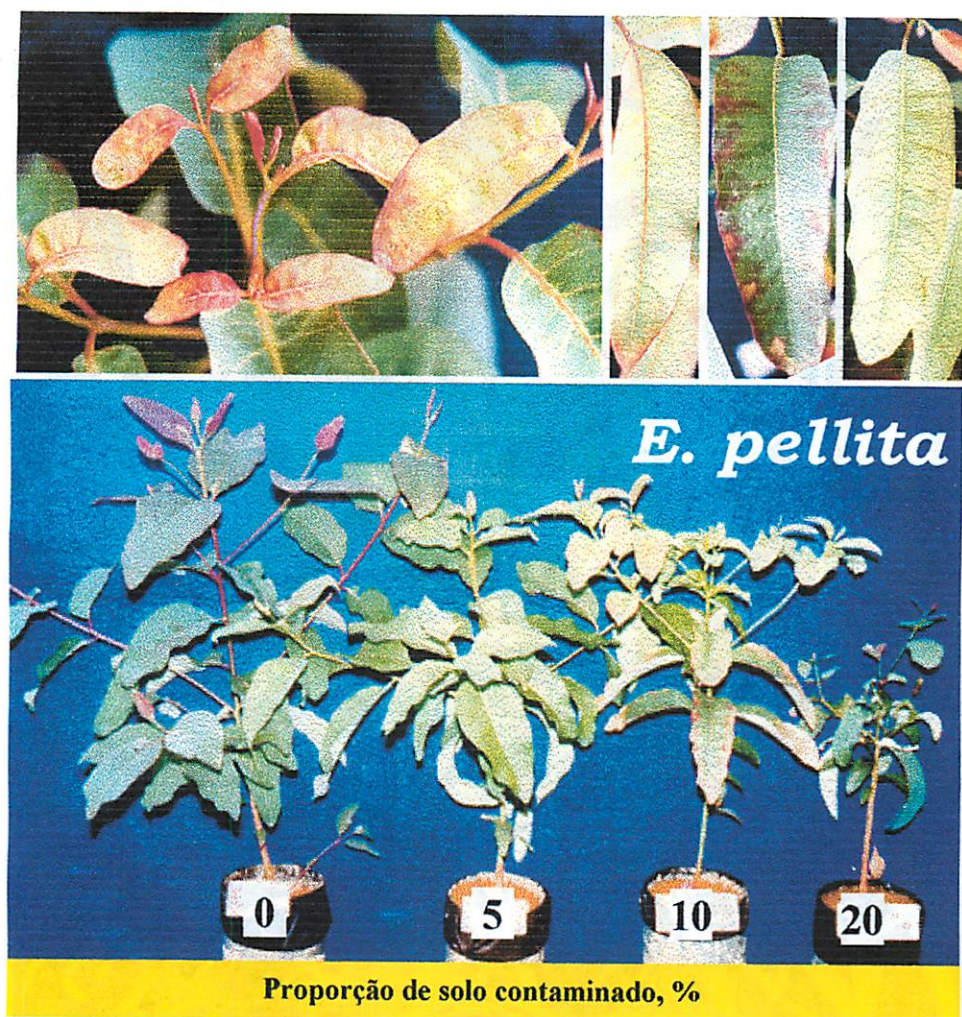


Figura 1. Redução do crescimento e sintomas de toxidez em *Eucalyptus pellita* aos 75 dias em misturas com proporções crescentes de solo contaminado por metais pesados. Os detalhes no alto mostram a clorose, encharquilhamento, manchas e nervuras roxas, e necrose causadas pela toxidez dos metais.

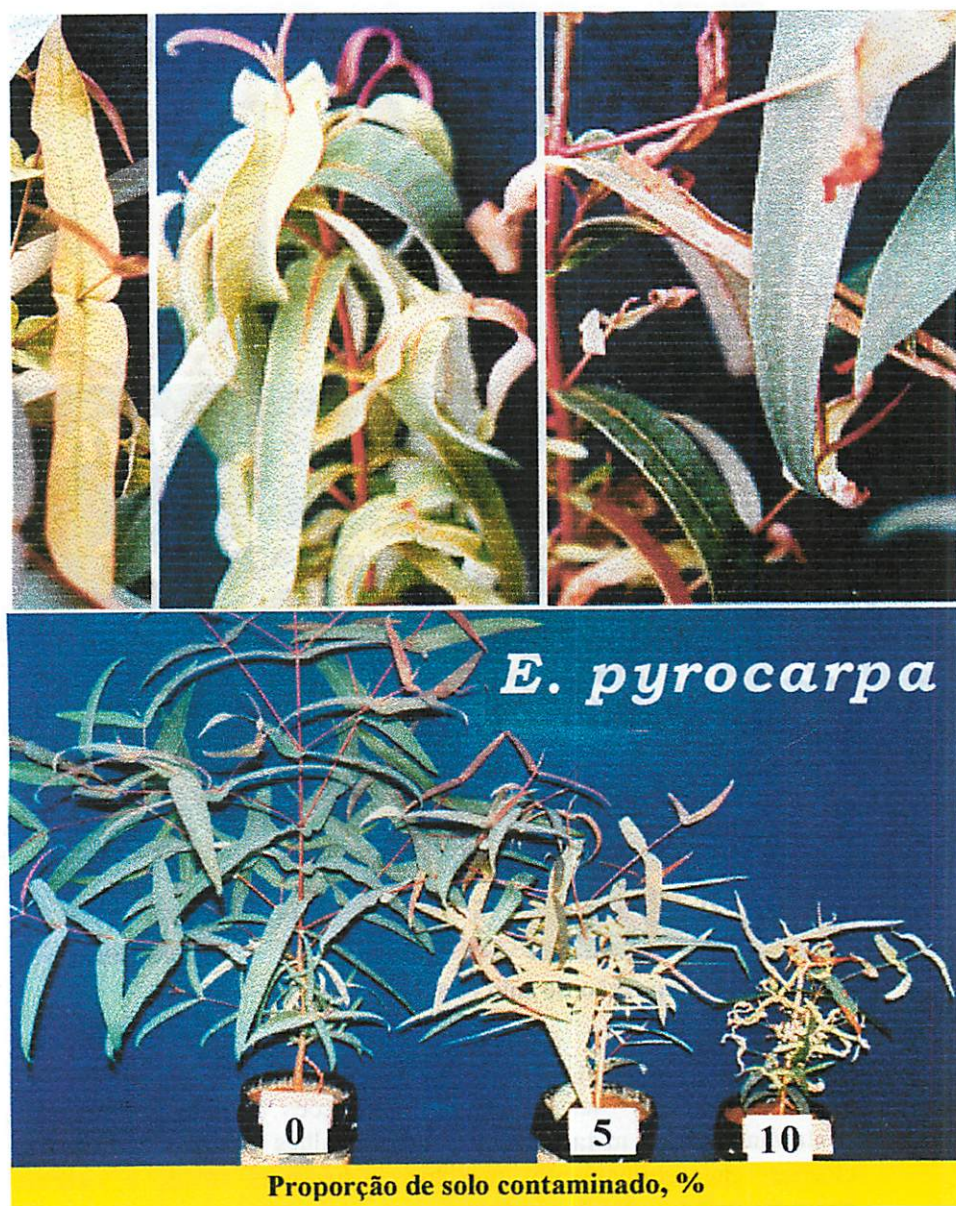


Figura 2. Redução do crescimento e sintomas de toxidez em *Eucalyptus pyrocarpa* aos 75 dias em mistura com proporções crescentes de solo contaminado por metais pesados. Os detalhes no alto mostram a clorose, o encarquilhamento e necrose causados pela toxidez dos metais. No tratamento com 20% de solo contaminado, a maioria das plantas encontrava-se morta.



Figura 3. Redução do crescimento e sintomas de toxidez em *Eucalyptus cloëziana* aos 75 dias em misturas com proporções crescentes de solo contaminado por metais pesados. O detalhe no alto mostra os pontos, manchas e nervuras roxas causados pela toxidez dos metais. No tratamento com 20% de solo contaminado, a maioria das plantas encontrava-se morta.



Figura 4. Redução do crescimento e sintomas de toxidez em *Eucalyptus pilularis* aos 75 dias em misturas com proporções crescentes de solo contaminado por metais pesados. O detalhe à direita e no alto mostra a clorose e as nervuras roxas causadas pela toxidez dos metais. No tratamento com 20% de solo contaminado, todas as plantas encontravam-se mortas.

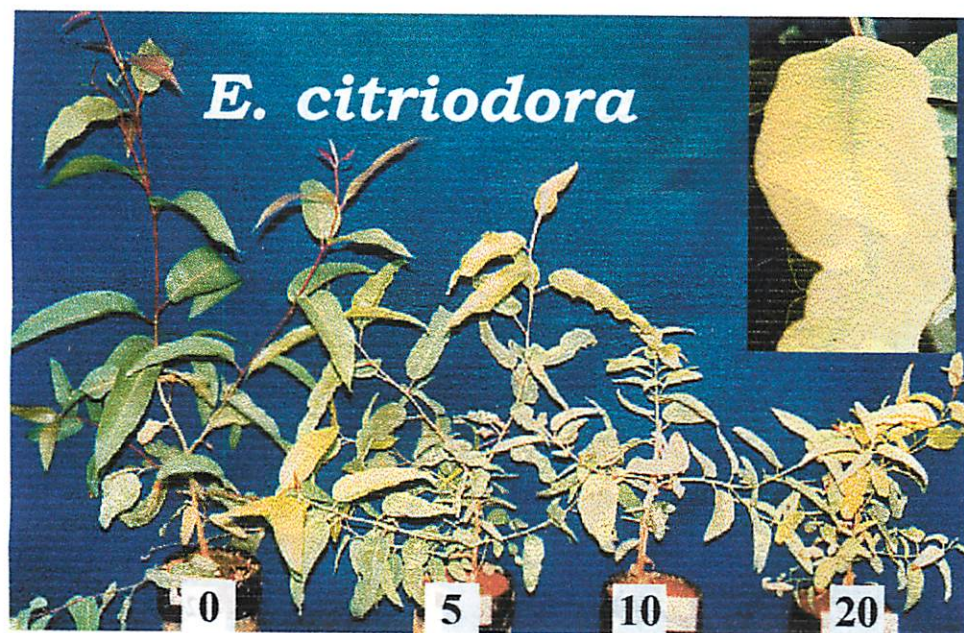


Figura 5. Redução do crescimento e sintomas de toxidez em *Eucalyptus citriodora* aos 75 dias em misturas com proporções crescentes de solo contaminado por metais pesados. O detalhe à direita e no alto mostra a clorose causada pela toxidez dos metais.

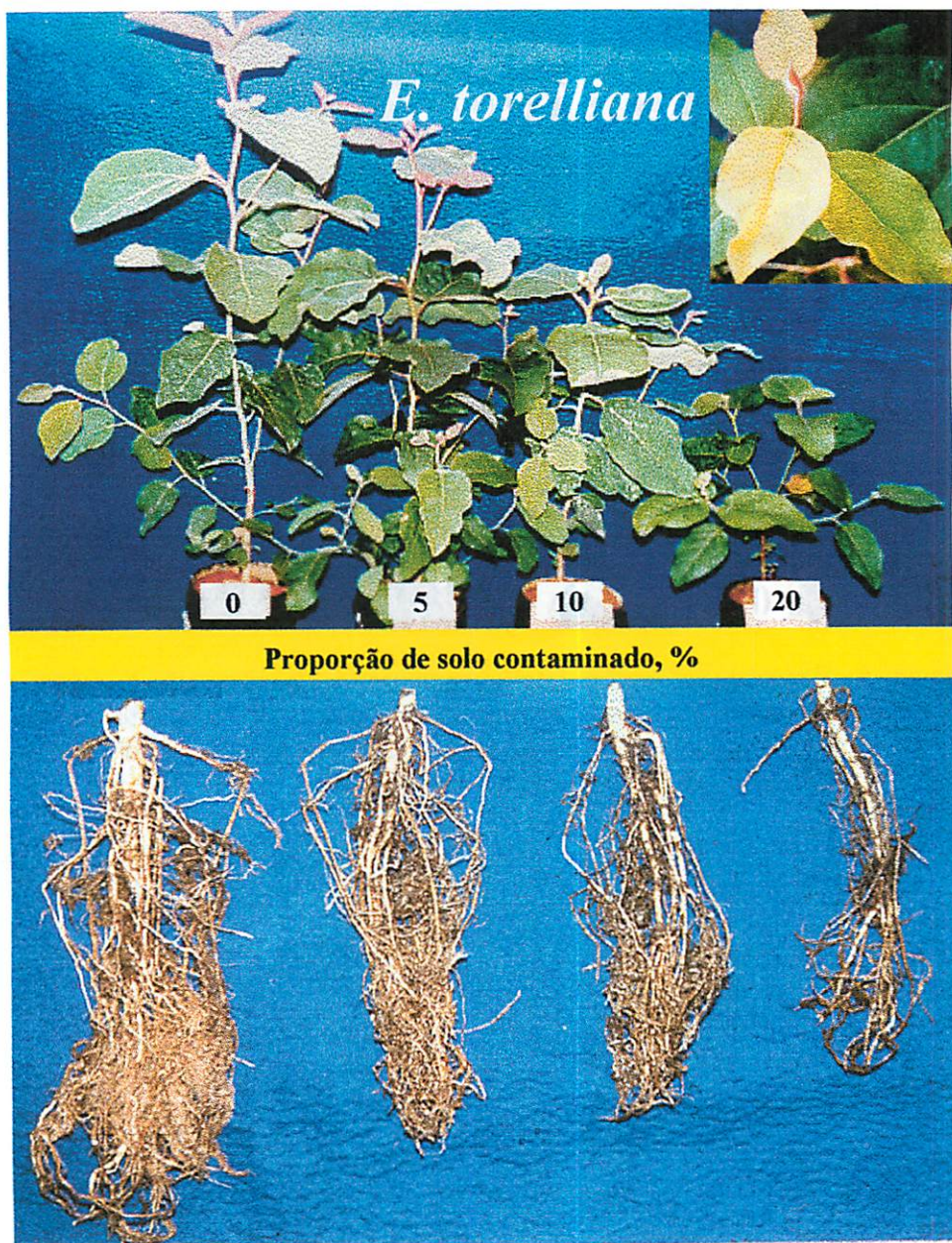


Figura 6. Redução do crescimento e sintomas de toxidez na parte aérea e raízes de *Eucalyptus torelliana* aos 75 dias em misturas com proporções crescentes de solo contaminado por metais pesados. O detalhe à direita e no alto mostra a clorose causada pela toxidez dos metais.

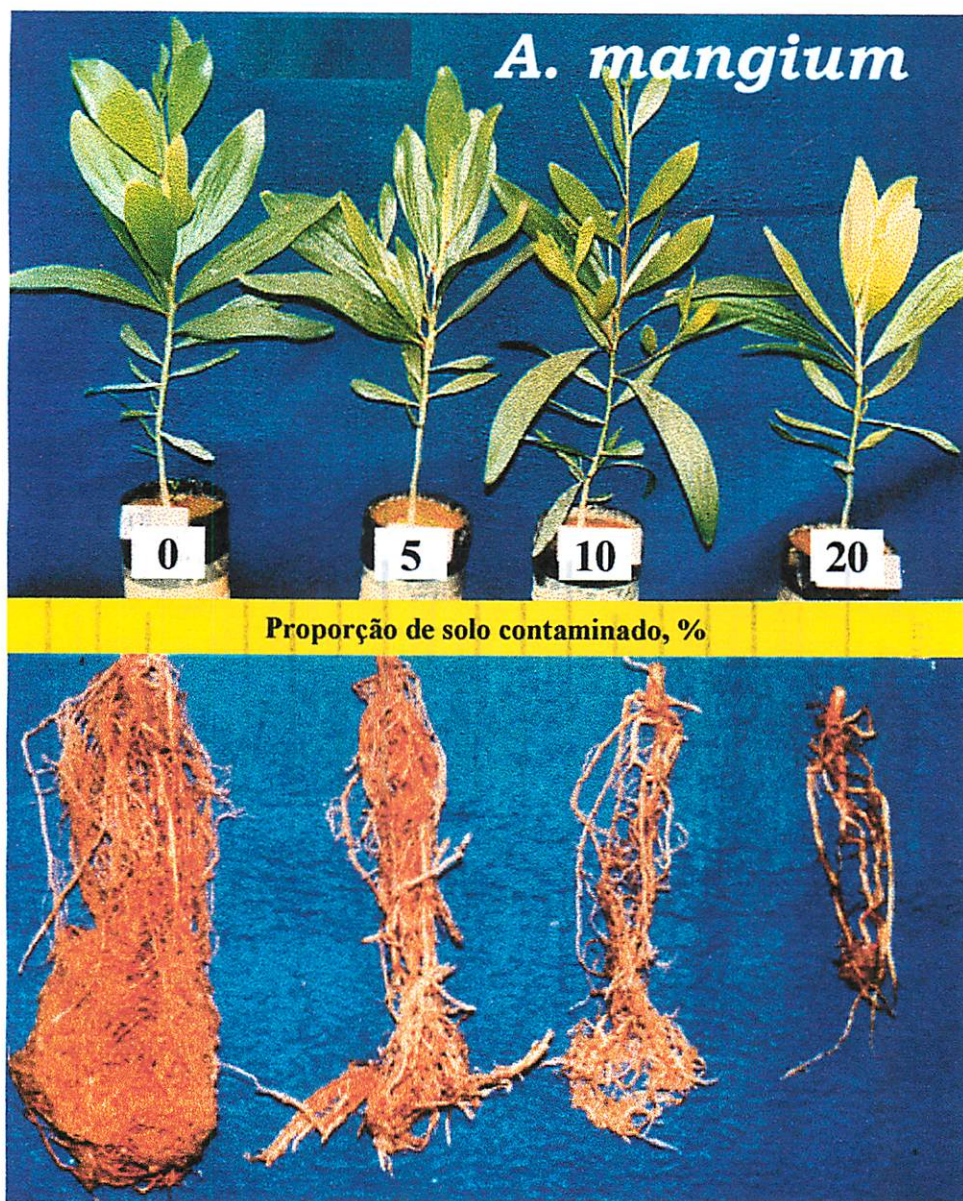
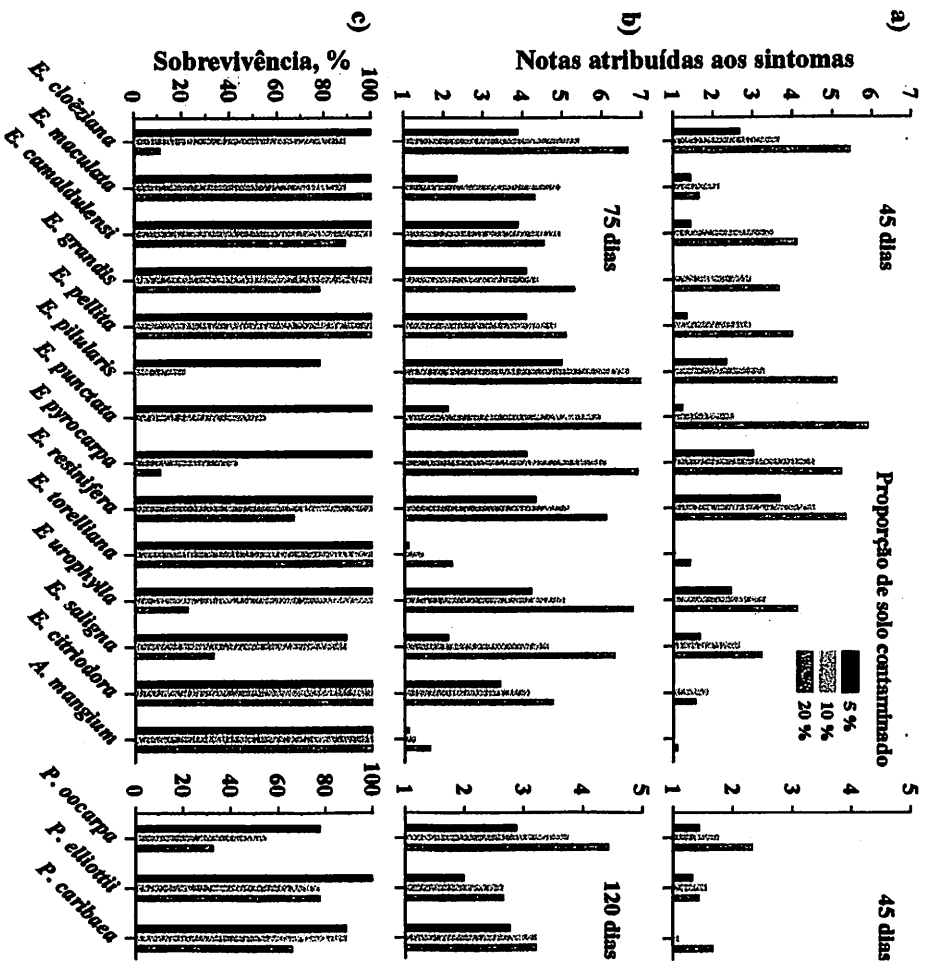
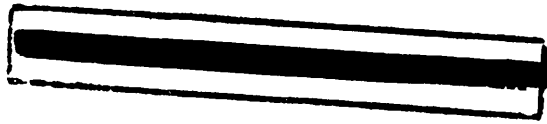


Figura 7. Redução do crescimento e sintomas de toxidez na parte aérea e raízes de *Acacia mangium* aos 75 dias em misturas com proporções crescentes de solo contaminado por metais pesados.





A intensidade dos sintomas foi, em geral, crescentes com o aumento da contaminação da mistura de solo e com o tempo de exposição das plantas à contaminação (Figura 1 a 8), indicando o agravamento da fitotoxidez causada pelo aumento da contaminação e corroborando a elevação dos teores dos metais no solo (Tabela 1). O agravamento dos sintomas com o tempo de exposição à contaminação pode ser devido ao maior acúmulo dos metais com a absorção contínua, atingindo teores tóxicos nas plantas e causando aumento dos efeitos fitotóxicos dos metais e distúrbios fisiológicos na planta. Nos *Eucalyptus*, aos 45 dias, a maioria das espécies já apresentava algum sintoma na mistura com 5% de solo contaminado (SC), exceto *E. grandis* e *E. torelliana*, como também a *A. mangium* (Figura 8a), sendo estas, mais a *E. maculata*, as que receberam as menores notas nas misturas com 10 e 20% de SC aos 45 dias. As espécies que se apresentaram mais sensíveis na mistura com 20% de SC neste período foram *E. cloëziana*, *E. pilularis*, *E. punctata*, *E. pyrocarpa* e *E. resinifera*, com notas superiores a cinco, o que indica cloroses, pontos, nervuras e manchas roxas e encarquilhamento. Ao final dos experimentos, em todas as espécies e misturas a intensidade de sintomas foi maior do que o observado aos 45 dias (Figura 8), demonstrando que os sintomas de fitotoxicidade dos metais pesados em plantas é produto, além da concentração dos metais no substrato de crescimento, do tempo de exposição à contaminação. Por exemplo, a intensidade de sintomas nas espécies que se demonstraram mais sensíveis aos 45 dias, com notas superiores a 5 na mistura com maior contaminação, avançou no *E. cloëziana*, *E. pilularis*, *E. punctata* e *E. pyrocarpa* para notas próximas ou iguais a 7 (Figura 8).

Somente *E. torelliana* e *A. mangium* receberam notas próximas ou inferiores a 2 em quaisquer das misturas com SC ao final do experimento, o que corresponde a sintomas de apenas cloroses (Figuras 6 e 7). Enquanto *E. grandis* e *E. maculata*, espécies com poucos sintomas até aos 45 dias, tiveram os sintomas muito agravados os 75 dias e passaram a apresentar um

comportamento intermediário quanto à sensibilidade aos metais. Estas espécies, juntamente com o restante, principalmente nas misturas com 10 e 20% de SC, receberam notas entre 4 e 7 (Figura 8b). Esses resultados apontam o *E. torelliana* e a *A. mangium* como as menos sensíveis à contaminação do solo por vários metais pesados, enquanto os resultados de sintomas aos 45 dias apontam o *E. cloëziana*, *E. pilularis*, *E. punctata*, *E. pyrocarpa* e o *E. resinifera* como as espécies mais sensíveis. Nos *Pinus*, aos 45 dias, somente o *P. caribaea* não apresentava sintomas na mistura com 5% de SC, enquanto, para as demais misturas, as notas para as três espécies foram próximas ou inferiores a dois, indicando a presença de somente cloroses, com uma sensibilidade ligeira maior para o *P. oocarpa* (Figura 8a). Já aos 120 dias, a intensidade de sintomas aumentou para as três espécies, sendo o *P. oocarpa* aquele que apresentava maior intensidade de sintomas de fitotoxicidade em todos os tratamentos com SC. Nos *Pinus*, o agravamento dos sintomas foi mais demorado do que o observado nos *Eucalyptus* e *A. mangium*, fato devido a ser este gênero de crescimento mais lento. A intensidade dos sintomas decresceu entre as espécies na seguinte ordem: *P. oocarpa* > *P. caribaea* > *P. elliottii* (Figura 8b). Os sintomas de fitotoxidez em *Pinus* indicam uma maior sensibilidade das espécies estudadas, pelo menos, em relação o *E. torelliana* e *A. mangium*, que se apresentaram menos sensíveis.

Nas espécies que apresentaram intensidade de fitotoxidez intermediária, em geral, vários tipos de sintomas ocorreram simultaneamente. Por exemplo, em *E. pellita* (Figura 1), foram observados sintomas típicos, como encarquilhamento das folhas, cloroses, nervuras, manchas e pontos roxos seguidos de necrose. Já nas espécies mais sensíveis como *E. pyrocarpa*, *E. cloëziana* e *E. pilularis*, em geral, após uma clorose generalizada, os sintomas de fitotoxicidade avançaram para necrose das folhas, levando à morte das plantas (Figuras 2, 3 e 4). Para *E. torelliana* e *A. mangium*, espécies menos sensíveis à

contaminação, apesar de também apresentarem redução no crescimento, só apresentaram cloroses no período de duração do trabalho.

Em geral, observaram-se redução de raízes secundárias e o engrossamento e escurecimento das raízes, como exemplificado para *A. mangium* (Figura 7). No *E. torelliana*, o engrossamento das raízes não foi característico, pois as raízes desta espécie são naturalmente mais grossas (Figura 6). Os sintomas aqui relatados são semelhantes aos observados em *Acer rubrum* e *P. resinosa* sob estresse de Ni e Cd (Heale e Ormorod, 1982), em *P. pinea*, *P. pinaster* e *Fraxinus angustifolia* em solução nutritiva adicionada de Cu e Cd (Arduini, 1995) e em *E. maculata* e *E. urophylla* em solução nutritiva adicionada de Zn, Cd, Pb ou Cu (Soares, 1999). Segundo Arduini, Godbold e Onnis (1994), a divisão e alongação celular em raízes de *P. pinaster* e *P. pinea* são reduzidas pelo excesso de Cd e Cu na solução nutritiva. Raízes mais curtas e mais grossas também foram observadas em plântulas de *Fagus sylvatica* e *Acer pseudoplatanus* crescidas na presença de metais pesados, e foram também atribuídas à maior inibição da alongação celular devido à redução da atividade mitótica (Turner e Dickinson, 1993a). Esses sintomas de fitotoxidez observados em raízes com excesso de metais pesados resulta na redução da capacidade da planta em se fixar no substrato e de absorver nutrientes e água (Kahle, 1993; Punz e Sieghardt, 1993).

A maioria das espécies estudadas não apresentou crescimento radicular além do torrão onde foram produzidas quando as mudas foram transplantadas para misturas com 10% de SC, exceto as mudas de *E. camaldulensis*, *E. grandis*, *E. citriodora*, *E. torelliana* e *A. mangium*. Em misturas com 20% de SC, apenas as duas últimas espécies apresentaram crescimento além do torrão, indicando a menor sensibilidade do *E. torelliana* e da *A. mangium* em relação às demais espécies.

A contaminação elevada do solo provocou morte das plantas para a maioria das espécies aos 75 dias (Figura 8c). Aos 45 dias, o *E. cloëziana*, *E. pilularis* e *E. punctata* já apresentavam mortalidade na mistura com 20% de SC, sendo esta de 67% para o *E. punctata*. Isto demonstra o alto grau de sensibilidade dessas espécies, fato também observado nos sintomas. Ao final do experimento, com o agravamento dos sintomas provocado pelo tempo de exposição das plantas aos metais no solo, outras espécies apresentaram mortes. Na mistura com 5% de SC, os *E. saligna*, *E. pilularis*, *P. oocarpa* e *P. caribaea* apresentavam sobrevivência menor que 100%. Com 10% de SC, além destas, o *E. cloëziana*, *E. maculata*, *E. punctata*, *E. pyrocarpa*, *P. elliottii* e *P. caribaea* e na mistura com 20% de SC, o *E. pilularis* e *E. punctata* não sobreviveram. A ordem crescente para % de sobrevivência foi: *E. cloëziana* = *E. pyrocarpa* < *E. urophylla* < *P. oocarpa* = *E. saligna* < *P. caribaea* = *E. resinifera* < *P. elliottii* = *E. grandis* < *E. camaldulensis* < *E. maculata* = *E. pellita* = *E. citriodora* = *E. torelliana* = *A. mangium*. As quatro últimas espécies foram as únicas que não apresentaram mortes ao final dos experimentos em nenhuma das misturas de solo estudadas. O *E. pellita* e *E. citriodora*, apesar de apresentarem sintomas de fitotoxidez acentuados, sobreviveram no período estudado, em todas as misturas. A capacidade das espécies de sobreviverem, mesmo afetadas pela contaminação, pode ser uma característica desejável para revegetação de áreas contaminadas, pois tal comportamento pode propiciar a oportunidade destas encontrarem condições temporalmente ou espacialmente mais favoráveis no campo.

3.2. Crescimento das plantas

A contaminação do solo por metais pesados reduziu ($P > 0,01$) a produção de matéria seca e matéria seca relativa (MRS) (Controle = 100%) da PA das plantas, sendo a intensidade deste efeito dependente da espécie e do nível de contaminação, exceto para os *Pinus*, nos quais não ocorreu efeito de

espécies (Figura 9 e 10). A proporção de solo contaminado necessária para inibir o crescimento em 50% (PI_{50%}) também diferiu entre as espécies (Figuras 9). Comportamento diferenciado entre espécies de *Eucalyptus* em relação à contaminação por metais quanto à produção de matéria seca da PA também foi observado em solução nutritiva para Al (Neves, Novais e Barros, 1982) e para Cu (Soares, 1999). Soares (1999) concluiu que *E. urophylla* foi mais tolerante a Cu e Pb do que *E. maculata*. Ausência de grandes diferenças para espécies de *Pinus* quanto à tolerância a metais pesados também foi observada por Arduini, Godbold e Onnis (1994 e 1996). Arduini, Godbold e Onnis (1994) propuseram diferenças entre *P. pinea* e *P. pinaster* quanto a tolerância a Cd baseando-se no número e no comprimento de raízes laterais, não fazendo menção ou referência à produção de matéria seca, o que indica que os autores não encontraram diferenças quanto a essa característica. A mistura com 20% de SC foi suficiente para causar a redução do crescimento em mais de 50% da maioria das espécies, exceto para *A. mangium*, demonstrando maior tolerância desta espécie à contaminação do solo por metais pesados em relação às demais. Em geral, as espécies de crescimento mais rápido no tratamento controle (sem contaminação) foram também as mais sensíveis, quando analisadas pela PI_{50%} (Figura 9). Por exemplo, as três espécies que produziram maior matéria seca da PA no controle apresentaram as seguintes PI_{50%}: *E. pellita* = 5,2, *E. punctata* = 6,8 e *E. camaldulensis* = 5,1, valores esses em torno da metade daqueles apresentados pelas espécies mais tolerantes. Quanto a PI_{50%} para a PA, observou-se a seguinte ordem decrescente das espécies: *A. mangium* > *E. torelliana* > *E. grandis* > *E. citriodora* > *E. urophylla* > *E. saligna* > *E. cloëziana* > *E. resinifera* > *E. maculata* > *E. punctata* > *E. pellita* > *E. camaldulensis* > *E. pilularis* > *E. pyrocarpa* > *Pinus* spp. Somente *A. mangium*, *E. torelliana*, *E. grandis* e *E. citriodora* tiveram a PI_{50%} superiores a 10%, com destaque para a *A. mangium*, para qual a PI_{50%} foi superior a 20%. Assim, a *A. mangium* e o *E. torelliana*

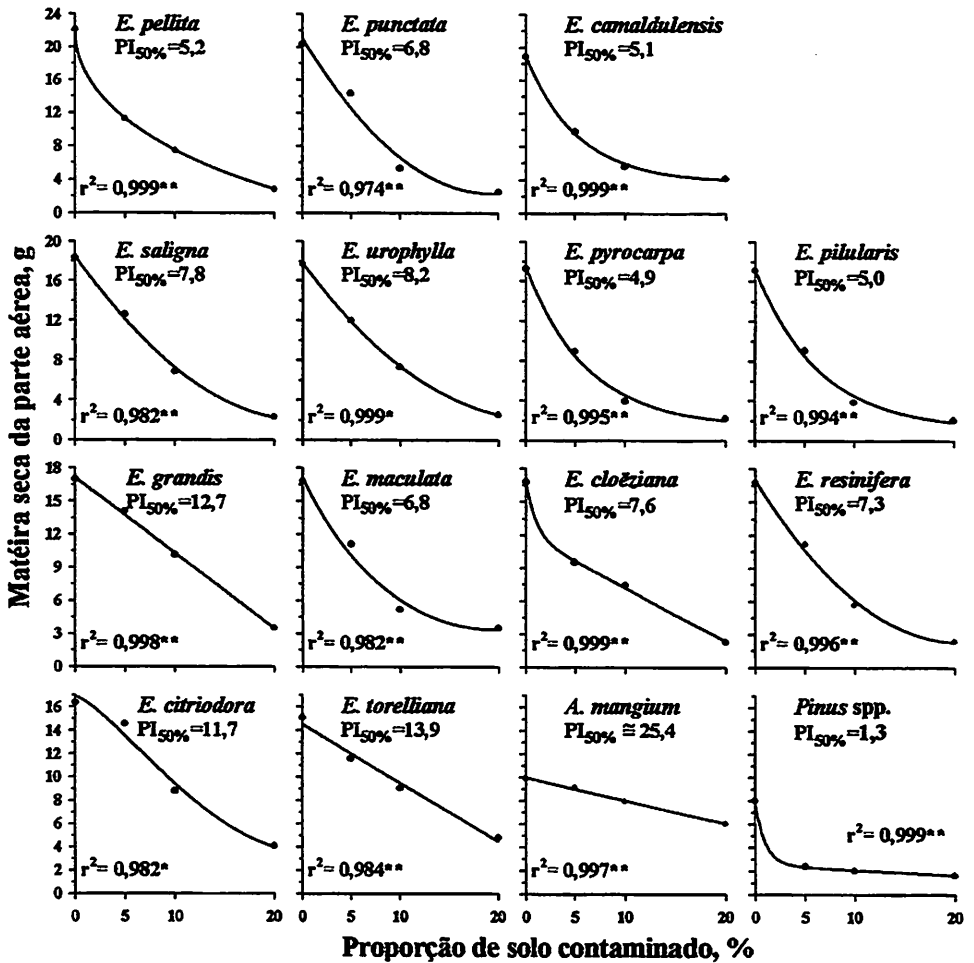


Figura 9. Matéria seca da parte aérea de *Eucalyptus* spp, *Acacia mangium* e *Pinus* spp (média para *Pinus oocarpa*, *P. elliotii* var. *elliottii* e *P. caribaea* var. *hondurensis*) em misturas com proporções crescentes de solo contaminado. O efeito principal de espécies de *Pinus* e a interação entre as mesmas e as proporções de solo contaminado não foram significativos ($P > 0,05$). PI_{50%} = percentagem de solo na mistura necessário para reduzir o crescimento em 50%.

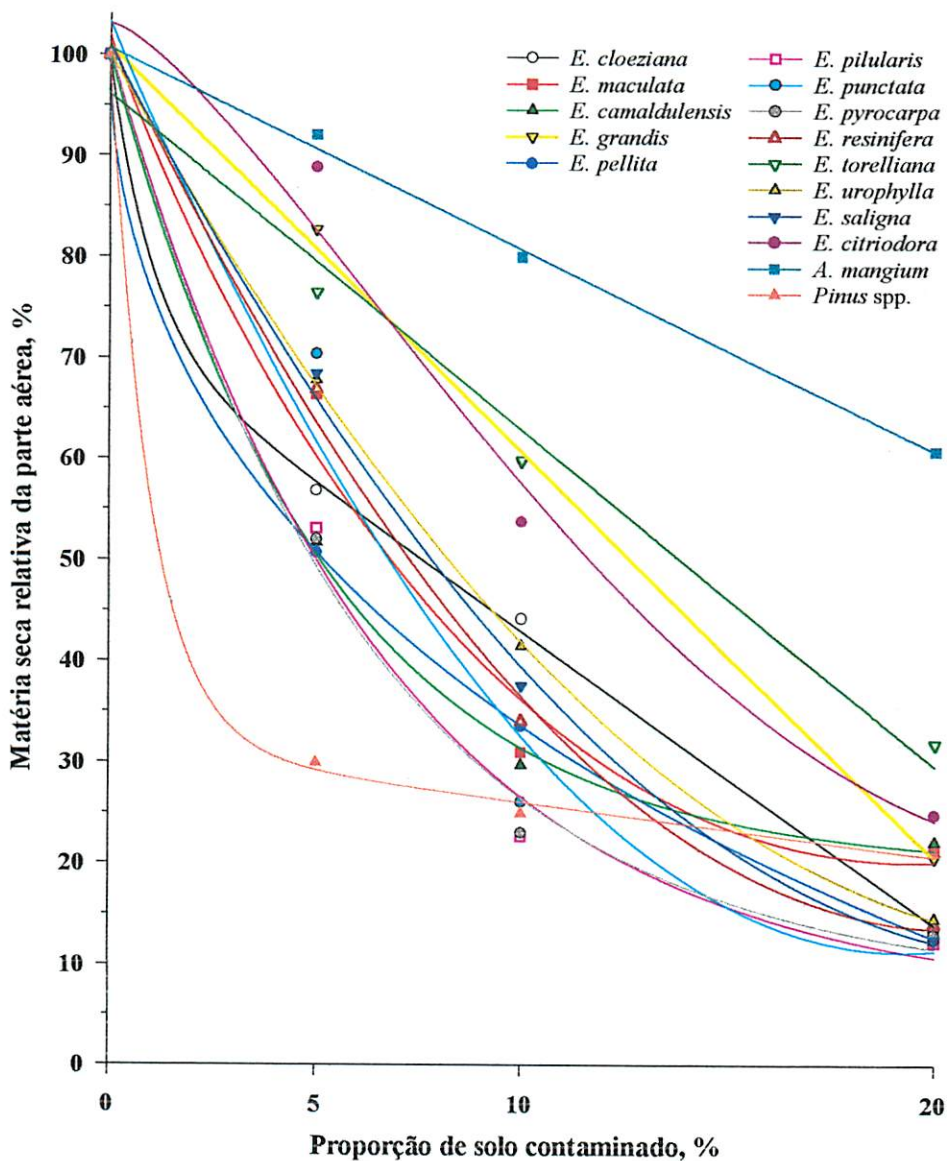


Figura 10. Matéria seca relativa (Controle = 100%) da parte aérea de *Eucalyptus* spp, *Acacia mangium* e a média de *Pinus oocarpa*, *P. elliotii* var. *elliotii* e *P. caribaea* var. *hondurensis* em misturas com proporções crescentes de solo contaminado. O efeito principal de espécies de *Pinus* e a interação entre as mesmas e as proporções de solo contaminado não foram significativos ($P > 0,05$).

apresentaram menor intensidade de sintomas de fitotoxidez na PA, cresceram além do torrão de produção das mudas na mistura com 10% de SC e produziram maior matéria seca da PA na mistura com 20% de SC.

As espécies de *Pinus* produziram menor biomassa, mesmo no controle (Figura 9), apesar de terem permanecido nos vasos 55 dias a mais do que os *Eucalyptus* e a *A. mangium*. Também demonstraram grande sensibilidade à contaminação, com valor de $PI_{50\%}$ para PA de 1,3%, valor este muito baixo em comparação com as outras espécies. Estes resultados, juntamente com os de sintomas e sobrevivência, demonstram a menor tolerância dos *Pinus* à contaminação do solo por vários metais pesados, em relação às demais espécies testadas, apesar da diferença no tempo de crescimento. É interessante observar que as espécies de coníferas são consideradas mais tolerantes a metais pesados do que as caducifólias de clima temperado e o *Pinus*, um dos mais tolerantes (Mitchell e Fretz, 1977; Heale e Ormorod, 1982; Patterson e Olson, 1983; Arduini, Godbold e Onnis, 1996). Isto demonstra o grande potencial que existe entre as espécies de *Eucalyptus* e *A. mangium* para uso na revegetação de áreas contaminadas, pela tolerância e grande produtividade de biomassa, devido o crescimento mais rápido dessas espécies. Mudas de *Eucalyptus camaldulensis* também foram mais tolerantes a Cd do que mudas de *Casuarina glauca* e *Cupressus sempervirens* (Abouelkhair, 1993).

As espécies que produziram maior matéria seca da PA na mistura com 10% de SC foram o *E. grandis* com 10,3 g, *E. torelliana* com 9,5 g, *E. citriodora* com 9,4 g e *A. mangium* com 8,0 g; já na mistura com 20% de SC, a produção de matéria seca da *A. mangium* superou as demais espécies (Figura 9). Contudo, a maior produção de matéria seca pode não refletir uma maior tolerância, pois essas espécies possuem grande diferença na capacidade de crescimento, diferenças essas intrínsecas das espécies. Assim, objetivando uma categorização das espécies quanto à tolerância à elevação dos teores de metais

pesados no solo, empregou-se o comportamento das mesmas em relação a $PI_{50\%}$ para matéria seca da PA (Figura 9). Este índice considera o crescimento relativo ao controle, portanto sem influência das diferenças intrínsecas das espécies. Com base neste índice, as 17 espécies foram separadas em quatro grupos: tolerante, medianamente tolerante, sensível e muito sensível. A *A. mangium* foi a única a ser categorizada como tolerante por ser a espécie que não teve seu crescimento reduzido a valores inferiores a 50%, mesmo na mistura com maior proporção de SC estudada. No segundo grupo, medianamente tolerante, têm-se as espécies que tiveram redução da matéria seca da PA na mistura com mais de 10% de SC, sendo elas: *E. torelliana*, *E. grandis* e *E. citriodora*. As espécies categorizada com sensíveis foram as demais espécies de *Eucalyptus* que apresentaram a $PI_{50\%}$ entre as mistura com 5 e 10% de SC, e muito sensíveis foram os *Pinus* com $PI_{50\%}$ inferior a mistura com 5% de SC. Esses grupos, foram bem separados pelos resultados de MSR (Figura 10), com destaque para a *A. mangium* sendo a espécie com menor redução do crescimento com a elevação da proporção de SC na mistura. Os teores de metais no solo, estimados por regressão para a mistura com 20% de SC, que não foram suficientes para reduzir da produção de matéria seca da PA da *A. mangium* em 50% (Figura 9), foram de ($mg\ kg^{-1}$): Zn = 2.554, Cd = 34,4, Pb = 72,6 e Cu = 399, enquanto na $PI_{50\%}$ para os *Pinus*, que foi de 1,3%, foram de apenas (em $mg\ kg^{-1}$): Zn = 259, Cd = 3,0, Pb = 16,4 e Cu = 51,7, indicando a elevada sensibilidade dos *Pinus* em relação a *A. mangium*.

A contaminação do solo também reduziu ($P > 0,01$) a produção de matéria seca das raízes em todas as espécies, sendo este efeito diferenciado de acordo com a espécie e o nível de contaminação (Figura 11). No entanto, para os *Pinus* não houve interação entre os efeitos principais, contaminação e espécies ($P > 0,05$). O *Pinus caribaea* produziu maior matéria seca de raízes em

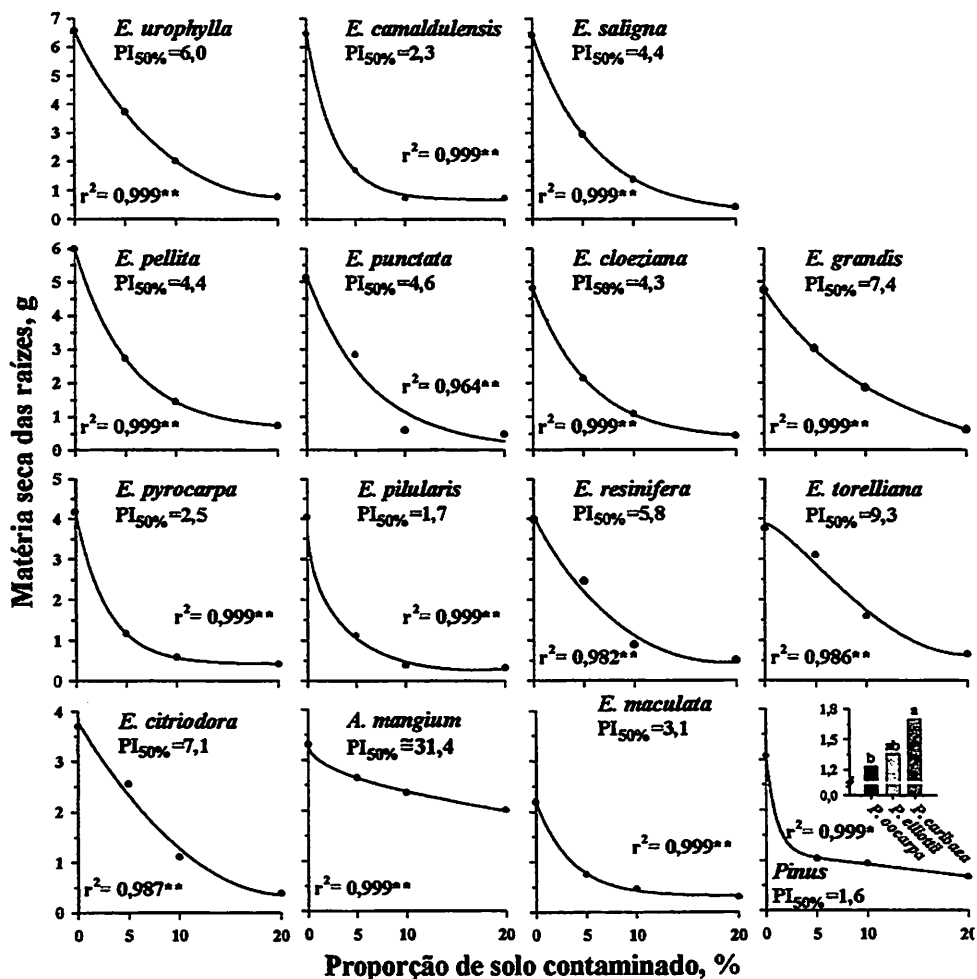


Figura 11. Matéria seca das raízes de *Eucalyptus* spp, *Acacia mangium* e *Pinus* spp (média para *Pinus oocarpa*, *P. elliottii* var. *elliottii* e *P. caribaea* var. *hondurensis*) em misturas com proporções crescentes de solo contaminado. Para o experimento com *Pinus*, somente os efeitos principais (espécies e contaminação) foram significativos ($P > 0,05$). PI_{50%} = percentagem de solo contaminado na mistura necessário para reduzir o crescimento em 50%.

todas as misturas estudadas, seguido do *P. elliottii* e do *P. oocarpa* (Figura 11, detalhe).

Para a maioria das espécies, a matéria seca das raízes reduziu de forma exponencial ou raiz quadrada com a elevação da contaminação do solo, enquanto, para a *A. mangium*, *E. torelliana*, *E. grandis* e *E. citriodora*, essa redução foi menos acentuada nos níveis mais baixos de contaminação, com comportamento linear, quadrático ou próximo (Figura 11). A *A. mangium* produziu duas vezes mais raízes do que as demais espécies na mistura com maior proporção de SC, indicando que esta é promissora para a revegetação de áreas contaminadas. A redução da produção de matéria seca das raízes foi mais intensa do que aquela observada para PA, exceto para os *Pinus*, em que a $PI_{50\%}$ para raízes foi ligeiramente superior ao $PI_{50\%}$ para PA. Esse maior efeito fitotóxico dos metais pesados sobre as raízes do que a PA também foi observado para outras espécies (Arduini, 1995, Marques, Moreira e Siqueira, 2000; Soares, 1999), e é devido ao fato das raízes serem as primeiras a entrar em contato com a contaminação do solo e acumular maiores teores de metais (Arduini, 1995).

Em geral, como ocorreu para PA, as espécies de crescimento mais rápido, no controle, também foram as mais sensíveis à contaminação do solo por metais pesados em relação à produção de matéria seca de raízes (Figura 11), exceto para o *E. maculata*, que foi uma das espécies que produziu menor matéria seca de raízes no controle, mas esteve entre as mais sensíveis com a $PI_{50\%}$ da ordem de 5%. Quanto a $PI_{50\%}$ para matéria seca de raízes observou-se a seguinte ordem decrescente das espécies para produção de matéria seca das raízes: *A. mangium* > *E. torelliana* > *E. grandis* > *E. citriodora* > *E. urophylla* > *E. resinifera* > *E. punctata* > *E. saligna* > *E. pellita* > *E. cloëziana* > *E. maculata* > *E. camaldulensis* > *E. pyrocarpa* > *E. pilularis* > *Pinus* spp (Figura 11). Essa ordem não se alterou em relação àquela observada para matéria seca da PA para as espécies mais tolerantes e muito sensíveis, ocorrendo pequenas alterações

apenas no grupo considerado sensível, confirmando o grau de tolerância dessas espécies já observado pela $PI_{50\%}$ para PA.

3.3. Simbiontes radiculares

A colonização micorrízica *Glomus etunicatum* nos *Eucalyptus* foi muito baixa em todas as espécies e misturas de solo, com valores entre 0 e 6,5%. Isto dificulta a avaliação do efeito da contaminação na colonização ou desta sobre as respostas das plantas; assim, esses dados não serão apresentados. Na *Acacia mangium*, a colonização micorrízica arbuscular no controle foi de 32% e reduziu ($P > 0,01$) drasticamente de forma raiz-quadrada, atingindo valores próximos a zero já na mistura com 10% SC (Figura 12a). O efeito inibidor da contaminação do solo por metais pesados sobre a colonização micorrízica arbuscular em raízes de *Senna multijuga*, *Luehea grandiflora*, *Enterolobium contirtisiquum* e *Senna macranthera*, arbóreas tropicais, também foi observado por Siqueira, Pouyú e Moreira (1999).

O número e a matéria seca de nódulos de rizóbio nas raízes de *A. mangium* também reduziram com a elevação da PSC (Figura 12b), sendo que este efeito foi linear para a matéria seca de nódulos e raiz quadrada para o número de nódulos. A redução da nodulação pela contaminação por metais pesados também foi observada em tamboril, sesbania, siratro e leucena (Mostasso, 1997). Assim, a maior tolerância observada para *A. mangium* em relação as demais espécies não pode ser atribuída a capacidade desta de se associar com bactérias fixadoras de N, apesar desta característica ser interessante para a revegetação de áreas contaminadas por metais pesados, pois isto pode diminuir a demanda de adubações nitrogenadas e reduzir o custo da revegetação. Wu e Lin (1990) também observaram redução na nodulação e atividade da nitrogenase quando *Rhizobium* não tolerante foi inoculado em *L. purshianus* crescendo em solo de mina.

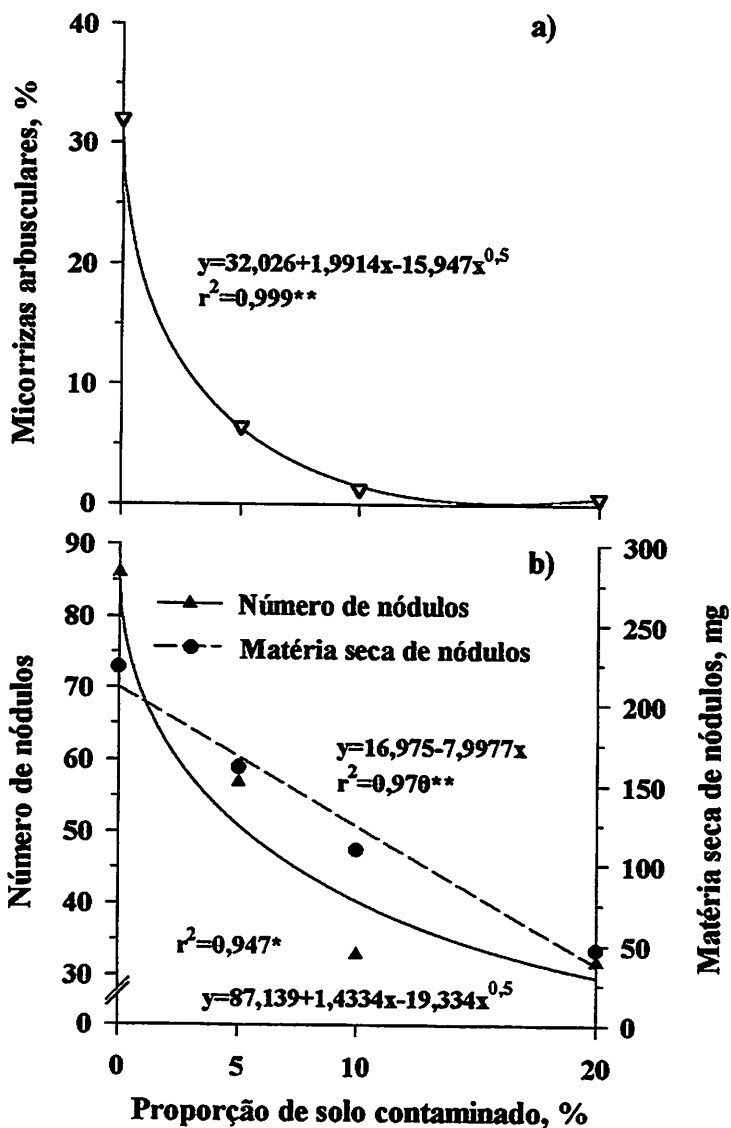


Figura 12. Percentagem de segmentos radiculares colonizados por fungos micorrízicos arbusculares (a) e número e matéria seca de nódulos (b) das raízes de *Acacia mangium* crescendo em solo contaminado por metais pesados

A colonização das raízes por fungos ectomicorrízicos foi influenciada ($P > 0,01$) pela contaminação do solo, sendo este resultado dependente da contaminação do solo e da espécie (Figura 13). Apesar da percentagem dos segmentos radiculares colonizados por fungos ectomicorrízicos (FEM) ter reduzido em todas as espécies nas contaminações mais elevadas (misturas com 10 e 20% de SC), a resposta destas foi diferenciada (Figura 13). Como característico dos *Pinus*, as maiores percentagem de segmentos radiculares colonizados ocorreram neste gênero, e sofreram drástica redução com a elevação da contaminação, em média de 77,5% no controle para valores de até 8,3% para *P. oocarpa*, 20,4% para *P. caribaea* e 36,7% para *P. elliottii*, nas misturas com maior proporção de SC. Isto sugere que a intensidade de colonização, pelo menos em condições com excesso de metais pesados, é determinada pela planta hospedeira. A $PI_{50\%}$ para colonização ectomicorrízica foi de 1,1% para *P. oocarpa*, de 13,2% para *P. caribaea* e de 19,9% para *P. elliottii*. A redução da colonização com a elevação da contaminação foi mais acentuada para o *P. oocarpa* com resposta tipo exponencial, linear para o *P. caribaea* e para o *P. elliottii* a redução da colonização só foi acentuada após a mistura com 10% de SC.

A colonização ectomicorrízica do *E. torelliana*, *E. resinifera*, *E. urophylla*, *E. punctata*, *E. pilularis*, *E. saligna* e *E. grandis* aumentou na mistura com 5% de SC em relação ao solo não contaminado, porém sofreu redução nas contaminações mais elevadas (Figura 13). Para *E. citriodora*, *E. camaldulensis* e *E. cloëziana*, a colonização foi drasticamente inibida já nas contaminações mais baixas, evidenciando a elevada sensibilidade da simbiose com *P. tinctorius* destas espécies. No *E. pellita* e *E. maculata* a redução foi linear. Na *A. mangium* a redução foi pequena mesmo na mistura com maior proporção de SC, e não

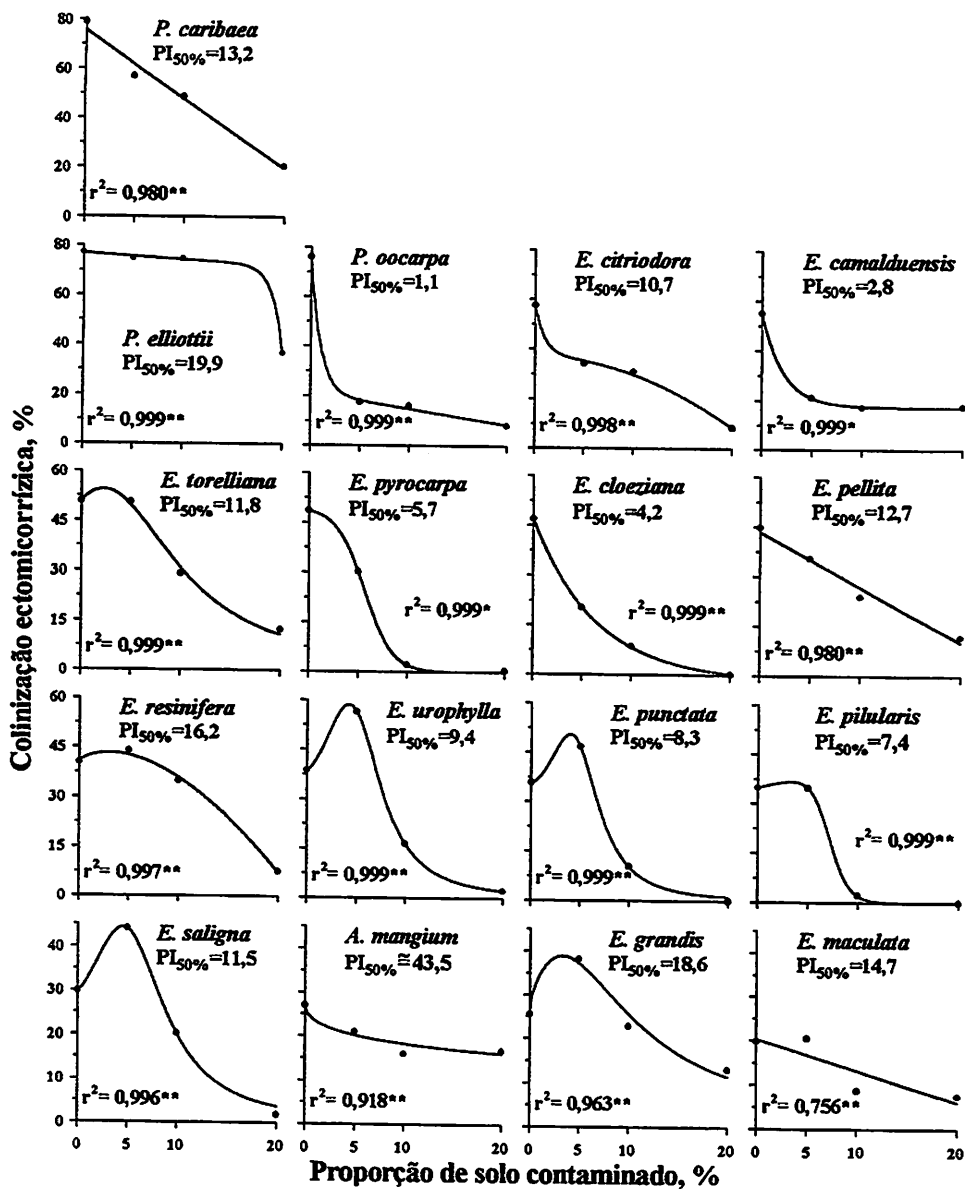


Figura 13. Colonização ectomicorrizica em raízes de mudas de *Eucalyptus* spp, *Pinus* spp e *Acacia mangium* em misturas com proporções crescentes de solo contaminado. PI_{50%} = percentagem de solo contaminado na mistura necessário para reduzir o crescimento em 50%.

atingiu uma redução de 50% da colonização observada no solo não contaminado. Redução da colonização ectomicorrízica também foi observada em raízes de *E. urophylla* por *P. tinctorius* causada pela contaminação por Cr e Ni (Aggangan, Dell e Malajczuk, 1998), para floresta mesofítica com dominância de *Quercus* spp em condições de campo com contaminação por Pb, Cu e Zn (Bell, Evans e Roberts, 1988) e colonização de raízes de *Pinus banksiana* e *Picea glauca* expostas a Cd, Cu, Ni, Pb e Zn (Dixon e Buschena, 1988).

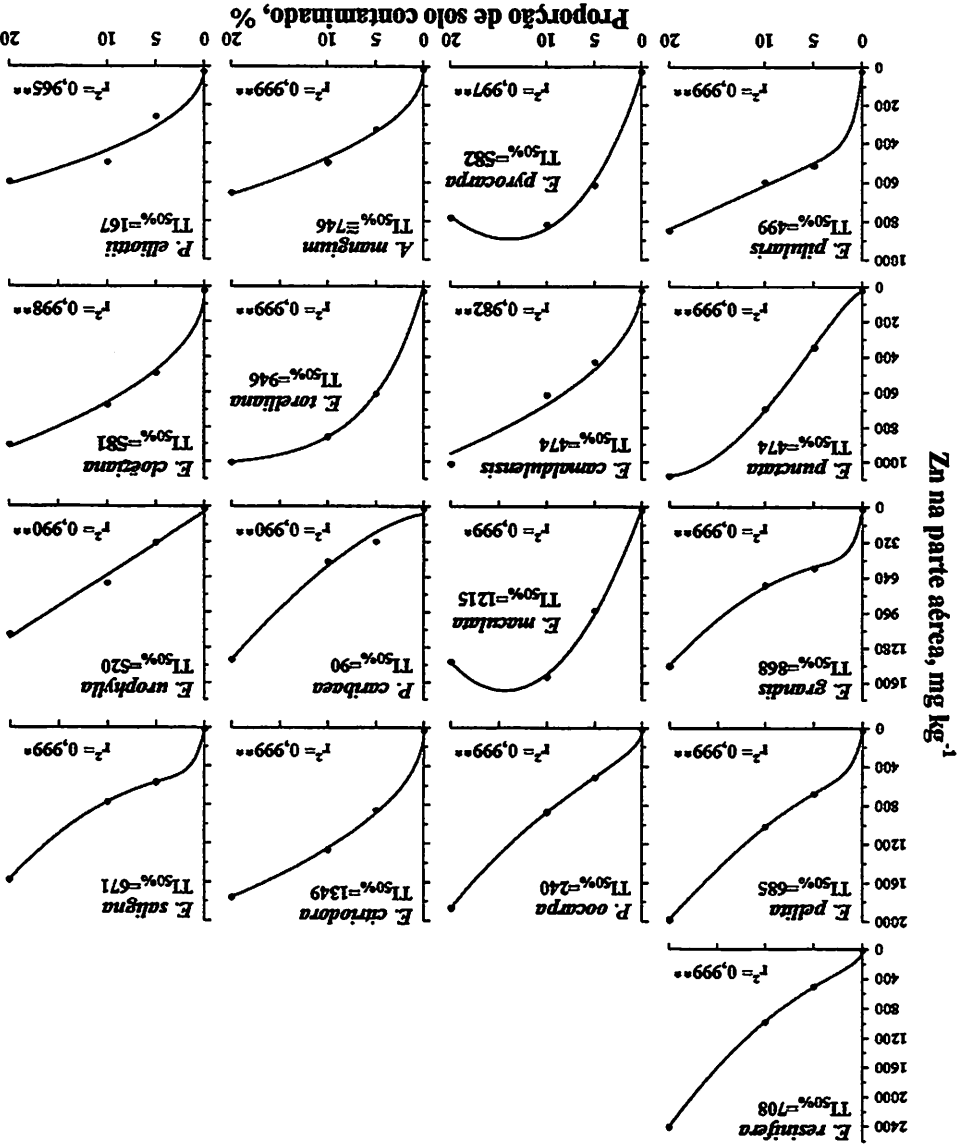
A intensidade de colonização ectomicorrízica entre os *Pinus* seguiu a seguinte ordem decrescente *P. elliottii* > *P. caribaea* > *P. oocarpa*, e pode ter contribuído para as diferenças na fitotoxidez entre essas espécies, pois essa mesma seqüência foi observada para sobrevivência e produção de madeira seca das raízes e inversa para intensidade de sintomas nas contaminações mais elevadas, indicando a necessidade de estudos que objetivem avaliar o efeito da colonização no crescimento dessas espécies em solo contaminado. Para os *Eucalyptus* e *A. mangium*, esse efeito também pode ter ocorrido pois entre as espécies que apresentaram maior colonização nas contaminações mais elevadas encontram-se aquelas mais tolerantes, como a *A. mangium*, *E. grandis* e *E. torelliana*. Essa maior colonização ectomicorrízica nas espécies que apresentaram melhor crescimento sob elevada contaminação concorda com o preconizado por vários autores, para arbóreas, de que esta associação pode proteger as plantas hospedeiras da contaminação do solo por metais pesados (Brown e Wilkins, 1985; Jones, Browning e Hutchinson, 1986; Jones e Hutchinson, 1986; Aggangan, Dell e Malajczuk, 1998). Só foi encontrado o trabalho de Aggangan, Dell e Malajczuk, (1998) estudando o efeito de metais pesados em plantas de *Eucalyptus* colonizadas por fungos ectomicorrízicos e o efeito destes sobre a tolerância das plantas a contaminação. Os autores observaram que a maior colonização em todos os níveis de Ni estudos (30 e 60

μmol de Ni kg^{-1} de solo) relacionou-se com um aumento da produção de biomassa das mudas de *E. urophylla*, cinco vezes maior do que as mudas não inoculadas na presença de $60 \mu\text{mol kg}^{-1}$ de Ni no solo.

3.4. Teores de metais pesados nas plantas

A presença de solo contaminado na mistura aumentou ($P > 0,01$) os teores de Zn na PA das plantas, com efeito diferenciado para espécies e proporção de solo contaminado na mistura (Figura 14). Em algumas espécies o teor de Zn aumentou proporcionalmente com a elevação da contaminação (linear), outras apresentaram resposta quadrática, como *E. maculata* (Figura 14). Na maioria das espécies, o Zn não atingiu um valor máximo na PA nas misturas estudadas, exceto para o *E. maculata*, no qual o teor máximo foi de 1674 mg kg^{-1} na mistura com de 14,4% de SC e para *E. pyrocarpa*, com o teor máximo de 893 mg kg^{-1} na mistura com 13,9%. Para o *E. pyrocarpa* essa estabilização pode ser devida à baixa sobrevivência das plantas, que foi de 44% na mistura com 10% de SC e de 11% na mistura com 20% (Figura 1). Em comparação ao controle, o aumento nos teores de Zn na PA variou da ordem de 24 vezes para o *P. elliotii* e até 150 vezes para o *E. resinifera*. A capacidade de concentrar Zn na parte aérea é desejável em plantas para a revegetação de áreas contaminadas, pois promove a extração dos metais contaminantes do solo e imobilização na biomassa, processo chamado de “fitoextração” (Salt, Smith e Raskin, 1998). No entanto, esse maior teor de Zn na parte aérea de *E. resinifera* causou elevada fitotoxicidade e reduziu a sobrevivência na mistura com 20% de SC (Figura 8). Entre as espécies com maiores teores de Zn na PA encontram-se o *E. citriodora* e *E. torelliana*, que apesar da redução no crescimento, apresentaram 100% de sobrevivência em todas as misturas estudadas. O fato dessas espécies acumularem Zn e apresentarem crescimento rápido indica o potencial dessas para a revegetação de áreas contaminadas. Como estas espécies são arbóreas,

Figura 14. Teores de Zn na parte aérea de *Eucalyptus* spp, *Pinus* spp e *Acacia mangium* em misturas com proporções crescentes de solo contaminado. $TI_{50\%}$ = teor do metal na parte aérea da planta na proporção de solo contaminado necessário para reduzir o crescimento em 50%.



o metal retido no seus tecidos ficará imobilizado por um longo tempo. O aumento nos teores de Zn na PA apresenta relação positiva com o aumento do teor deste metal no solo (Tabela 1) e inversa com a produção da matéria seca da PA (Figura 9). Porém, os maiores teores de Zn observados na PA não se relacionaram com a tolerância das espécies, pois entre aquelas com maiores teores encontram-se espécies consideradas moderadamente tolerantes e muito sensíveis (Figura 14). A *A. mangium*, espécie com maior produção de biomassa na mistura com maior proporção de solo contaminado, foi uma das que apresentaram menores teores de Zn na PA, indicando que sua tolerância pode ser devida, pelo menos em parte, à restrição da elevação dos teores de Zn na PA.

Já na mistura com 5% de SC, todas as espécies apresentaram teores de Zn na PA dentro ou acima da faixa considerada tóxica para o crescimento das plantas, que varia de 100 a 400 mg kg⁻¹ (Kabata-Pendias e Pendias, 1985). Na mistura com 20% de SC, os teores foram muito superiores a essa faixa e superiores ou próximos ao nível crítico de toxidez (NCT) de Zn na PA para *E. maculata* e *E. urophylla* em solução nutritiva (Soares, 1999), 853 e 698 mg kg⁻¹, respectivamente. Assim, os teores de Zn na PA atingiram valores tóxicos em todas as espécies, corroborando a redução do crescimento. Para a *A. mangium*, *E. torelliana*, *E. grandis* e *E. citriodora*, espécies consideradas tolerantes ou moderadamente tolerantes, o teor de Zn na PA na mistura que reduziu a matéria seca da PA em 50% (TI_{50%}) foi também superior ao NCT observado por Soares (1999), indicando que nas suas respectivas PI_{50%} os teores de Zn já se encontravam em níveis tóxicos. No entanto, para os demais *Eucalyptus* e os *Pinus*, espécies consideradas sensíveis ou muito sensíveis, o TI_{50%} foi inferior ao NCT obtidos por Soares (1999), inclusive para o *E. urophylla* e *E. maculata*, espécies testadas por esse autor. Isto indica que essas espécies são muito sensíveis à contaminação por Zn, que o efeito aditivo dos metais contaminantes

no solo pode ter agravado a toxidez do Zn ou que outros metais, que não Zn, sejam os responsáveis pela redução no crescimento observada.

O $TI_{50\%}$ variou de 1349 mg kg⁻¹ para a *E. citriodora* a 90 mg kg⁻¹ para o *P. caribaea* (Figura 14). Os valores de $TI_{50\%}$ demonstram relação positiva com a maior tolerância das espécies. A seguinte ordem decrescente entre as espécies foi observada para $TI_{50\%}$: *E. citriodora* > *E. maculata* > *E. torelliana* > *E. grandis* > *A. mangium* > *E. resinifera* > *E. pellita* > *E. saligna* > *E. pyrocarpa* > *E. cloëziana* > *E. urophylla* > *E. pilularis* > *E. camaldulensis* = *E. punctata* > *P. oocarpa* > *P. elliotii* > *P. caribaea*. Assim, podemos observar que as cinco espécies que apresentaram o maior $TI_{50\%}$, inclusive superior àqueles de NCT obtidos por Soares (1999), à exceção do *E. maculata*, foram aquelas consideradas tolerantes e moderadamente tolerantes (Item 5.2). Destaque ainda para as espécies de *Pinus*, as quais foram consideradas muito sensíveis, os $TI_{50\%}$ nessas espécies foram os menores, 240 mg kg⁻¹ para o *P. oocarpa*, 167 mg kg⁻¹ para o *P. caribaea* e 90 mg kg⁻¹ para o *P. elliotii*, para as duas primeiras encontram-se na faixa considerada tóxica (Kabata-Pendias e Pendias, 1985); já para o *P. elliotii* o $TI_{50\%}$ foi inferior. Estes resultados confirmam a grande sensibilidade dos *Pinus* ao excesso de Zn ou propõem que outros metais ou a ação aditiva deles possam ser a causa da grande fitotoxicidade observada. Estes resultados sugerem que as espécies tolerantes não possuem mecanismos que impeçam altas concentrações de Zn na PA pelo menos até os $TI_{50\%}$, visto que elas apresentaram os maiores valores para este índice. Assim, estas espécies devem possuir algum mecanismo que impeça a concentração do Zn na PA nas contaminações mais elevadas, o que pode ter ocorrido para a *A. mangium*, visto que esta espécie foi uma das que apresentaram menor teor na mistura com maior contaminação, ou que estas possuam mecanismos de destoxificação para Zn nas folhas, pois estas espécies, além de produzirem maior quantidade de matéria seca da PA (Figura 9), apresentaram poucos sintomas de fitotoxidez (Figura 1).

Do mesmo modo observado para a PA, a contaminação do solo aumentou ($P > 0,01$) os teores de Zn nas raízes de *Eucalyptus* e *A. mangium* (Tabela 5). Já para os *Pinus*, não houve efeito de espécies e da interação entre os efeitos principais, contaminação e espécies ($P > 0,05$). O aumento nos teores de Zn nas raízes foi muito acentuado na mistura com 5% de SC e, em geral, progrediu de forma menos acentuada nas misturas com proporção de SC mais elevada. O aumento nos teores de Zn nas raízes na mistura com 5% de SC em relação ao controle variou de 23 vezes para o *E. pellita* a 123 vezes para *A. mangium*. Já nas misturas com proporções de SC mais elevadas, esse aumento atingiu o máximo de 148 vezes também para a *A. mangium*. É interessante observar que a *A. mangium*, espécie menos afetada pela contaminação, foi a que apresentou maiores teores de Zn nas raízes em todos os tratamentos com solo contaminado, chegando a 6.159 mg kg^{-1} na maior contaminação. Isto corrobora os resultados de Marques, Moreira e Siqueira (2000), que observaram que entre 20 espécies arbóreas crescendo também em misturas com este mesmo SC, a *A. mangium* foi a que apresentou maior teor de Zn nas raízes (5.780 mg kg^{-1}). Estes resultados sugerem que essa habilidade da *A. mangium* de concentrar o Zn nas raízes pode ser responsável, pelo menos em parte, pela tolerância desta espécie, pois um dos mecanismos de tolerância aos metais é a capacidade da planta de imobilizar o metal em suas raízes (Baker, 1981). Contudo, as demais espécies consideradas tolerantes não apresentaram essa característica, ao contrário, o *E. torelliana*, apesar de ter sido considerado moderadamente tolerante, foi o que apresentou menor teor (2242 mg kg^{-1}) na mistura com maior proporção de SC (Tabela 5). Isto indica a ocorrência de outros mecanismos de tolerância nas demais espécies consideradas moderadamente tolerantes. Entre os mecanismos de tolerância a metais pesados em plantas, são citados a habilidade da planta de absorver e não translocar o metal para PA, absorver e translocar e

Tabela 5. Teores de Zn nas raízes de *Eucalyptus* spp, *Acacia mangium* e *Pinus* spp (média para *Pinus oocarpa*, *P. elliottii*, e *P. caribaea*) em misturas com proporções crescente de solo contaminado por metais pesados

| Espécie | Proporção de solo contaminado, % | | | | Equação de regressão | r ² |
|----------------------------|----------------------------------|----------|----------|----------|--|----------------|
| | 0 | 5 | 10 | 20 | | |
| | ----- mg kg ⁻¹ ----- | | | | | |
| <i>E. cloëztiana</i> | 42 a ^{1/} | 2380 bc | 2251 cde | 3206 Cd | y=2186,8+2,4578x ² -2143,5e ^{-x} | 0,990** |
| <i>E. maculata</i> | 39 a | 2400 b | 2831 bc | 3097 Cd | y=42,822-161,38x+1402,6x ^{0,5} | 0,999** |
| <i>E. camaldulensis</i> | 23 a | 1635 Cd | 2008 e | 2532 de | y=1382,7+58,204x-1360,3e ^{-x} | 0,999** |
| <i>E. grandis</i> | 33 a | 2401 b | 2811 bcd | 3696 c | y=1971,1+85,908x-1937,8e ^{-x} | 0,999** |
| <i>E. pellita</i> | 92 a | 2163 bc | 2481 cde | 3624 c | y=1932,1+18,785x ^{1,5} -1839,6e ^{-x} | 0,999** |
| <i>E. pilularis</i> | 51 a | 2254 bc | 3344 ab | 2949 cde | y=39,565+762,01x-137,71x ^{1,5} | 0,999** |
| <i>E. punctata</i> | 50 a | 1975 bcd | 2808 bcd | 3106 Cd | y=69,179+587,25x-97,480x ^{1,5} | 0,999** |
| <i>E. pyrocarpa</i> | 59 a | 2230 bc | 2824 bc | 3170 Cd | y=54,899-127,72x+1269,9x ^{0,5} | 0,999** |
| <i>E. resinifera</i> | 59 a | 2338 bc | 2974 abc | 2750 de | y=54,641-5,4389x ² +1089,8x ^{0,5} | 0,999** |
| <i>E. torelliana</i> | 33 a | 1678 bcd | 2063 de | 2242 e | y=31,995-109,81x+985,95x ^{0,5} | 0,999** |
| <i>E. urophylla</i> | 34 a | 1385 d | 2474 cde | 3193 Cd | y=28,859+290,33x-1,4764x ^{2,5} | 0,999** |
| <i>E. saligna</i> | 38 a | 2087 bcd | 2780 bcd | 4474 b | y=1247,2+160,19x-1208,9e ^{-x} | 0,999** |
| <i>E. citriodora</i> | 29 a | 1976 bcd | 2916 abc | 2795 de | y=56,397+446,56x-15,505x ² | 0,998** |
| <i>A. mangium</i> | 42 a | 5124 a | 3631 a | 6159 a | y=4219,7+4,3368x ² -4172,6e ^{-x} | 0,918** |
| <i>Pinus</i> ^{2/} | 37 | 1381 | 2176 | 3201 | y=(46,361+339,51x)/(1+0,05688x) | 0,999** |

1/ As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si, em nível de 5%, pelo teste de Tukey.

2/ Para o experimento com *Pinus*, o efeito principal para espécies e a interação entre as mesmas e as proporções de solo contaminado não foram significativos (P>0,05).

imobilizar na PA, e de possuir reduzida absorção, as chamadas exclusoras (Baker, 1981).

A razão do teor de Zn entre as raízes e PA (R/PA) variou ($P > 0,01$) muito entre as espécies e tratamentos com solo contaminado (Figura 15). Em todas as espécies e misturas estudadas, a R/PA foi superior a um, indicando elevada retenção do Zn nas raízes. Em geral, a R/PA de Zn aumentou inicialmente com a elevação da contaminação, atingindo um máximo seguido de um decréscimo, exceto para *E. pyrocarpa*, *E. maculata* e *E. pellita*, sendo que, para as duas primeiras, a R/PA foi sempre crescente sem atingir um máximo, e para o *E. pellita*, foi linearmente decrescente. Este resultado para *E. pellita* indica que esta espécie teve sua capacidade de retenção diminuída com o aumento da contaminação, sugerindo ser este um dos motivos para a sua sensibilidade a contaminação do solo. Contudo, parece não ter ocorrido relação positiva entre a tolerância das espécies e a capacidade de retenção, exceto para a *A. mangium*, que foi aquela que reteve maior quantidade de Zn nas raízes em todas as misturas com SC. Essa maior retenção nas raízes proporcionou menores teores de Zn na PA da *A. mangium*, a qual só foi maior do que o *P. elliottii*, no entanto, a *A. mangium* teve o quinto maior $TI_{50\%}$, aproximadamente de 746 mg kg^{-1} (Figura 14). Já os elevados $TI_{50\%}$ de *E. maculata*, *E. citriodora* e *E. torrelliana* concordam com as menores R/PA de Zn apresentados por estas espécies, indicando que nestas grande parte do Zn absorvido é translocado para a PA. O *P. oocarpa* também apresentou uma das menores R/PA, mas isto não refletiu num maior teor de Zn na PA, sugerindo que esta espécie não absorve grandes quantidades de Zn.

Os teores de Cd na PA apresentaram tendência geral de aumento ($P > 0,01$) com a elevação dos teores de metal na mistura de solo, mas também diferenciada em função das espécies e contaminação (Figura 16). Em geral, os maiores teores foram observados na mistura com 20% de SC, exceto para o *E.*

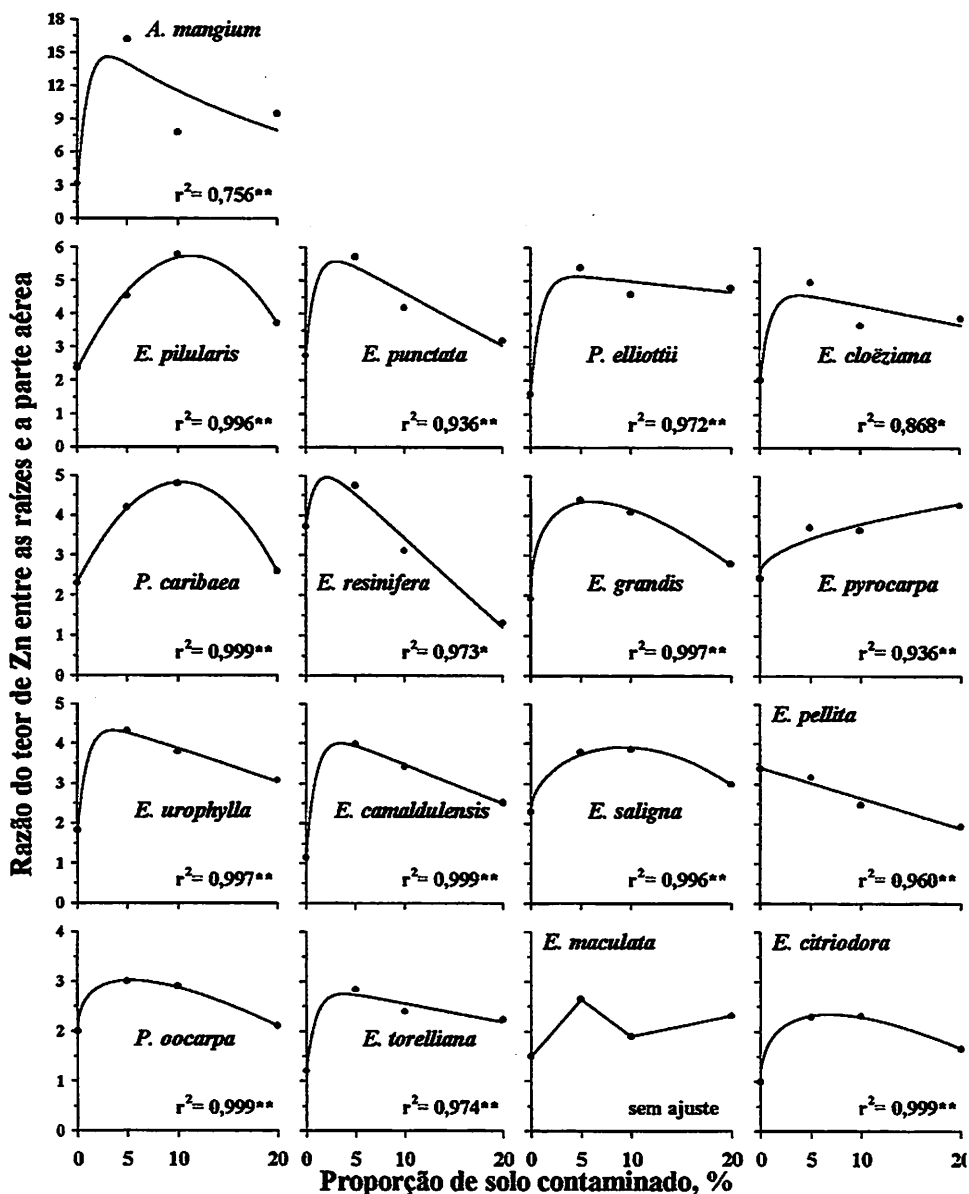


Figura 15. Razão do teores de Zn entre as raízes e a parte aérea de *Eucalyptus* spp, *Pinus* spp e *Acacia mangium* em mistura com proporções crescentes de solo conataminado.

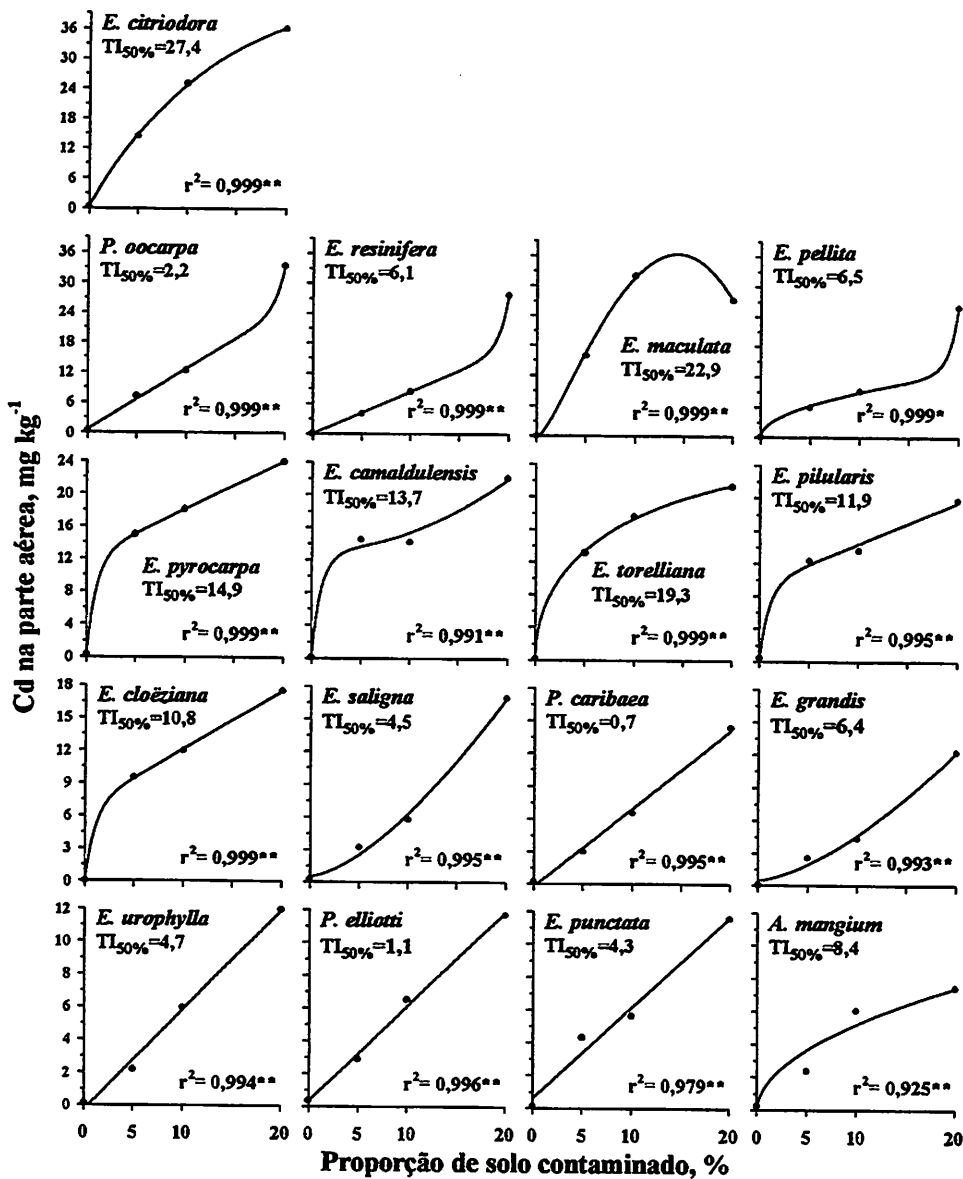


Figura 16. Teores de Cd na parte aérea de *Eucalyptus* spp, *Pinus* spp e *Acacia mangium* em misturas com proporções crescentes de solo conataminado. TI_{50%} = teor do metal na parte aérea da planta na proporção de solo contaminado necessário para reduzir o crescimento em 50%.

maculata. Esta espécie atingiu o teor máximo de Cd na PA de 36,4 mg kg⁻¹ na mistura com 14,4% de SC. Para algumas espécies, o teor de Cd aumentou proporcionalmente (linear ou próximo) com a elevação da contaminação. Para *E. citriodora*, *E. pyrocarpa*, *E. camaldulensis*, *E. torelliana*, *E. pilularis*, *E. cloëziana* e *A. mangium*, inicialmente ocorreu um aumento acentuado do teor de Cd seguido de outro próximo a linear. Para *P. oocarpa*, *E. resinifera* e *E. pellita* ocorreu o inverso das últimas, ou seja, inicialmente o aumento do teor de Cd na PA foi linear ou próximo a linear, seguido de outro mais acentuado depois da mistura com 10% de SC. Os teores de Cd na PA variaram de 0 a 0,45 mg kg⁻¹ no controle (solo não contaminado) e de 7,45 mg kg⁻¹ para a *A. mangium* a 36,1 mg kg⁻¹ para o *E. citriodora* na mistura de solo com maior proporção de SC (Figura 16). É interessante observar que entre as quatro espécies consideradas tolerantes ou moderadamente tolerantes, a *A. mangium* e o *E. grandis* mantiveram os teores de Cd na PA relativamente baixos, mesmo na mistura com 20% de SC, e o *E. citriodora* e o *E. torelliana*, ao contrário, encontram-se entre as espécies com maiores teores de Cd na PA, da mesma forma que espécies consideradas sensíveis e muito sensíveis, como *E. maculata* e *P. oocarpa*. Isto reforça a hipótese da existência de mecanismos de tolerância diferentes entre as espécies, como já proposto para o Zn, entre a *A. mangium* e o *E. torelliana*, por exemplo. É provável que *E. torelliana* e *E. citriodora* possuam mecanismos de detoxificação de Cd na PA, enquanto *A. mangium* e *E. grandis* restringem a concentração deste metal na PA.

Tendo em vista as diferenças de comportamento entre as espécies tolerantes para teor de Cd na PA, fica difícil relacionar o TI_{50%} de Cd e a tolerância das mesmas, como ocorreu para o Zn, pois os TI_{50%} de Cd para *E. citriodora* de 27,4 mg kg⁻¹ e *E. torelliana* de 19,3 mg kg⁻¹ estão entre os maiores, já os TI_{50%} para *A. mangium* de 8,4 mg kg⁻¹ e *E. grandis* de 6,4 encontram-se entre os intermediários (Figura 16). E ainda, os menores TI_{50%} ocorreram nos

Pinus, os quais foram considerados muito sensíveis. Para os *Pinus*, os $TI_{50\%}$ variaram de $0,7 \text{ mg kg}^{-1}$ para o *P. caribaea* a $2,2 \text{ mg kg}^{-1}$ para o *P. oocarpa*. Este $TI_{50\%}$ para *P. oocarpa* é a metade do menor $TI_{50\%}$ obtido para os *Eucalyptus* ($4,3 \text{ mg kg}^{-1}$ para *E. punctata*) e inferior à faixa de 5 a 30 mg kg^{-1} considerada tóxica (Kabata-Pendias e Pendias, 1985), indicando a grande sensibilidade dos *Pinus* a Cd, o efeito de adição da contaminação do solo por vários metais pesados ou que outros metais podem estar determinando a fitotoxidez observada nesse gênero. Os $TI_{50\%}$ para *E. resinifera*, *E. pellita*, *E. saligna*, *E. grandis*, *E. urophylla*, *E. punctata* e *A. mangium* foram menores do que os NCT observados para *E. urophylla* de $10,8 \text{ mg kg}^{-1}$ e para *E. maculata* de $14,5 \text{ mg kg}^{-1}$, em solução nutritiva (Soares, 1999). Isto sugere que nas respectivas $PI_{50\%}$, os teores de Cd na PA não se encontravam em níveis tóxicos para as plantas. Assim, para essas espécies a redução do crescimento não se deve à contaminação do solo por Cd. Apesar do elevado $TI_{50\%}$ observado para o *E. citriodora* e *E. torelliana*, é possível que os teores de Cd na PA também não tenham atingido níveis extremamente tóxicos, pois estas espécies foram consideradas moderadamente tolerantes e parecem possuir mecanismos de destoxificação de Cd na PA.

Os teores de Cd nas raízes das plantas aumentaram ($P > 0,01$), com a elevação da contaminação, de forma variada para os *Eucalyptus* e a *A. mangium*; já os *Pinus* não diferiram ($P > 0,05$) entre si independente do nível da contaminação (Tabela 6). Esse aumento nos teores de Cd nas raízes foi também muito acentuado na mistura com 5% de SC e, em geral, progrediu de forma menos acentuada nas misturas com maiores proporções de SC. Os teores de Cd nas raízes variaram de 0 a $1,7 \text{ mg kg}^{-1}$ no controle (solo não contaminado) e de $57,1 \text{ mg kg}^{-1}$ para a *E. pilularis* a $447, 2 \text{ mg kg}^{-1}$ para a *A. mangium* na mistura com 20% de SC, onde, em geral, ocorreram os maiores teores (Tabela 6). Os teores de Cd nas raízes, em geral, apresentaram relação inversa com os teores deste metal na PA (Figura 16). Por exemplo, a *A. mangium*, o *E. grandis* e *E.*

Tabela 6. Teores de Cd nas raízes de *Eucalyptus* spp, *Acacia mangium* e *Pinus* spp (média para *Pinus oocarpa*, *P. elliottii*, e *P. caribaea*) em misturas com proporções crescente de solo contaminado por metais pesados

| Espécie | Proporção de solo contaminado, % | | | | Equação de regressão | r ² |
|----------------------------|----------------------------------|----------|---------|----------|---|----------------|
| | 0 | 5 | 10 | 20 | | |
| | ----- mg kg ⁻¹ ----- | | | | | |
| <i>E. cloëziana</i> | 0,7 a ^{1/} | 52,6 bc | 45,0 bc | 73,8 bc | y=4,6733+15,535x ^{0,5} | 0,905** |
| <i>E. maculata</i> | 1,2 a | 71,5 bc | 122,4 b | 81,7 bc | y=0,05308+16,384x-0,1374x ^{2,5} | 0,998** |
| <i>E. camaldulensis</i> | 1,0 a | 95,3 bc | 88,0 bc | 74,3 bc | y=1,8900-10,470x+62,562x ^{0,5} | 0,984** |
| <i>E. grandis</i> | 1,2 a | 81,9 bc | 92,7 bc | 118,6 bc | y=5,2912+20,090x-3,2505x ^{1,5} | 0,962** |
| <i>E. pellita</i> | 1,4 a | 82,2 bc | 75,6 bc | 112,1 bc | y=8,7643+23,925x ^{0,5} | 0,918** |
| <i>E. pilularis</i> | 1,4 a | 48,3 bc | 43,5 c | 57,1 c | y=49,725-48,311e ^{-x} | 0,949** |
| <i>E. punctata</i> | 1,7 a | 47,9 bc | 42,7 c | 69,1 bc | y=4,8860+14,368x ^{0,5} | 0,921** |
| <i>E. pyrocarpa</i> | 1,5 a | 56,3 bc | 43,6 c | 68,8 bc | y=56,325-54,860e ^{-x} | 0,876** |
| <i>E. resinifera</i> | 1,5 a | 105,5 bc | 97,8 bc | 120,5 bc | y=108,15-106,62e ^{-x} | 0,970** |
| <i>E. torelliana</i> | 1,6 a | 75,4 b | 71,6 bc | 60,6 c | y=69,338-67,736e ^{-x} | 0,965** |
| <i>E. urophylla</i> | 0,3 a | 35,7 bc | 54,3 c | 62,7 bc | y=2,4764+14,498x ^{0,5} | 0,973** |
| <i>E. saligna</i> | 0,0 a | 51,4 c | 57,9 c | 126,6 b | y=6,8160+5,9622x | 0,958** |
| <i>E. citriodora</i> | 0,0 a | 63,8 bc | 94,8 bc | 66,1 bc | y=-0,9415+23,687x-4,5414x ^{1,5} | 0,997** |
| <i>A. mangium</i> | 0,0 a | 339,9 bc | 329,7 a | 447,2 a | y=324,59+0,06721x ^{2,5} -324,49e ^{-x} | 0,996** |
| <i>Pinus</i> ^{2/} | 0,0 | 41,1 | 44,5 | 77,4 | y=39,038+0,02136x ^{2,5} -39,025e ^{-x} | 0,999** |

1/ As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si, em nível de 5%, pelo teste de Tukey.

2/ Para o experimento com *Pinus* o efeito principal para espécies e a interação entre as mesmas e as proporções de solo contaminado não foram significas (P>0,05).

saligna que apresentaram maiores teores de Cd nas raízes, estão entre aquelas com menores teores do metal na PA, e o inverso ocorreu para *E. citriodora*, *E. torelliana*, *E. pyrocarpa* e *E. camaldulensis*. Para o *E. pellita* e *E. resinifera*, os altos teores nas raízes concordam com os baixos teores na PA até a mistura com 10% de SC; contudo, na mistura com 20%, essas espécies apresentaram altos teores de Cd tanto nas raízes quanto na PA, indicando que a capacidade destas de impedir a translocação foi superada devido à contaminação elevada. Segundo Baker (1981), algumas espécies tolerantes aos metais são capazes de excluir o metal da PA até uma certa quantidade de metal absorvido, depois, em maiores concentrações, a planta desequilibra-se metabolicamente e o metal absorvido é translocado para a PA de forma não mais controlada pela planta. Assim, é provável que isto tenha ocorrido em espécies como *E. pellita* e *E. resinifera* e que, para *A. mangium*, *E. grandis* e *E. saligna*, esta capacidade de regular a translocação do Cd para a parte aérea não tenha sido superada. Este comportamento contribuiu para a condição de tolerantes da *A. mangium* e *E. grandis*. Já para *E. saligna*, é provável que outro metal tenha determinado sua condição de sensível à contaminação do solo por metais pesados. O *E. torelliana* e o *E. citriodora* não apresentaram essa capacidade de manter os teores de Cd na PA em níveis mais baixos, porém, também foram consideradas tolerantes, e então devem possuir mecanismos de tolerância que diminuem a ação tóxica do metal nas folhas. Os mecanismos já propostos como capazes de destoxificação dos metais na parte aérea são: formação de quelatos com fitoquelatinas ou metalotioneínas, compartimentalização em vacúolos, biotransformação por meio de transformações químicas e, ou incorporação em compostos orgânicos, e mecanismos celulares de reparação, como a resíntese ou reparo da membrana plasmática danificada pela ação dos metais (Salt, Smith e Raskin, 1998).

Os teores de Cd nas raízes dos *Pinus* foi de 77,4 mg kg⁻¹, média das três espécies na mistura com 20% de SC, valor este semelhante aos menores

observados no *Eucalyptus* e *A. mangium* (Tabela 6). Contudo, isto não resultou num maior teor deste elemento na PA (Figura 16), o que indica uma menor absorção do metal pelas raízes. Arduini, Godbold e Onnis (1996) propuseram que a cápsula da raiz bem desenvolvida em *Pinus* exerce um papel protetor contra a absorção dos metais pela ponta da raiz. Contudo, este comportamento não resultou numa maior tolerância nas condições estudadas no presente estudo.

A R/PA de Cd variou entre as espécies e a contaminação ($P > 0,01$) (Figura 17). Como observado para a R/PA de Zn, em todas as espécies e misturas a R/PA de Cd foi superior a um, indicando maior retenção deste metal nas raízes do que na PA. Em geral, a R/PA de Cd aumentou acentuadamente nos níveis de contaminação mais baixos (até a mistura com 5% de SC) e decresceu sob elevada contaminação. Já para o *E. torelliana*, *E. pyrocarpa* e *E. pilularis* a R/PA em geral decresceu progressivamente. A seguinte ordem decrescente para capacidade máxima de retenção de Cd foi observada: *A. mangium* > *E. grandis* > *E. resinifera* > *E. urophylla* > *P. caribaea* > *E. saligna* > *E. pellita* > *P. elliotii* > *E. punctata* > *E. torelliana* > *E. camaldulensis* > *P. oocarpa* > *E. cloëziana* > *E. pyrocarpa* > *E. maculata* > *E. pilularis* > *E. citriodora*. Confirmando a relação negativa entre a capacidade de retenção e os teores de Cd na PA. Para as primeiras espécies desta ordem até *E. punctata*, com capacidade máxima de retenção da ordem de 12 vezes (Figura 17), essa retenção resultou em teores de Cd na PA inferiores a 10 mg kg^{-1} pelo menos até a mistura com 10% de SC (Figura 16). A partir desta mistura, algumas espécies sofreram um acréscimo acentuado no teor desse metal na PA, possivelmente devido à perda da capacidade de impedir a absorção e translocação deste metal para a PA. O restante das espécies já apresentavam teores próximos ou superiores a 10 mg kg^{-1} na mistura com 10% de SC, o que pode ter sido a causa da redução do

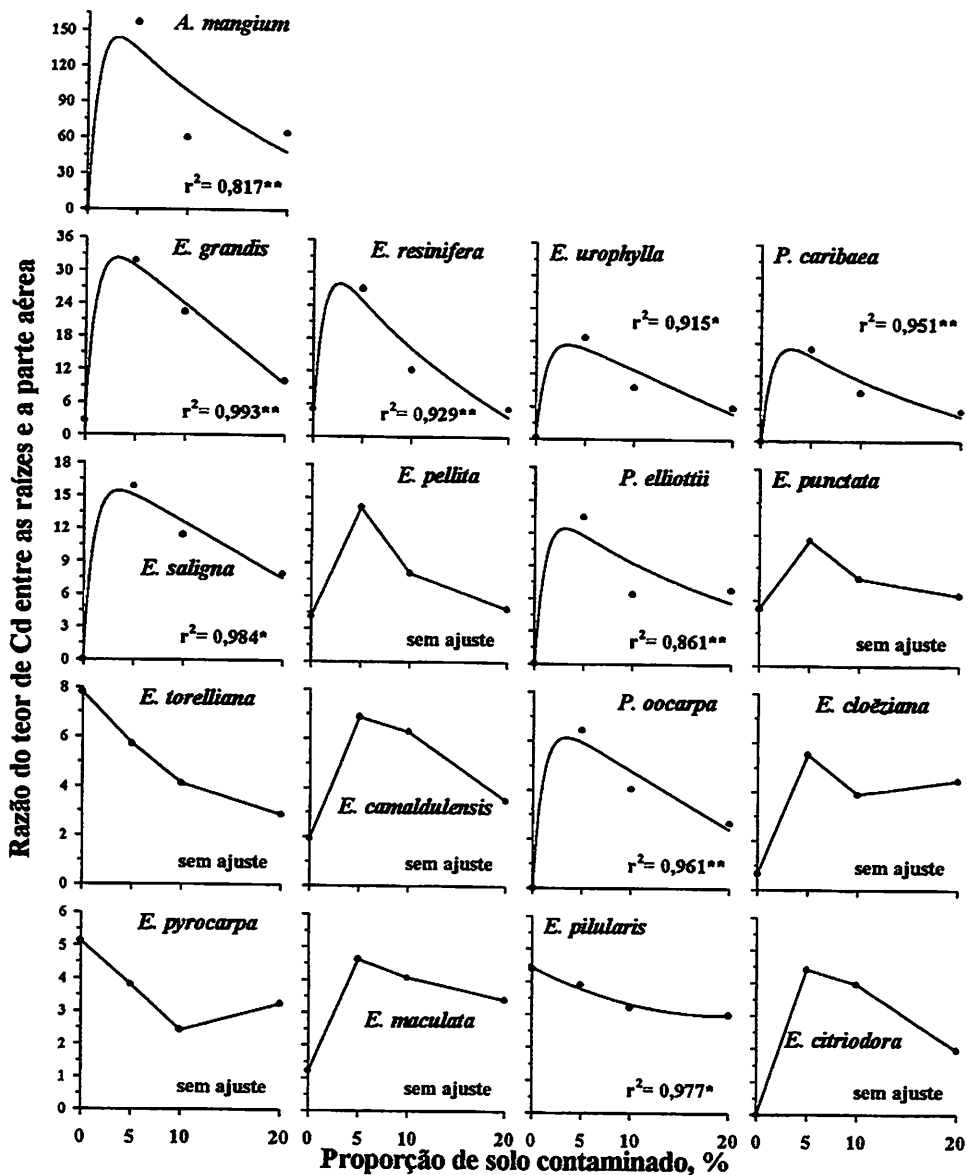


Figura 17. Razão do teores de Cd entre as raízes e a parte aérea de *Eucalyptus* spp, *Pinus* spp e *Acacia mangium* em mistura com proporções crescentes de solo contaminado.

crescimento e sintomas de toxidez das espécies sensíveis e muito sensíveis. Estes resultados novamente indicam as diferenças de mecanismos entre as espécies consideradas tolerantes, pois a *A. mangium* e o *E. grandis* se destacam por apresentarem maior R/PA máxima, o que explica seus baixos teores de Cd na PA e condição de tolerantes. Já os *E. torelliana* e *E. citriodora* apresentam as R/PA máximas baixas, o que explica seus altos teores de Cd na PA; contudo, também foram consideradas tolerantes. A diferença na capacidade máxima de retenção de Cd nas raízes em relação a PA da *A. mangium*, de 144 vezes, para, por exemplo, a segunda maior o *E. grandis*, de 32 vezes, pode explicar a maior tolerância da *A. mangium* em relação a todas as demais, e assim confirmar essa classificação de tolerante proposta no item 3.2.

A contaminação do solo por metais pesados aumentou ($P > 0,01$) os teores de Pb na PA e raízes de todas espécies, porém também de forma diferenciada (Figuras 18 e Tabela 7). Na PA para o *E. grandis* o aumento foi linear, enquanto em outras espécies com a elevação da contaminação, inicialmente o teor de Pb aumentou até atingir um máximo e reduziu nas contaminações mais elevadas, sugerindo que a absorção ou translocação tenha reduzido (Figura 18). Para o *E. maculata*, *E. camaldulensis*, *E. cloëziana* e *E. grandis* o aumento foi acentuado até na mistura com 5% de SC e sempre crescente, sem atingir um máximo. Para as demais espécies, *P. caribaea*, *P. elliottii*, *P. oocarpa* e a *A. mangium*, o teor de Pb na PA decresceu em relação ao controle nas contaminações mais baixas, seguido de um aumento acentuado também sem atingir a um máximo, o que indica que nessas espécies a absorção ou translocação é menor nas contaminação mais baixas.

Os teores máximos de Pb na PA observados variaram de 5,3 para *E. cloëziana* a 12,3 mg kg⁻¹ para *E. citriodora* (Figura 18), valores estes muito inferiores à faixa de 30 a 300 mg kg⁻¹, considerada tóxica para várias espécies (Kabata-Pendias e Pendias, 1985), e ao NCT observado em solução nutritiva

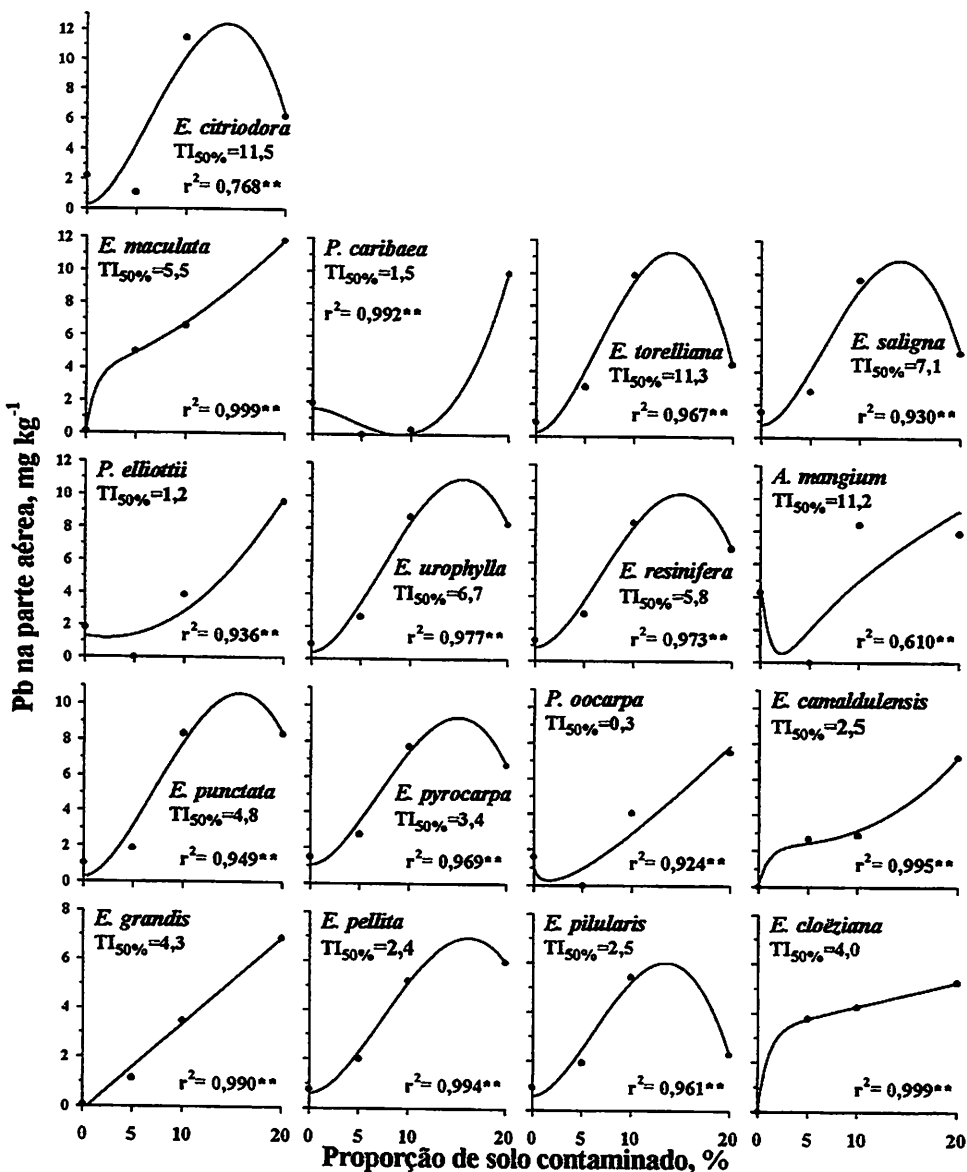


Figura 18. Teores de Pb na parte aérea de *Eucalyptus* spp, *Pinus* spp e *Acacia mangium* em misturas com proporções crescentes de solo conataminado. TI_{50%} = teor do metal na parte aérea da planta na proporção de solo contaminado necessário para reduzir o crescimento em 50%.

Tabela 7. Teores de Pb nas raízes de *Eucalyptus* spp, *Acacia mangium* e *Pinus* spp em misturas com proporções crescente de solo contaminado por metais pesados

| Espécie | Proporção de solo contaminado, % | | | | Equação de regressão | r ² |
|-------------------------|----------------------------------|--------|----------|----------|--|----------------|
| | 0 | 5 | 10 | 20 | | |
| | ----- mg kg ⁻¹ ----- | | | | | |
| <i>E. cloëziana</i> | 2,5 a ^{1/} | 25,7 a | 22,6 d | 39,3 bcd | $y=17,462+1,0121x-14,982e^{-x}$ | 0,941** |
| <i>E. maculata</i> | 2,0 a | 26,2 a | 54,5 a | 43,0 abc | $y=0,8644+4,4,4852x^{1,5}-0,8970x^2$ | 0,994** |
| <i>E. camaldulensis</i> | 0,7 a | 21,0 a | 35,2 bc | 39,0 bcd | $y=0,5637+4,9353x-0,1504x^2$ | 0,999** |
| <i>E. grandis</i> | 1,3 a | 22,4 a | 32,1 bcd | 40,5 abc | $y=2,0438+8,9208x^{0,5}$ | 0,993** |
| <i>E. pellita</i> | 4,5 a | 23,1 a | 26,5 cd | 28,0 d | $y=25,934-21,481e^{-x}$ | 0,967** |
| <i>E. pilularis</i> | 1,1 a | 17,6 a | 31,0 cd | 41,4 abc | $y=0,8541+3,9231x-0,09460x^2$ | 0,999** |
| <i>E. punctata</i> | 1,0 a | 23,5 a | 28,6 cd | 47,3 abc | $y=14,232+1,6232x-13,190e^{-x}$ | 0,995** |
| <i>E. pyrocarpa</i> | 1,2 a | 25,3 a | 25,2 cd | 43,8 abc | $y=23,377+0,01127x^{2,5}-22,211e^{-x}$ | 0,994** |
| <i>E. resinifera</i> | 1,5 a | 24,2 a | 36,6 bc | 38,6 cd | $y=1,6841+5,2261x-0,1391x^2$ | 0,999** |
| <i>E. torelliana</i> | 1,1 a | 25,7 a | 43,5 ab | 40,9 abc | $y=0,6391+6,3650x-0,2173x^2$ | 0,997** |
| <i>E. urophylla</i> | 1,3 a | 14,5 a | 27,9 cd | 40,7 abc | $y=1,4999+1,8170x^{1,5}-0,3085x^2$ | 0,999** |
| <i>E. saligna</i> | 1,7 a | 23,0 a | 33,1 bcd | 51,3 ab | $y=0,3211+10,918x^{0,5}$ | 0,990** |
| <i>E. citriodora</i> | 2,0 a | 23,6 a | 49,4 a | 43,1 abc | $y=1,6297+2,5377x^{1,5}-0,1037x^{2,5}$ | 0,999** |
| <i>A. mangium</i> | 4,7 a | 21,5 a | 30,8 cd | 51,6 a | $y=7,2714+2,2740x$ | 0,985** |
| <i>P. oocarpa</i> | 0,4 a | 12,5 a | 25,2 ab | 59,7 a | $y=0,3226+0,09684x^2+4,6342x^{0,5}$ | 0,999** |
| <i>P. elliottii</i> | 0,9 a | 7,9 a | 18,8 b | 51,0 b | $y=1,0405+0,1419x+0,5263x^{1,5}$ | 0,999** |
| <i>P. caribaea</i> | 2,4 a | 13,0 a | 28,1 a | 44,9 b | $y=2,0607+1,6030x^{1,5}-0,2512x^2$ | 0,999** |

1/ As médias seguidas pela mesma letra nas colunas, dentro de cada experimento, não diferem entre si, em nível de 5%, pelo teste de Tukey.

para *E. maculata*, de 84,2 mg kg⁻¹, e *E. urophylla*, de 104,8 mg kg⁻¹ (Soares, 1999). Indicando assim que este metal não atingiu teores tóxicos na PA para essas espécies, o que concorda com os menores teores deste metal no solo em todas as misturas de solo (Tabela 1) em relação à faixa considerada tóxica para este metal, que é de 100-400 mg kg⁻¹ de solo (Kabata-Pendias e Pendias, 1985). Os TI_{50%} de Pb variaram de 11,5 mg kg⁻¹ para o *E. citriodora* a 0,3 mg kg⁻¹ para o *P. oocarpa* (Figura 18). É interessante que, apesar de não ter atingido valores tóxicos na PA, os maiores TI_{50%} para esse metal foram nas espécies consideradas tolerantes e moderadamente tolerantes, exceto para o *E. grandis*, que apresentou um baixo TI_{50%}. Esse comportamento do *E. grandis* também foi observado para o Cd, o que reforça a hipótese de que o mecanismo de tolerância a metais nesta espécie pode ocorrer, pelo menos em parte, pela exclusão do metal da PA.

Nas raízes, o aumento nos teores de Pb foi muito acentuado já na mistura com 5% de SC e, em geral, progrediu de forma menos acentuada nas misturas de solo com proporção de SC maiores (Tabela 7). O aumento nos teores de Pb nas raízes na mistura com 5% de SC em relação ao controle variou de 4,6 vezes para a *A. mangium* a 31,3 vezes para *P. oocarpa*. Na mistura com 20% de SC, os maiores teores de Pb nas raízes ocorreram na *A. mangium* (51,6 mg kg⁻¹) e no *E. grandis* (51,3 mg kg⁻¹), o que concorda com a maior tolerância dessas espécies, pois a tolerância das plantas aos metais pesados pode estar relacionada à capacidade das mesmas de reterem o metal nas raízes, evitando sua translocação para a PA (Baker, 1981). No entanto, estes valores são semelhantes aos observados para o *P. oocarpa* (59,7 mg kg⁻¹) e *P. elliottii* (51,0 mg kg⁻¹), e ao contrário, essas espécies foram consideradas muito sensíveis. Visto que os teores de Pb na PA em todas as espécies não atingiram faixas tóxicas, é provável que outro metal ou o efeito aditivo dos metais sejam responsáveis pela diferença de tolerância observada entre as espécies.

A contaminação do solo por metais pesados influenciou ($P > 0,01$) os teores de Cu na PA das plantas de forma diferenciada (Figuras 19). Para algumas espécies, os teor de Cu aumentou linear ou próximo a linear com a elevação da contaminação. Para *E. maculata*, *E. citriodora*, *P. oocarpa*, *E. cloëziana*, *E. grandis* e *E. saligna*, inicialmente o teor de Cd também aumentou, mas atingiu um máximo e reduziu nas contaminação mais elevadas, sugerindo que a absorção ou translocação tenha reduzido ou estabilizado. Em relação ao controle, esse aumento nos teores de Cu na PA variou de 1,1 vezes para ao *E. torelliana* a 3 vezes para o *P. caribaea*, aumento muito inferior ao teor do elemento observado no solo (Tabela 1), que foi de até 17 vezes, o que indica uma pequena relação entre o teor no solo e o observados na PA das plantas. Já para *E. pilularis*, o teor de Cu na PA diminuiu com a elevação da contaminação e para *E. pyrocarpa* e *A. mangium* não foi alterado (Figura 19). Nessas espécies, diminuição ou ausência de efeito no teor de Cu na PA com a elevação da contaminação, e conseqüente elevação nos teores de Cu no solo (Tabela 1), sugerem que as mesmas possuem mecanismos que impedem a absorção ou translocação do metal para a PA. Contudo, a tendência de aumento ou redução e ainda ausência de efeito para o teor de Cu na PA com a elevação da contaminação não se relacionou com a tolerância das espécies, pois podemos observar espécies tolerantes e sensíveis com o mesmo comportamento (Figura 19).

Os maiores teores de Cu observados na PA das plantas nos tratamentos com solo contaminado variaram de 5,14 mg kg⁻¹ para a *A. mangium* na mistura com 5% de SC a 15,4 mg kg⁻¹ para o *E. maculata* na mistura com 14,1%. Estes valores encontram-se dentro da faixa de 5 a 30 mg kg⁻¹ considerada tóxica (Kabata-Pendias e Pendias, 1985). No entanto, os teores de Cu na PA só foram superiores ou próximos aos NCT em solução nutritiva, de 12,2 mg kg⁻¹ para o *E. maculata* e de 13,0 mg kg⁻¹ para o *E. urophylla* (Soares, 1999), para o *E.*

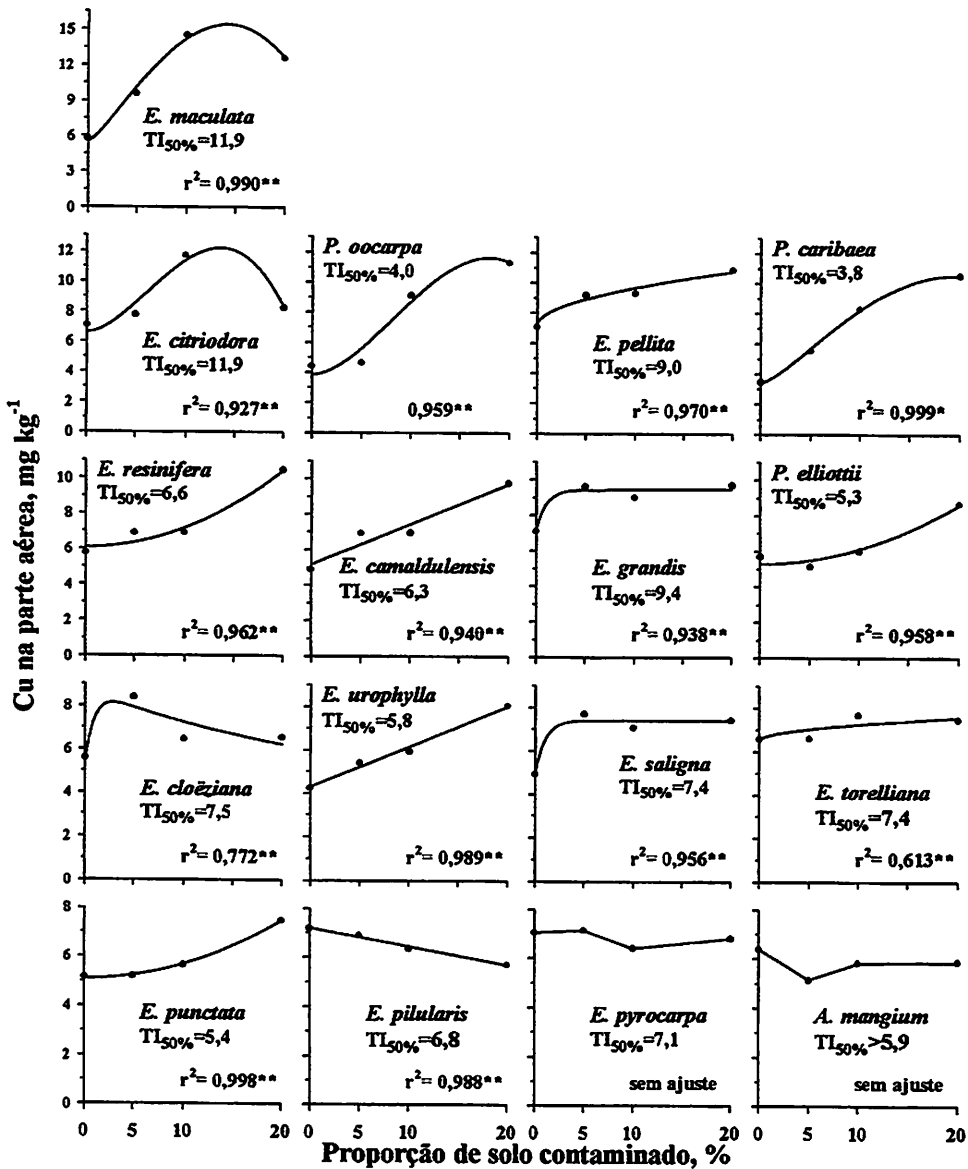


Figura 19. Teores de Cu na parte aérea de *Eucalyptus* spp, *Pinus* spp e *Acacia mangium* em misturas com proporções crescentes de solo conataminado. TI_{50%} = teor do metal na parte aérea da planta na proporção de solo contaminado necessário para reduzir o crescimento em 50%.

maculata e o *E. citriodora*. Assim, podemos considerar que, para as espécies de *Eucalyptus*, o Cu só atingiu níveis tóxicos para o *E. maculata*, espécie sensível, visto que o *E. citriodora* foi considerado tolerante e já apresentou essa característica de concentrar maiores quantidades de metais na PA do que as demais espécies. Em *P. resinosa*, a adição de 4 e 20 mg L⁻¹ na solução nutritiva reduziu o crescimento em relação ao controle em 72 e 52%, respectivamente (Heale e Ormorod, 1982), e os teores de Cu na PA foram de 49,4 mg kg⁻¹ para a menor concentração de Cu na solução e de 270,9 mg kg⁻¹ para a maior concentração. Kukkola et al. (1997) só observaram injúrias visíveis, tipo clorose e necrose das pontas das acículas de *Pinus silvestris*, quando os teores nas acículas foram superiores a 110 mg kg⁻¹. Estes resultados indicam que os teores de Cu na PA dos *Pinus*, que variaram de 8,68 mg kg⁻¹ para o *P. elliottii* a 11,28 mg kg⁻¹ para o *P. oocarpa* na maior PSC, não atingiram o NCT nessas espécies. Para a *A. mangium*, o mesmo deve ter ocorrido, pois o maior teor de Cu foi observado no controle, e apresentou tendência de redução nos tratamentos com solo contaminado. Assim, os teores de Cu na PA só devem ter atingido níveis tóxicos para o *E. maculata*, apesar dos teores de Cu no solo (Tabela 1) serem nas misturas com 10 e 20% de SC, até mesmo superiores à faixa de 60 a 125 mg kg⁻¹, considerada tóxica no solo para várias espécies por Kabata-Pendias e Pendias (1985), indicando que essas arbóreas são bastante tolerantes ao Cu. É interessante observar que apesar dos NCT observados por Soares (1999) para *E. maculata* e *E. urophylla* serem muito próximos (12,2 e 13,0 mg kg⁻¹, respectivamente), somente o *E. maculata* atingiu esses valores, enquanto em *E. urophylla* o teor máximo de Cu na PA foi de aproximadamente 8 mg kg⁻¹ na mistura com maior proporção de SC. Isto pode ser explicado pelas doses críticas de toxidez de 3,3 µM para o *E. maculata* e de 8,3 µM para o *E. urophylla*, indicando que essa última espécie necessita de concentrações no solo superiores para atingir os mesmos teores de Cu na PA do que a *E. maculata*. Os TI_{50%} para

Cu variaram de 3,8 mg kg⁻¹ para o *P. caribaea* a 11,9 mg kg⁻¹ para o *E. maculata* e *E. torelliana* (Figura 19) e, como demonstra esse último resultado, não se relacionou com a tolerância das espécies, pois o *E. torelliana* foi considerado tolerante e o *E. maculata* sensível. Além disso, o *E. maculata* foi a única espécie que apresentou indicativos de possuir o Cu na PA em níveis fitotóxicos. Esta ausência de relação da tolerância com o TI_{50%} pode ser explicada pelos indicativos de que o Cu não se encontrava em níveis tóxicos para a maioria das espécies.

A contaminação do solo por metais pesados aumentou ($P > 0,01$) os teores de Cu nas raízes das plantas (Tabela 8), e isto foi dependente da espécies e do nível de contaminação. Ao contrário dos teores de Cu na PA, que nem sempre aumentaram e foram no máximo 3 vezes maiores do que o controle, nas raízes o teor desse elemento aumentou com a elevação da contaminação em todas as espécies. Esse aumento já foi muito acentuado na mistura com 5% de SC e, para a maioria das espécies, atingiu maiores valores na mistura com maior proporção de SC. Os teores de Cu nas raízes na mistura com 20% de SC variaram de 112,7 mg kg⁻¹ para o *E. pellita* a 719,7 mg kg⁻¹ para a *A. mangium*, valor este que corresponde a 35 vezes maior do que o teor observado no controle. A *A. mangium*, única espécie considerada tolerante, foi aquela que apresentou maiores teores de Cu nas raízes em todas as misturas com solo contaminado, resultado semelhante aos já observados para os outros metais neste trabalho. Isto sugere que o mecanismo de tolerância desta espécie aos metais pesados está relacionado à capacidade desta de reter os metais nas raízes. Entre os *Eucalyptus*, o *E. saligna* foi aquele que apresentou maior teor de Cu nas raízes (208,1 mg kg⁻¹). Como essa espécie foi considerada sensível, isto indica ausência de relação entre os teores nas raízes e a tolerância, o que concorda novamente com a condição de não ter atingido níveis fitotóxicos nas condições estudadas. O *E. maculata*, considerado como único a apresentar teores em níveis

Tabela 8. Teores de Cu nas raízes de *Eucalyptus* spp, *Acacia mangium* e *Pinus* spp em misturas com proporções crescentes de solo contaminado por metais pesados

| Espécie | Proporção de solo contaminado, % | | | | Equação de regressão | r ² |
|-------------------------|----------------------------------|-----------|----------|-----------|--|----------------|
| | 0 | 5 | 10 | 20 | | |
| <i>E. cloëziana</i> | 10,2 a ¹ | 136,7 bc | 94,9 d | 179,4 bc | y=94,784+3,6307x-84,387e ^{-x} | 0,869** |
| <i>E. maculata</i> | 12,4 a | 153,8 b | 263,1 b | 161,1 bcd | y=13,367-23,112x ^{1,5} -4,7990x ² | 0,999** |
| <i>E. camaldulensis</i> | 8,8 a | 95,5 bcd | 140,4 cd | 136,8 cd | y=8,2504+29,111x-5,0696x ^{1,5} | 0,999** |
| <i>E. grandis</i> | 9,8 a | 127,9 bc | 156,9 cd | 188,4 bc | y=112,93+3,8635x-103,20e ^x | 0,998** |
| <i>E. pellita</i> | 16,3 a | 141,6 bc | 122,3 cd | 112,7 d | y=125,74-109,32e ^x | 0,951** |
| <i>E. pilularis</i> | 11,0 a | 100,3 bcd | 112,1 cd | 185,2 bc | y=92,444+0,2303x ² -81,3837e ^{-x} | 0,999** |
| <i>E. punctata</i> | 10,3 a | 118,6 bcd | 104,7 cd | 161,6 bcd | y=107,39+0,02930x ^{2,5} -97,049e ^{-x} | 0,979** |
| <i>E. pyrocarpa</i> | 9,8 a | 121,7 bcd | 100,9 d | 179,7 bc | y=101,94+0,1846x ² -91,985e ^{-x} | 0,957** |
| <i>E. resinifera</i> | 11,7 a | 107,7 bcd | 166,8 c | 147,7 bcd | y=11,001+24,022x-0,8587x ² | 0,999** |
| <i>E. torrelliana</i> | 10,7 a | 85,6 cd | 142,6 cd | 143,3 cd | y=10,037+16,681x-0,1119x ^{2,5} | 0,999** |
| <i>E. urophylla</i> | 9,6 a | 58,0 cd | 103,1 cd | 151,5 bcd | y=10,938+6,3430x ^{1,5} -1,0677x ² | 0,999** |
| <i>E. saligna</i> | 10,8 a | 104,0 bcd | 143,7 cd | 208,1 b | y=72,282+6,8427x-61,457e ^x | 0,999** |
| <i>E. citriodora</i> | 11,9 a | 113,0 bcd | 251,6 b | 139,4 cd | y=13,655+7,4073x ² -1,5861x ^{2,5} | 0,999** |
| <i>A. mangium</i> | 20,6 a | 262,4 a | 483,0 a | 719,7 a | y=18,264+52,094x-0,1900x ^{2,5} | 0,999** |
| <i>P. oocarpa</i> | 13,0 a | 96,8 a | 134,7 ab | 327,0 a | y=77,649+0,6209x ² -64,610e ^{-x} | 0,999** |
| <i>P. elliotii</i> | 13,8 a | 74,0 a | 98,7 b | 241,1 b | y=58,708+0,4534x ² -44,876e ^{-x} | 0,998** |
| <i>P. caribaea</i> | 16,0 a | 87,4 a | 144,0 a | 235,8 a | y=15,180+1,0263x ^{1,5} +29,0477x ^{0,5} | 0,998** |

1/ As médias seguidas pela mesma letra nas colunas, dentro de cada experimento, não diferem entre si, em nível de 5%, pelo teste de Tukey.

tóxicos na PA, também apresentou grande capacidade de concentrar Cu nas raízes (Tabela 8), chegando a apresentar o segundo maior teor do elemento ($263,1 \text{ mg kg}^{-1}$) na mistura com 10% de SC, indicando que essa espécie, apesar de acumular o Cu nas raízes, não foi completamente eficiente em impedir sua translocação para a PA. Entre os *Pinus*, os teores de Cu nas raízes na mistura com maior proporção de SC variou de $235,8 \text{ mg kg}^{-1}$ para o *P. caribaea* a $327,0 \text{ mg kg}^{-1}$ para o *P. oocarpa*, sendo que, em geral, o *P. elliottii* foi o que apresentou menores teores nas raízes (Tabela 8), bem como na PA (Figura 19).

3.5. Consideração gerais

A elevação da contaminação do solo por metais pesados também influenciou ($P > 0,05$) os teores dos macronutrientes e demais micronutrientes, sendo este efeito, em geral, dependente da espécie e do nível de contaminação (Anexo). No entanto, as alterações nos teores na PA e raízes das plantas dos macronutrientes e os micronutrientes que não são contaminantes do solo não contribuíram para explicar as reduções de crescimento e diferenças de comportamento observadas entre as espécies com a elevação da contaminação, mesmo para o Fe, cuja fitotoxidez causada por metais pesados, geralmente provoca a deficiência induzida desse elemento. No entanto, isto também não foi observado no presente trabalho. Assim, esses dados não foram apresentados.

A elevação da contaminação do solo por metais, em geral, não influenciou o teor de Fe na PA ou este foi até mesmo aumentado, em destaque para os *Pinus* (Tabela 15A). Este resultado, bem como o fato de que os teores de Fe na PA, que variaram de 64 mg kg^{-1} para o *E. saligna* a $246,5 \text{ mg kg}^{-1}$ para o *E. pellita*, encontravam-se dentro ou acima da faixa de 39 a 104 mg kg^{-1} considerada adequada para o crescimento de várias espécies de *Eucalyptus* (Dell, 1994; Dell e Daping, 1995; Dell, Malajczuk e Grove, 1995), e indicam que os teores de Fe não estavam em níveis de deficiência como sugerido pelos

sintomas nas folhas e descrito por vários autores (Breckle e Kahle, 1992; Gussarsson et al., 1996; Marques, Moreira e Siqueira, 2000; Soares, 1999). Soares (1999) observou que a elevação da concentração de Zn na solução nutritiva reduziu teores de Fe na PA de *E. maculata* e *E. urophylla*; assim, o autor propôs que parte da fitotoxicidade de Zn é causada pela deficiência induzida de Fe. No entanto, este efeito não foi evidenciado para Cu, Cd e Pb.

É possível que os sintomas de clorose causados pela elevação da contaminação, geralmente relacionados à deficiência induzida de Fe, possam ser um reflexo, não na redução dos teores deste micronutriente, como verificado no presente estudo, mas sim de desequilíbrios no balanço de Fe e metal pesado, causado pela elevação dos teores de metais na PA (Tabela 9). Por exemplo, a razão Fe/Zn na PA reduziu de valores que variaram entre 3,3 a 9,9 no controle (sem contaminação) para valores de zero a 0,4 na mistura com 20% de SC, redução esta da ordem de 50 vezes para a *A. mangium*. É interessante observar que a *A. mangium*, espécie considerada tolerante, apresentou maior razão Fe/Zn na PA do que as demais espécies em todas as misturas estudadas. Além da *A. mangium*, o *E. torelliana* também apresentou maior razão Fe/Zn na PA que outras espécies menos tolerantes, na mistura com 20%. Maiores razões de Fe/Cd na PA também demonstram alguma relação com a tolerância das espécies e até mesmo com a estratégia utilizada pelas espécies quanto ao mecanismo de tolerância. A *A. mangium* e o *E. grandis*, espécies tolerantes que demonstraram capacidade de reter o Cd nas raízes, foram aquelas que mantiveram maior razão Fe/Cd na PA, e o *E. citriodora*, que concentrou Cd na PA, teve as menores razões. Assim, estes resultados reforçam a hipótese dos sintomas de fitotoxicidade observados serem resultantes dos desequilíbrio da razão nutriente e metal contaminante, principalmente aqueles nutrientes que geralmente estão relacionados com problemas de contaminação por metais pesados, como é o caso do Fe.

Tabela 9. Razão entre o teor de Fe com Zn e Cd na parte aérea de *Eucalyptus* spp, *Acacia mangium* e *Pinus* spp em misturas com proporções crescente de solo contaminado por metais pesados

| Espécies | Proporção de solo contaminado, % | | | | Proporção de solo contaminado, % | | | |
|-------------------------|----------------------------------|-----|-----|-----|----------------------------------|------|------|------|
| | 0 | 5 | 10 | 20 | 0 | 5 | 10 | 20 |
| | Fe/Zn | | | | Fe/Cd | | | |
| <i>E. cloëziana</i> | 3,3 | 0,2 | 0,1 | 0,1 | - | 7,9 | 6,9 | 5,9 |
| <i>E. maculata</i> | 3,9 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | - | 5,3 | 3,2 | 4,7 |
| <i>E. camaldulensis</i> | 4,9 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 1652,3 | 4,9 | 6,8 | 7,2 |
| <i>E. grandis</i> | 7,1 | 0,3 | 0,2 | 0,1 | 1496,5 | 63,0 | 28,4 | 16,1 |
| <i>E. pellita</i> | 7,0 | 0,3 | 0,2 | 0,1 | 1544,0 | 36,5 | 19,3 | 9,5 |
| <i>E. pilularis</i> | 7,0 | 0,2 | 0,2 | 0,1 | 349,2 | 7,5 | 9,9 | 3,6 |
| <i>E. punctata</i> | 4,2 | 0,2 | 0,1 | 0,1 | 688,9 | 17,3 | 16,3 | 8,1 |
| <i>E. pyrocarpa</i> | 3,8 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 405,6 | 5,3 | 5,9 | 4,3 |
| <i>E. resinifera</i> | 8,9 | 0,2 | 0,1 | 0,0 | 2491,1 | 27,8 | 15,9 | 3,4 |
| <i>E. torelliana</i> | 5,5 | 0,4 | 0,2 | 0,2 | 815,9 | 19,4 | 11,2 | 10,8 |
| <i>E. urophylla</i> | 3,9 | 0,4 | 0,2 | 0,1 | 745,1 | 65,9 | 22,0 | 12,7 |
| <i>E. saligna</i> | 4,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 310,9 | 22,5 | 11,0 | 5,2 |
| <i>E. citriodora</i> | 4,5 | 0,2 | 0,1 | 0,1 | 396,1 | 9,6 | 6,5 | 4,2 |
| <i>A. mangium</i> | 9,9 | 0,4 | 0,4 | 0,2 | 587,8 | 51,7 | 29,4 | 15,5 |
| <i>P. oocarpa</i> | 7,1 | 0,3 | 0,2 | 0,1 | 345,9 | 19,6 | 15,5 | 6,4 |
| <i>P. elliottii</i> | 4,3 | 0,6 | 0,4 | 0,4 | 297,9 | 52,3 | 29,2 | 18,2 |
| <i>P. caribaea</i> | 6,4 | 0,6 | 0,5 | 0,2 | 558,4 | 59,5 | 34,3 | 17,8 |

O resumo das respostas das espécies apresentado no Tabela 10, evidencia as diferenças de comportamento das espécies nas misturas com SC. Observa-se que entre as 17 arbóreas estudadas, somente *A. mangium*, *E. torelliana*, *E. citriodora* e *E. pellita* sobreviveram em todas as misturas estudadas. Destas as duas primeiras apresentaram poucos sintomas de toxidez, enquanto as outras duas tiveram intensidade de sintomas intermediária. Quanto ao crescimento relativo, *A. mangium*, *E. torelliana*, *E. citriodora* e *E. grandis* foram as menos influenciadas, com destaque para a *A. mangium*. Assim, essas espécies, principalmente *A. mangium*, *E. torelliana* e *E. citriodora*, pelo fato de serem aquelas menos afetadas pela contaminação, podem ser promissoras na revegetação de área contaminadas por vários metais, desde que outros métodos de amenização da fitotoxidez sejam adotados simultaneamente, tais como associação com microrganismos simbiotes, adição de matéria orgânica e corretivos de solo para amenizar a fitotoxicidade dos metais.

As espécies arbóreas, principalmente as de crescimento rápido, como os *Eucalyptus* e *A. mangium*, são interessantes para a fitoestabilização de áreas contaminadas pelo fato de propiciarem grande biomassa e reterem metais, imobilizando-os em compartimentos inativos metabolicamente por um longo período de tempo. Além disso, essas espécies podem propiciar algum retorno econômico.

Os resultados demonstraram, que as espécies apresentaram comportamento diferenciado quanto aos teores de metais na PA, considerando que nas contaminações mais elevadas em todas as espécies, em geral, os teores de Zn e Cd na PA atingiram níveis tóxicos, o que não ocorreu para Pb e Cu, conforme estabelecido por Soares (1999). Assim, para essas espécies, observa-se que a *A. mangium* e o *E. grandis* retiveram os metais nas raízes de maneira a restringir a translocação deste para a PA (Tabela 10). Para o *E. citriodora*, a

Tabela 10. Resumo das respostas das espécies à contaminação quanto à intensidade de sintomas (Sint.), sobrevivência (Sobr.), crescimento relativo (CR) e teores de metais na parte aérea e raízes

| Espécies | Sint. | Sobr. | CR | Zn | | | Cd | | | Pb | | Cu | |
|-------------------------|-------|-------|-----|-----|-----|------|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|
| | | | | PA | R | R/PA | PA | R | R/PA | PA | R | PA | R |
| <i>E. cloëziana</i> | +++ | -- | --- | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | + | + | + | + | + |
| <i>E. maculata</i> | ++ | - | --- | +++ | ++ | + | +++ | +++ | + | ++ | +++ | +++ | +++ |
| <i>E. camaldulensis</i> | ++ | - | --- | ++ | + | ++ | ++ | ++ | + | + | +++ | ++ | ++ |
| <i>E. grandis</i> | ++ | - | -- | ++ | ++ | +++ | + | ++ | ++ | + | +++ | ++ | ++ |
| <i>E. pellita</i> | ++ | o | --- | +++ | ++ | + | + | ++ | + | ++ | ++ | +++ | ++ |
| <i>E. pilularis</i> | +++ | --- | --- | ++ | +++ | +++ | ++ | + | + | ++ | ++ | + | ++ |
| <i>E. punctata</i> | +++ | --- | --- | ++ | ++ | ++ | + | + | + | ++ | ++ | + | ++ |
| <i>E. pyrocarpa</i> | +++ | --- | --- | ++ | ++ | ++ | ++ | + | + | ++ | ++ | + | + |
| <i>E. resinifera</i> | +++ | - | --- | +++ | +++ | ++ | + | ++ | ++ | ++ | +++ | ++ | ++ |
| <i>E. torelliana</i> | + | o | -- | ++ | + | + | ++ | ++ | + | ++ | +++ | ++ | ++ |
| <i>E. urophylla</i> | +++ | -- | --- | ++ | ++ | ++ | + | + | + | ++ | ++ | + | ++ |
| <i>E. saligna</i> | ++ | -- | --- | ++ | ++ | ++ | + | + | ++ | ++ | +++ | ++ | ++ |
| <i>E. citriodora</i> | ++ | o | -- | +++ | +++ | + | +++ | ++ | + | +++ | +++ | +++ | +++ |
| <i>A. mangium</i> | + | o | - | + | +++ | +++ | + | +++ | +++ | ++ | ++ | + | +++ |
| ----- | | | | | | | | | | | | | |
| <i>P. oocarpa</i> | +++ | --- | --- | ++ | ++ | ++ | ++ | + | + | + | ++ | +++ | ++ |
| <i>P. elliotii</i> | ++ | - | --- | + | ++ | +++ | + | + | + | + | + | ++ | + |
| <i>P. caribaea</i> | ++ | -- | --- | + | ++ | +++ | + | + | + | + | ++ | ++ | ++ |

1/ Sinais positivos = aumento; o = ausência de efeito; Sinais negativos = redução; Um sinal = pouco efeito; dois sinais = efeito intermediário; Três sinais = muito efeito;

2/ Os sinais são comparativos somente entre espécies dentro de cada variável;

capacidade de retenção dos metais nas raízes foi mais baixa e os teores na PA mais elevados, indicando que essa espécie possui mecanismo de destoxificação dos metais na PA (Salt, Smith e Raskin, 1998). Já para o *E. torelliana*, uma terceira estratégia de tolerância pode ter ocorrido, pois esta espécie apresentou baixos teores e baixa capacidade de retenção de Zn e Cd, metais que atingiram níveis tóxicos nas plantas, indicando restrição da absorção destes metais, o que concorda com a pequena intensidade de sintomas observados nessa espécie (Figura 7). As plantas com este mecanismo de tolerância são consideradas “excluseras” (Baker, 1981). Mesmo entre as demais espécies consideradas sensíveis, observa-se grande variação de resposta à contaminação (Tabela 10). Essa diversidade de resultados e comportamentos demonstra a dificuldade de explicar a redução do crescimento e comportamento de espécies vegetais em solo contaminado por vários metais pesados.

A colonização micorrízica aumentou em algumas espécies nas misturas com contaminação mais baixa, mas reduziu naquelas com contaminação elevada (Figura 12 e 13). A colonização ectomicorrízica foi mais elevada na *A. mangium* e *E. grandis* em alta contaminação, fato este que pode ter contribuído para a maior tolerância destas espécies, que apresentaram elevada retenção de metais nas raízes. Como preconizado para várias espécies arbóreas (Brown e Wilkins, 1985; Jones, Browning e Hutchinson, 1986; Jones e Hutchinson, 1986; Aggangan, Dell e Malajczuk, 1998), as ectomicorrizas podem estar contribuindo para esta tolerância.

Os *Pinus* apresentaram elevada capacidade de retenção de Zn nas raízes (Tabela 10) e chegaram até mesmo a apresentar teores Cd na PA na PI_{50%} abaixo dos níveis tóxicos. No entanto, as espécies aqui estudadas mostraram-se sensíveis à contaminação, não corroborando outros estudos que indicaram ser o *Pinus* tolerante ao excesso de metais pesados no substrato de crescimento (Mitchell e Fretz, 1977; Heale e Ormorod, 1982; Patterson e Olson, 1983;

Arduini, Godbold e Onnis, 1996). Deve-se ressaltar que as espécies aqui estudadas são diferentes daquelas estudadas pelos autores acima citados. Os resultados para as espécies de *Pinus* indicam a baixa adequabilidade destas para a revegetação de áreas contaminadas por metais pesados. Para os *Eucalyptus*, considerando as características de crescimento rápido, capacidade de associarem-se a fungos ectomicorrízicos e MA, grande distribuição geográfica e plasticidade fenotípica, pelo menos as espécies mais tolerantes, *E. torelliana*, *E. citriodora* e *E. grandis*, são promissoras para a formação de maciços florestais em áreas contaminadas em regiões tropicais.

4. CONCLUSÕES

O crescimento das espécies reduziu de forma diferenciada com a elevação da contaminação do solo por metais pesados.

O *Eucalyptus torelliana* e *Acacia mangium* apresentaram elevada sobrevivência e menor intensidade de sintomas de fitotoxidez.

A *Acacia mangium* foi a única espécie categorizada como tolerante. O *Eucalyptus torelliana*, *Eucalyptus citriodora* e *Eucalyptus grandis* foram considerados moderadamente tolerantes, e as demais espécies de *Eucalyptus* como sensíveis. As três espécies de *Pinus* estudadas mostraram-se muito sensíveis aos metais pesados.

A colonização ectomicorrízica foi reduzida também de forma diferenciada em todas as espécies em função da contaminação.

Ocorreu maior retenção dos metais nas raízes em relação à parte aérea em todas as espécies, sendo esta diferença envolvida na tolerância de algumas espécies.

A absorção de Zn e Cd aumentou proporcionalmente à elevação da contaminação do solo, atingindo níveis tóxicos nas plantas, e relacionou-se com a redução no crescimento.

A tolerância das espécies envolve mecanismos diferentes. Na *Acacia mangium* e *Eucalyptus saligna* houve maior retenção dos metais nas raízes, no *E. citriodora* houve baixa concentração na parte aérea e no *E. torelliana* houve exclusão dos metais pelas raízes.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABOUELDHAIR, K.S. Influence of cadmium on the growth of *Casuarina glauca*, *Eucalyptus camaldulensis* and *Cupressus semprevirens* seedlings grown in soil containing vesicular arbuscular mycorrhizae spores. *Alexandria Journal of Agricultural Research*, v.38, n.1, p.229-241, 1993.
- AGGANGAN, N.S.; DELL, B.; MALAJCZUK, N. Effects of chromium and nickel on growth of the ectomycorrhizal *Pisolithus* and formation of ectomycorrhizas on *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake. *Geoderma*, Amsterdam, v.84, n.1-3, p.15-27, Jun. 1998.
- ARDUINI, I. Inquinamento da metalli pesanti e rinnovamento spontaneo del bosco, *Linea Ecologica*, n.5, Set./Ott., 1995.
- ARDUINI, I.; GODBOLD, D.L. & ONNIS, A. Cadmium and copper change root growth and morphology of *Pinus pinea* and *Pinus pinaster* seedling. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v.92, n.4, p.675-680, Dec. 1994.
- ARDUINI, I.; GODBOLD, D.L. & ONNIS, A. Cadmium and copper uptake and distribution in Mediterranean tree seedlings. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v.97, n.1, p.111-117, Oct. 1996.
- BAKER, A.J.M. Accumulators and excluders – strategies in the response of plants to heavy metals. *Journal of Plant Nutrition*, New York, v.3, n1-4, p.643-654, 1981.
- BAKER, A.J.M. Metal tolerance. *The New Phytologist*, Oxford, v.106, n.1, p.93-111, May 1987. (Supplement).

- BELL, R.; EVANS, C.S.; ROBERTS, E.R. Decreased incidence of mycorrhizal root tips associated with soil heavy-metal enrichment, *Plant and Soil*, The Hague, v.106, n.1, p.143-145, Feb. 1988.
- BORGEGÅRD, S.O.; RYDIN, H. Biomass, root penetration and heavy metal uptake in birch, in a soil cover over copper tailings. *Journal of Applied Ecology*, Oxford, v.26, n.2, p.585-595, Aug. 1989.
- BRECKLE, S.W.; KAHLE, H. Effects of toxic heavy metals (Cd, Pb) on growth and mineral nutrition of beech (*Fagus sylvatica* L.). *Vegetatio*, v.101, n.1, p.45-53, Jul. 1992.
- BROWN, M.T.; WILKINS, D.A. Zinc tolerance of mycorrhizal *Betula*. *The New Phytologist*, Oxford, v.99, n.1, p.101-106, Jan. 1985.
- BRUNDRETT, M.; BOUGHER, N.; DELL, B. GROVE, T.; MALAJCZUK, N. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. ACIAR Monograph, 1996. 374p.
- CLARK, R.B. Characterization of phosphatases of intact maize roots. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v.36, p.458-460, 1975.
- DELL, B. Copper nutrition of *Eucalyptus maculata* Hook. seedlings: Requirements for growth, distribution of copper and the diagnosis of copper deficiency. *Plant and Soil*, The Hague, v.167, n.2, p.181-187, Dec. 1994.
- DELL, B.; DAPING, X. Diagnosis of zinc deficiency in seedlings of a tropical eucalypti (*Eucalyptus urophylla* S. T. Blake), *Plant and Soil*, The Hague, v.176, n.2, p.329-332, Oct. 1995.
- DELL, B.; MALAJCZUK, N.; GROVE, T.S. Nutrient disorders in plantation eucalypts. Canberra, BPD Graphic Associates, 1995. 104p.
- DENNY, H.J.; WILKINS, D.A. Zinc tolerance in *Betula* spp.. I. Effect of external concentration on zinc on growth and uptake. *The New Phytologist*, Oxford, v.106, n.3, p.517-524, Jul. 1987.
- DIAZ, G; ZASOSKI, R.J.; HONRUBIA, M. Influence of arbuscular mycorrhizae on heavy metal (Zn and Pb) uptake growth of *Lygeum spartum* and *Anthyllis cystisoides*. *Plant and Soil*, The Hague, v.180, n.2, p.241-249, Mar. 1996.

- DICKINSON, N.M.; LEPP, N.W.; TURNER, A.P. How do trees and other long-lived plants survive in polluted environments? **Functional Ecology**, Oxford, v.5, p.5-11, 1991.
- DIXON, R.K.; BUSCHENA, C.A. Response of ectomycorrhizal *Pinus banksiana* and *Picea glauca* to heavy metals in soil. **Plant and Soil**, The Hague, v.105, n.2, p.256-271, 1988.
- ERNST, W.H.O.; VERKLEIJ, JAC; SCHAT, H. Metal tolerance in plants. **Acta Botanica Neerlandica**, Amsterdam, v.41, p.229-248, 1992.
- FREEDMAN, B.; HUTCHINSON, T.C. Pollutant inputs from the atmosphere and accumulations in soils and vegetation near a nickel-copper smelter at Sudbury, Ontario, Canada. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.58, n.1, p.108-132, 1980.
- GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular infection in roots. **The New Phytologist**, Oxford, v.84, n.3, p.489-500, Mar. 1980.
- GOMES, E.A.; BARROS, E.G.; KASWYA, M.C.M.; ARAÚJO, E.F. Molecular characterization of *Pisolithus* spp. isolates by rDNA PCR-RFLP. **Mycorrhiza**, v.8, n.4, p.197-202, 1999.
- GUSSARSSON, M.; ASP, H.; ADALSTEINSSON, S.; JENSÉN, P. Enhancement of cadmium effects on growth and nutrient composition of birch (*Betula pendula*) by buthionine sulphoximine (BSO). **Journal of Experimental Botany**, v.47, n.295, p.211-215, Feb. 1996.
- HEALE, E.L.; ORMOROD, D.P. Effects of nickel and copper on *Acer rubrum*, *Cornus stolonifera*, *Lonicera tatarica* and *Pinus resinosa*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.60, n.12, p.2674-2681, Dec. 1982.
- JONES, M.D.; BROWNING, M.H.R.; HUTCHINSON, T.C. The influence of mycorrhizal associations on paper birch and jack pine seedlings when exposed to elevated copper, nickel or aluminum. **Water Air and Soil Pollution**, Dordrecht, v.31, p.441-448, 1986.
- JONES, M.D.; HUTCHINSON, T.C. The effect of mycorrhizal infection on the response of *Betula papyrifera* to nickel and copper. **The New Phytologist**, Oxford, v.102, n.3, p.429-442, Mar. 1986.

- KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. Trace elements in soils and plants. Boca Raton: CRC, 1985. 315p.
- KAHLE, H. Response of roots of trees to heavy metals. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v.33, n.1, p.99-119, Jan. 1993.
- KUKKOLA, E.; HUTTUNEN, S.; BÄCK, J. Scots pine needle injuries at subarctic industrial sites, **Trees**, v.11, n.6, p.378-387, 1997.
- MACNAIR, M.R. The genetics of metal tolerance in vascular plants. **The New Phytologist**, Oxford, v.124, n.3, p.541-559, Jul. 1993.
- MARQUES, T.C.L.L.S.M., MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. Crescimento e teores de metais em mudas de espécies arbóreas tropicais em solo contaminado com metais pesados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 2000 (Aceito para publicação)
- MARX, D.H. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. **Phytopathology**, St.Paul, v.59, n.2, p.153-163, 1969.
- MITCHELL, C.C.; FRETZ, T.A. Cadmium and zinc toxicity in white pine, red maple, and Norway spruce. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Mount Vernon, v.102, n.1, p.81-84, Jan. 1977.
- MOSTASSO, F.L. Crescimento e nodulação de leguminosas em solo contaminado com metais pesados. Lavras – UFLA, 1997. 50p. (Tese – Mestrado)
- NEVES, J.C.L.; NOVAIS, R.F.; BARROS, N.F. Efeito do alumínio em solução nutritiva no crescimento e absorção de nutrientes por *Eucalyptus* spp.. **Revista Árvore**, Viçosa, v.6, n.1, p.1-16, Jan./Jun. 1982.
- PATTERSON, W.A.III; OLSON, J.J. Effects of heavy metals on radicle growth of selected woody species germinated on filter paper, mineral and organic soil substrates. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v.13, n.2, p.233-238, 1983.

- PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of the British Mycological Society**, London, v.55, n.1, p.158-161, Aug. 1970.
- PUNZ, W.F.; SIEGHARDT, H. The response of roots of herbaceous plant species to heavy metals. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v.44, p.35-98, 1993.
- RIBEIRO-FILHO, M.R.; CURL, N.; SIQUEIRA, J.O.; MOTTA, P.E.F. Metais pesados em solos de área de rejeitos de indústria de processamento de zinco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.23, n.2, p.453-464, Abr./Jun. 1999.
- SALT, D.E.; SMITH, R.D.; RASKIN, I. Phytoremediation. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.49, p.643-668, 1998.
- SIQUEIRA, J.O.; POUYÚ, E; MOREIRA, F.M.S. Micorrizas arbusculares no crescimento pós-transplântio de mudas de árvores em solo com excesso de metais pesados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.23, n.3, p.569-580, Jul./Set.1999.
- SOARES, C.R.F.S. Toxidez de zinco, cobre, cádmio e chumbo para o eucalipto em solução nutritiva. Lavras: UFLA, 1999. 132p. (Tese – Mestrado)
- TURNER, A.P.; DICKINSON, N.M. Survival of *Acer pseudoplatanus* L. (sycamore) seedlings on metalliferous soils. **The New Phytologist**, Oxford, v.123, n.3, p.509-522, Mar. 1993a.
- TURNER, A.P.; DICKINSON, N.M. Copper tolerance of *Acer pseudoplatanus* L. (sycamore) in tissue culture. **The New Phytologist**, Oxford, v.123, n.3, p.523-530, Mar. 1993b.
- VANGRONSVELD, J.; STERCKX, J.; VAN ASSCHE, F.; CLIJSTERS, H. Rehabilitation studies on an old non-ferrous waste dumping by beringite. **Journal of Geochem. Expl.**, v.52, p.221-229, 1995.
- VETTORI, L. Métodos de análises do solo. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, 1969. 24p. (Boletim Técnico, 7)

WILKINSON, D.M.; DICKINSON, N.M. Metal resistance in trees: the role of mycorrhizae, *Oikos*, Copenhagen, v.72, n.2, p.298-300, Mar. 1995.

WU, L.; LIN, S.L. Copper tolerance and copper uptake of *Lotus-purshianus* (Benth) Clem and Clem its symbiotic rhizobium-loti derived from a copper mine waste population. *The New Phytologist*, Oxford, v.116, p.531-539, 1990.

ANEXO

ANEXO A

Página

| | |
|--|-----|
| Tabela 1A. Matéria seca da parte aérea de <i>Eucalyptus</i> spp., <i>Acacia mangium</i> e <i>Pinus</i> spp. (média para <i>Pinus oocarpa</i> , <i>P. elliottii</i> , e <i>P. caribaea</i>) em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado..... | 155 |
| Tabela 2A. Crescimento relativo (Controle = 100%) para parte aérea de <i>Eucalyptus</i> spp., <i>Acacia mangium</i> e <i>Pinus</i> spp. (média para <i>Pinus oocarpa</i> , <i>P. elliottii</i> , e <i>P. caribaea</i>) em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado..... | 156 |
| Tabela 2A. Matéria seca das raízes de <i>Eucalyptus</i> spp., <i>Acacia mangium</i> e <i>Pinus</i> spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado..... | 157 |
| Tabela 4A. Crescimento relativo (Controle = 100%) para raízes de <i>Eucalyptus</i> spp., <i>Acacia mangium</i> e <i>Pinus</i> spp. (média para <i>Pinus oocarpa</i> , <i>P. elliottii</i> , e <i>P. caribaea</i>) em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado..... | 158 |
| Tabela 5A. Percentagem dos seguimentos radiculares colonizados por fungos ectomicorrízicos de <i>Eucalyptus</i> spp., <i>Acacia mangium</i> e <i>Pinus</i> spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado..... | 159 |
| Tabela 6A. Percentagem dos seguimentos radiculares colonizados por fungos micorrízicos arbusculares de <i>Eucalyptus</i> spp. e <i>Acacia mangium</i> em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado..... | 160 |
| Tabela 7A. Teores de Zn na parte aérea de <i>Eucalyptus</i> spp., <i>Acacia mangium</i> e <i>Pinus</i> spp em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado..... | 161 |
| Tabela 8A. Razão do teor de Zn entre a parte aérea e raízes de <i>Eucalyptus</i> spp., <i>Acacia mangium</i> e <i>Pinus</i> spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado..... | 162 |
| Tabela 9A. Teores de Cd na parte aérea de <i>Eucalyptus</i> spp., <i>Acacia mangium</i> e <i>Pinus</i> spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado..... | 163 |

| | |
|--|-----|
| Tabela 10A. Razão do teor de Cd entre a parte aérea e raízes de <i>Eucalyptus</i> spp., <i>Acacia mangium</i> e <i>Pinus</i> spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado..... | 164 |
| Tabela 11A. Teores de Pb na parte aérea de <i>Eucalyptus</i> spp., <i>Acacia mangium</i> e <i>Pinus</i> spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado..... | 165 |
| Tabela 12A. Razão do teor de Pb entre a parte aérea e raízes de <i>Eucalyptus</i> spp., <i>Acacia mangium</i> e <i>Pinus</i> spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado..... | 166 |
| Tabela 13A. Teores de Cu na parte aérea de <i>Eucalyptus</i> spp., <i>Acacia mangium</i> e <i>Pinus</i> spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado..... | 167 |
| Tabela 14A. Razão do teor de Cu entre a parte aérea e raízes de <i>Eucalyptus</i> spp., <i>Acacia mangium</i> e <i>Pinus</i> spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado..... | 168 |
| Tabela 15A. Teores de Fe na parte aérea de <i>Eucalyptus</i> spp., <i>Acacia mangium</i> e <i>Pinus</i> spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado..... | 169 |
| Tabela 16A. Teores de Fe nas raízes de <i>Eucalyptus</i> spp., <i>Acacia mangium</i> e <i>Pinus</i> spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado..... | 170 |
| Tabela 17A. Razão do teor de Fe entre a parte aérea e raízes de <i>Eucalyptus</i> spp., <i>Acacia mangium</i> e <i>Pinus</i> spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado..... | 171 |
| Tabela 18A. Teores de P na parte aérea e raízes de <i>Eucalyptus</i> spp., <i>Acacia mangium</i> e <i>Pinus</i> spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado..... | 172 |
| Tabela 19A. Teores de K na parte aérea e raízes de <i>Eucalyptus</i> spp., <i>Acacia mangium</i> e <i>Pinus</i> spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado..... | 173 |
| Tabela 20A. Teores de S na parte aérea e raízes de <i>Eucalyptus</i> spp., <i>Acacia mangium</i> e <i>Pinus</i> spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado..... | 174 |

| | |
|--|-----|
| Tabela 21A. Teores de Ca na parte aérea e raízes de <i>Eucalyptus</i> spp., <i>Acacia mangium</i> e <i>Pinus</i> spp em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado..... | 175 |
| Tabela 22A. Teores de Mg na parte aérea e raízes de <i>Eucalyptus</i> spp., <i>Acacia mangium</i> e <i>Pinus</i> spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado..... | 176 |
| Tabela 23A. Teores de Mn na parte aérea e raízes de <i>Eucalyptus</i> spp., <i>Acacia mangium</i> e <i>Pinus</i> spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado..... | 177 |

Tabela 1A. Matéria seca da parte aérea de *Eucalyptus* spp., *Acacia mangium* e *Pinus* spp. (média para *Pinus oocarpa*, *P. elliottii*, e *P. caribaea*) em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado

| Espécie | Proporção de solo contaminado, % | | | | Equação de regressão | r ² |
|----------------------------|----------------------------------|------------|---------|--------|-------------------------------------|----------------|
| | 0 | 5 | 10 | 20 | | |
| | g | | | | | |
| <i>E. cloëziana</i> | 16,78 bc ^{1/} | 9,54 bcd | 7,41 ab | 2,27 a | $y=12,076-0,4867x+4,7034e^{-x}$ | 0,999** |
| <i>E. maculata</i> | 16,79 bc | 11,14 abcd | 5,20 ab | 3,55 a | $y=17,122-2,113x+0,3188x^{1,5}$ | 0,982** |
| <i>E. camaldulensis</i> | 18,93 abc | 9,79 abcd | 5,62 ab | 4,18 a | $y=3,6940+15,272e^{(-x/5,2344)}$ | 0,999** |
| <i>E. grandis</i> | 16,99 bc | 14,06 abc | 10,14 a | 3,49 a | $y=17,1473-0,6830x$ | 0,998** |
| <i>E. pellita</i> | 22,20 a | 11,28 abcd | 7,45 ab | 2,81 a | $y=22,203+0,2467x-5,4400x^{0,5}$ | 0,999** |
| <i>E. pilularis</i> | 17,12 bc | 9,08 cd | 3,89 b | 2,10 a | $y=1,0955+16,127e^{(-x/6,5011)}$ | 0,994** |
| <i>E. punctata</i> | 20,37 ab | 14,34 ab | 5,32 ab | 2,54 a | $y=21,031-1,9423x+0,05034x^2$ | 0,974** |
| <i>E. pyrocarpa</i> | 17,29 abc | 9,00 d | 3,98 b | 2,24 a | $y=1,3542+16,025e^{(-x/6,2413)}$ | 0,995** |
| <i>E. resinifera</i> | 16,77 bc | 11,22 abcd | 5,72 ab | 2,34 a | $y=16,973-1,4343x+0,03497x^2$ | 0,996** |
| <i>E. torelliana</i> | 15,12 c | 11,57 abcd | 9,05 a | 4,82 a | $y=14,548-0,5037x$ | 0,984** |
| <i>E. urophylla</i> | 17,72 abc | 12,01 abcd | 7,35 ab | 2,58 a | $y=17,760-1,3070x+0,02736x^2$ | 0,999* |
| <i>E. saligna</i> | 18,31 abc | 12,55 abcd | 6,89 ab | 2,31 a | $y=18,489-1,4377x+0,03129x^2$ | 0,997** |
| <i>E. citriodora</i> | 16,36 bc | 14,55 a | 8,79 ab | 4,06 a | $y=16,861-0,4555x^{1,5}+0,06964x^2$ | 0,982* |
| <i>A. mangium</i> | 9,92 d | 9,13 cd | 7,94 ab | 6,03 a | $y=9,9871-0,1980x$ | 0,997** |
| <i>Pinus</i> ^{2/} | 8,03 | 2,38 | 2,03 | 1,64 | $y=2,5375-0,04572x+5,4927e^{-x}$ | 0,999** |

1/ As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si, em nível de 5%, pelo teste de Tukey.

2/ Para o experimento com *Pinus*, o efeito principal para espécies e a interação entre as mesmas e as proporções de solo contaminado não foram significativos (P>0,05).

Tabela 2A. Crescimento relativo (Controle = 100%) para parte aérea de *Eucalyptus* spp., *Acacia mangium* e *Pinus* spp. (média para *Pinus oocarpa*, *P. elliottii*, e *P. caribaea*) em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado

| Espécie | Proporção de solo contaminado, % | | | | Equação de regressão | r ² |
|----------------------------|----------------------------------|-------|--------|------|------------------------------------|----------------|
| | 0 | 5 | 10 | 20 | | |
| | ----- % ----- | | | | | |
| <i>E. cloëziana</i> | 100 a ^{1/} | 57 b | 44 bcd | 14 b | $y=71,965-2,901x+28,030e^{-x}$ | 0,999** |
| <i>E. maculata</i> | 100 a | 66 ab | 31 cd | 21 b | $y=101,98-12,587x+1,8990x^{1,5}$ | 0,982** |
| <i>E. camaldulensis</i> | 100 a | 52 b | 30 cd | 22 b | $y=19,514+80,674e^{(-x/5,234)}$ | 0,999** |
| <i>E. grandis</i> | 100 a | 83 a | 60 ab | 21 b | $y=100,93-4,0200x$ | 0,998** |
| <i>E. pellita</i> | 100 a | 51 b | 34 cd | 13 b | $y=100,01+1,1112x-24,504x^{0,5}$ | 0,998** |
| <i>E. pilularis</i> | 100 a | 53 b | 23 d | 12 b | $y=6,3990+94,200e^{(-x/6,5010)}$ | 0,999** |
| <i>E. punctata</i> | 100 a | 70 ab | 26 d | 12 b | $y=103,25-9,5400x+0,2474x^2$ | 0,974** |
| <i>E. pyrocarpa</i> | 100 a | 52 b | 23 d | 13 b | $y=7,8320+92,685e^{(-x/6,2410)}$ | 0,995** |
| <i>E. resinifera</i> | 100 a | 67 ab | 34 bcd | 14 b | $y=101,21-8,5529x+0,2085x^2$ | 0,996** |
| <i>E. torelliana</i> | 100 a | 77 ab | 60 ab | 32 b | $y=96,220-3,3310x$ | 0,984** |
| <i>E. urophylla</i> | 100 a | 68 ab | 41 bcd | 15 b | $y=100,22-7,3760x+0,1544x^2$ | 0,999* |
| <i>E. saligna</i> | 100 a | 69 ab | 38 bcd | 13 b | $y=100,98-7,8520x+0,1709x^2$ | 0,997** |
| <i>E. citriodora</i> | 100 a | 89 a | 54 bc | 25 b | $y=103,07-2,7844x^{1,5}+0,4256x^2$ | 0,982** |
| <i>A. mangium</i> | 100 a | 92 a | 80 a | 61 a | $y=100,68-1,9960x$ | 0,998** |
| <i>Pinus</i> ^{2/} | 100 | 30 | 25 | 21 | $y=31,530-0,5445x+68,480e^{-x}$ | 0,999** |

1/ As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si, em nível de 5%, pelo teste de Tukey.

2/ Para o experimento com *Pinus*, o efeito principal para espécies e a interação entre as mesmas e as proporções de solo contaminado não foram significativos (P>0,05).

Tabela 3A. Matéria seca das raízes de *Eucalyptus* spp., *Acacia mangium* e *Pinus* spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado

| Espécie | Proporção de solo contaminado, % | | | | | Equação de regressão | r ² |
|-------------------------|----------------------------------|----------|----------|---------|----------------------|-------------------------------------|----------------|
| | 0 | 5 | 10 | 20 | Médias ^{2/} | | |
| | g | | | | | | |
| <i>E. cloëziana</i> | 4,81 bcd ^{1/} | 2,13 bcd | 1,08 bc | 0,42 b | --- | $y=0,3046+4,5004e^{(-x/5,6026)}$ | 0,999** |
| <i>E. maculata</i> | 2,19 f | 0,75 e | 0,47 c | 0,30 b | --- | $y=0,3225+1,8611e^{(-x/3,4757)}$ | 0,999** |
| <i>E. camaldulensis</i> | 6,47 a | 1,70 cde | 0,75 bc | 0,75 b | --- | $y=0,6740+5,7998e^{(-x/2,8393)}$ | 0,999** |
| <i>E. grandis</i> | 4,76 bcd | 3,01 ab | 1,85 ab | 0,62 b | --- | $y(4,7688-0,1686x)/(1+0,06399x)$ | 0,999** |
| <i>E. pellita</i> | 5,97 ab | 2,72 abc | 1,44 abc | 0,73 b | --- | $y=0,6020+5,3684e^{(-x/5,3803)}$ | 0,999** |
| <i>E. pilularis</i> | 4,04 cde | 1,13 de | 0,40 c | 0,33 b | --- | $y=4,0505+0,2234x-1,8362x^{0,5}$ | 0,999** |
| <i>E. punctata</i> | 5,13 bc | 2,84 abc | 0,59 c | 0,48 b | --- | $y=0,03374+5,1830e^{(-x/6,4525)}$ | 0,964** |
| <i>E. pyrocarpa</i> | 4,17 cde | 1,17 de | 0,59 c | 0,42 b | --- | $y=0,4222+3,7439e^{(-x/3,1260)}$ | 0,999** |
| <i>E. resinifera</i> | 3,99 cde | 2,47 c | 0,89 bc | 0,51 b | --- | $y=4,0799-0,5715x+0,08732x^{1,5}$ | 0,982** |
| <i>E. torelliana</i> | 3,77 de | 3,11 ab | 1,60 abc | 0,67 b | --- | $y=3,8870-0,1445x^{1,5}+0,02421x^2$ | 0,986** |
| <i>E. urophylla</i> | 6,57 a | 3,72 a | 2,00 ab | 0,79 ab | --- | $y=6,5720-0,8574x+0,1270x^{1,5}$ | 0,999** |
| <i>E. saligna</i> | 6,41 a | 2,94 abc | 1,38 abc | 0,42 b | --- | $y=0,1806+6,2360e^{(-x/6,1066)}$ | 0,999** |
| <i>E. citriodora</i> | 3,70 de | 2,56 abc | 1,11 abc | 0,39 b | --- | $y=3,7838-0,3294x+0,00791x^2$ | 0,987** |
| <i>A. mangium</i> | 3,31 ef | 2,65 abc | 2,35 a | 2,01 a | --- | $y=3,3085-0,2949x^{0,5}$ | 0,999** |
| <i>P. oocarpa</i> | 2,64 | 0,97 | 0,85 | 0,50 | 1,24 b | --- | --- |
| <i>P. elliottii</i> | 2,81 | 0,94 | 0,84 | 0,85 | 1,36 ab | --- | --- |
| <i>P. caribaea</i> | 3,76 | 1,22 | 1,13 | 0,68 | 1,70 a | --- | --- |
| Médias ^{2/} | 3,07 | 1,04 | 0,94 | 0,68 | | $y=1,1622-0,0241x+1,9085e^{-x}$ | 0,999* |

1/ As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si, em nível de 5%, pelo teste de Tukey.

2/ Para o experimento com *Pinus*, somente os efeitos principais foram significativos (P>0,05).

Tabela 4A. Crescimento relativo (Controle = 100%) para raízes de *Eucalyptus* spp., *Acacia mangium* e *Pinus* spp. (média para *Pinus oocarpa*, *P. elliotii*, e *P. caribaea*) em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado

| Espécie | Proporção de solo contaminado, % | | | | Equação de regressão | r ² |
|-------------------------|----------------------------------|--------|--------|------|------------------------------------|----------------|
| | 0 | 5 | 10 | 20 | | |
| <i>E. cloeziana</i> | 100 a ^{1/} | 44 bcd | 22 bcd | 9 b | $y=6,3330+93,563e^{(-x/5,6030)}$ | 0,999** |
| <i>E. maculata</i> | 100 a | 34 cd | 21 bcd | 14 b | $y=14,727+84,980e^{(-x/3,4760)}$ | 0,999** |
| <i>E. camaldulensis</i> | 100 a | 26 d | 12 d | 12 b | $y=10,417+89,641e^{(-x/2,8390)}$ | 0,999** |
| <i>E. grandis</i> | 100 a | 63 ab | 39 bc | 13 b | $y=(100,18-3,5410x)/(1+0,06399x)$ | 0,999** |
| <i>E. pellita</i> | 100 a | 46 bcd | 24 bcd | 12 b | $y=10,084+89,923e^{(-x/5,3800)}$ | 0,999** |
| <i>E. pilularis</i> | 100 a | 28 d | 10 d | 8 b | $y=100,26+5,5309x-45,452x^{0,5}$ | 0,999** |
| <i>E. punctata</i> | 100 a | 55 abc | 11 d | 9 b | $y=0,5180+101,23e^{(-x/6,4700)}$ | 0,964** |
| <i>E. pyrocarpa</i> | 100 a | 28 d | 14 cd | 10 b | $y=10,124+89,782e^{(-x/3,1260)}$ | 0,999** |
| <i>E. resinifera</i> | 100 a | 62 ab | 22 bcd | 13 b | $y=102,25-14,324x+2,1890x^{1,5}$ | 0,982** |
| <i>E. torelliana</i> | 100 a | 82 a | 42 b | 18 b | $y=103,10-3,8330x^{1,5}+0,6420x^2$ | 0,986** |
| <i>E. urophylla</i> | 100 a | 57 abc | 30 bcd | 12 b | $y=100,03-13,051x+1,9330x^{1,5}$ | 0,999** |
| <i>E. saligna</i> | 100 a | 46 bcd | 22 bcd | 7 b | $y=2,8180+97,285e^{(-x/6,1070)}$ | 0,999** |
| <i>E. citriodora</i> | 100 a | 69 ab | 30 bcd | 11 b | $y=102,27-8,9030x+0,2138x^2$ | 0,987** |
| <i>A. mangium</i> | 100 a | 80 a | 71 a | 61 a | $y=99,955-89090x^{0,5}$ | 0,999** |

1/ As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si, em nível de 5%, pelo teste de Tukey.
 2/ Para o experimento com *Pinus*, o efeito principal para espécies e a interação entre as mesmas e as proporções de solo contaminado não foram significativos ($P>0,05$).

Tabela 5A. Percentagem dos seguimentos radiculares colonizados por fungos ectomicorrízicos de *Eucalyptus* spp., *Acacia mangium* e *Pinus* spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado

| Espécie | Proporção de solo contaminado, % | | | | Equação de regressão | r ² |
|-------------------------|----------------------------------|----------|---------|---------|--|----------------|
| | 0 | 5 | 10 | 20 | | |
| | ----- % ----- | | | | | |
| <i>E. cloëziana</i> | 47,0 abcd ^{1/} | 20,3 c | 8,7 bc | 0,2 cd | $y=-1,8245+48,790e^{(-x/6,4128)}$ | 0,999** |
| <i>E. maculata</i> | 19,8 e | 20,5 c | 8,8 bc | 7,5 ab | $y=20,330-0,7082x$ | 0,756** |
| <i>E. camaldulensis</i> | 55,0 a | 21,2 c | 17,3 ab | 17,8 a | $y=17,429+37,564e^{(-0,4655x)}$ | 0,999* |
| <i>E. grandis</i> | 25,5 de | 38,2 abc | 22,8 ab | 13,1 a | $y^{-1}=0,03859+0,00107x^{1,5}-0,01062x^{0,5}$ | 0,963** |
| <i>E. pellita</i> | 44,9 abcd | 35,5 abc | 24,1 ab | 11,8 ab | $y=43,579-1,659x$ | 0,980** |
| <i>E. pilularis</i> | 34,8 abcde | 34,7 abc | 2,1 c | 0,0 d | $y^{-1}=0,02871-0,00060x+0,00002e^x$ | 0,999** |
| <i>E. punctata</i> | 35,7 abcde | 46,7 ab | 10,2 bc | 0,0 d | $y^{-1}=0,02799-0,00259x^2+0,00104x^{2,5}$ | 0,999** |
| <i>E. pyrocarpa</i> | 48,6 abc | 30,3 bc | 2,2 a | 0,5 cd | $y=49,496/(1+e^{(-(x-3,6491)/-1,4289)})$ | 0,999* |
| <i>E. resinifera</i> | 40,4 abcde | 43,8 ab | 34,9 a | 7,5 abc | $y=40,756+2,4080x-0,9127x^{1,5}$ | 0,997** |
| <i>E. torelliana</i> | 50,8 ab | 50,6 ab | 29,1 a | 12,3 a | $y^{-1}=0,01958-0,00107x+0,00023x^2$ | 0,994** |
| <i>E. urophylla</i> | 38,6 abcde | 56,5 a | 16,4 ab | 2,3 bcd | $y^{-1}=0,02594-0,00257x^{1,5}+0,0037x^{2,5}$ | 0,999** |
| <i>E. saligna</i> | 29,8 bcde | 44,0 ab | 20,2 ab | 1,8 bcd | $y^{-1}=0,03358-0,00454x^{1,5}+0,00160x^2$ | 0,996** |
| <i>E. citriodora</i> | 57,5 a | 34,3 abc | 30,9 a | 8,5 ab | $y=36,836-0,07030x^2+20,610e^{-x}$ | 0,998** |
| <i>A. mangium</i> | 27,0 cde | 21,0 c | 16,0 ab | 16,7 a | $y^{-1}=0,03694+0,00563x^{0,5}$ | 0,918** |
| | ----- | | | | | |
| <i>P. oocarpa</i> | 76,1 a | 17,6 b | 16,1 b | 8,3 b | $y=21,129-0,6226x+55,013e^{-x}$ | 0,999** |
| <i>P. elliottii</i> | 77,3 a | 74,9 a | 74,8 a | 36,7 a | $y=76,918-0,2473x-7,3 \cdot 10^{-8}e^x$ | 0,999** |
| <i>P. caribaea</i> | 79,1 a | 57,0 a | 48,8 a | 20,4 ab | $y=75,931-2,8124x$ | 0,980** |

1/ As médias seguidas pela mesma letra nas colunas, dentro de cada experimento, não diferem entre si, em nível de 5%, pelo teste de Tukey.

Tabela 6A. Percentagem dos seguimentos radiculares colonizados por fungos micorrízicos arbusculares de *Eucalyptus* spp. e *Acacia mangium* em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado

| Espécie | Proporção de solo contaminado, % | | | |
|-------------------------|----------------------------------|----------|----------|----------|
| | 0 | 5 | 10 | 20 |
| <i>E. cloëziana</i> | 1,5 Ab ^{1/} | 0,5 Abc | 0,5 Aab | 0,0 Ab |
| <i>E. maculata</i> | 0,2 Ab | 0,1 Abc | 0,0 Ab | 0,0 Ab |
| <i>E. camaldulensis</i> | 1,9 ABb | 1,0 Bbc | 3,4 Aa | 1,9 ABab |
| <i>E. grandis</i> | 0,4 Ab | 1,4 Abc | 1,6 Aab | 2,5 Aab |
| <i>E. pellita</i> | 0,0 Bb | 2,0 Abc | 0,7 ABab | 0,5 ABab |
| <i>E. pilularis</i> | 1,5 ABb | 3,2 Aab | 0,0 Bb | 0,0 Bb |
| <i>E. punctata</i> | 0,3 Ab | 1,0 Abc | 1,1 Aab | 0,0 Ab |
| <i>E. pyrocarpa</i> | 1,3 Ab | 1,0 Abc | 1,5 Aab | 0,2 Aab |
| <i>E. resinifera</i> | 1,5 ABb | 0,1 Bbc | 1,8 ABab | 3,4 Aa |
| <i>E. torelliana</i> | 1,2 Ab | 0,0 Ac | 0,0 Ab | 0,3 Aab |
| <i>E. urophylla</i> | 3,1 Ab | 0,5 ABbc | 1,9 ABab | 0,0 Bb |
| <i>E. saligna</i> | 1,3 ABb | 0,0 Bc | 1,7 Aab | 0,7 ABab |
| <i>E. citriodora</i> | 0,4 Ab | 0,0 Ac | 0,0 Ab | 0,0 Ab |
| <i>A. mangium</i> | 32,0 Aa | 6,5 Ba | 1,3 Cab | 0,6 Cab |

1/ As médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si, em nível de 5%, pelo teste de Tukey.

Tabela 7A. Teores de Zn na parte aérea de *Eucalyptus* spp., *Acacia mangium* e *Pinus* spp em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado

| Espécie | Proporção de solo contaminado, % | | | | Equação de regressão | r ² |
|-------------------------|----------------------------------|---------|---------|----------|--|----------------|
| | 0 | 5 | 10 | 20 | | |
| | ----- mg kg ⁻¹ ----- | | | | | |
| <i>E. cloëziana</i> | 22 a ^{1/} | 492 c | 673 cd | 906 fgh | y=33,048+198,68x ^{0,5} | 0,998** |
| <i>E. maculata</i> | 27 a | 942 a | 1543 a | 1412 cde | y=16,378+231,06x-8,0546x ² | 0,999** |
| <i>E. camaldulensis</i> | 20 a | 429 c | 616 d | 1012 fgh | y=-16,034+213,91x ^{0,5} | 0,982** |
| <i>E. grandis</i> | 18 a | 550 bc | 707 cd | 1442 cd | y=482,09+2,3932x ² -464,41e ^{-x} | 0,999** |
| <i>E. pellita</i> | 28 a | 676 abc | 1012 bc | 1981 b | y=489,57+16,665x ^{1,5} -461,61e ^{-x} | 0,999** |
| <i>E. pilularis</i> | 22 a | 511 bc | 596 d | 846 fgh | y=388,32+22,596x-365,99e ^{-x} | 0,999** |
| <i>E. punctata</i> | 19 a | 346 c | 694 cd | 1079 efg | y=23,066+44,469x ^{1,5} -7,304x ² | 0,999** |
| <i>E. pyrocarpa</i> | 24 a | 614 abc | 818 cd | 782 gh | y=32,446+185,44x-33,130x ^{1,5} | 0,997** |
| <i>E. resinifera</i> | 16 a | 506 bc | 982 bc | 2410 a | y=14,606+4,0053x ² +177,52x ^{0,5} | 0,999** |
| <i>E. torelliana</i> | 28 a | 611 abc | 858 cd | 1004 fgh | y=1032,5(1-e ^(-0,1787x)) | 0,999** |
| <i>E. urophylla</i> | 19 a | 323 c | 698 cd | 1167 def | y=46,624+57,735x | 0,990** |
| <i>E. saligna</i> | 17 a | 571 bc | 777 cd | 1584 c | y=507,31+2,6912x ² -490,34e ^{-x} | 0,999** |
| <i>E. citriodora</i> | 29 a | 858 ab | 1267 ab | 1760 bc | y=19,198+388,72x ^{0,5} | 0,999** |
| <i>A. mangium</i> | 14 a | 327 c | 497 d | 653 h | y=15,170+145,01x ^{0,5} | 0,997** |
| <i>P. oocarpa</i> | 16 a | 514 a | 868 a | 1869 a | y=17,526+2,4806x ² +192,01x ^{0,5} | 0,999** |
| <i>P. elliottii</i> | 25 a | 259 a | 496 b | 596 c | y=15,259+133,22x ^{0,5} | 0,965** |
| <i>P. caribaea</i> | 20 a | 317 a | 497 b | 1393 b | y=68,236+14,776 ^{1,5} | 0,990** |

1/ As médias seguidas pela mesma letra nas colunas, dentro de cada experimento, não diferem entre si, em nível de 5%, pelo teste de Tukey.

Tabela 8A. Razão do teor de Zn entre a parte aérea e raízes de *Eucalyptus* spp., *Acacia mangium* e *Pinus* spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado

| Espécie | Proporção de solo contaminado, % | | | | Equação de regressão | r ² |
|-------------------------|----------------------------------|----------|--------|----------|---------------------------------------|----------------|
| | 0 | 5 | 10 | 20 | | |
| <i>E. cloëziana</i> | 2,0 abc ^{1/} | 5,0 bc | 3,7 cd | 3,9 bc | $y=4,8720-0,05934x-2,8404e^{-x}$ | 0,868** |
| <i>E. maculata</i> | 1,5 bc | 2,7 de | 1,9 d | 2,3 cde | sem ajuste | --- |
| <i>E. camaldulensis</i> | 1,1 c | 4,0 bcde | 3,4 cd | 2,5 bcde | $y=4,4399-0,09703x-3,260e^{-x}$ | 0,999** |
| <i>E. grandis</i> | 1,9 abc | 4,4 bcd | 4,1 bc | 2,8 bcde | $y=1,9322-0,3960x+1,9597x^{0,5}$ | 0,997** |
| <i>E. pellita</i> | 3,4 ab | 3,2 cde | 2,5 cd | 1,9 de | $y=3,4019-0,07547x$ | 0,960** |
| <i>E. pilularis</i> | 2,4 abc | 4,5 bcd | 5,8 b | 3,7 bcd | $y=2,3090+0,6040x-0,02666x^2$ | 0,996** |
| <i>E. punctata</i> | 2,8 abc | 5,7 b | 4,2 bc | 3,2 bcde | $y=6,2316-0,1590x-3,4782e^{-x}$ | 0,936** |
| <i>E. pyrocarpa</i> | 2,4 abc | 3,7 cde | 3,6 cd | 4,3 b | $y=2,5345+0,3971x^{0,5}$ | 0,936** |
| <i>E. resinifera</i> | 3,7 a | 4,7 bc | 3,1 cd | 1,3 e | $y=5,6532-0,2221x-1,9217e^{-x}$ | 0,973** |
| <i>E. torelliana</i> | 1,2 c | 2,8 de | 2,4 cd | 2,2 cde | $y=2,9274-0,03675x-1,7215e^{-x}$ | 0,974** |
| <i>E. urophylla</i> | 1,8 bc | 4,3 bcd | 3,8 cd | 3,1 bcde | $y=4,7027-0,0829x-2,8818e^{-x}$ | 0,974** |
| <i>E. saligna</i> | 2,3 abc | 3,8 cde | 3,9 c | 3,0 bcde | $y=2,3115-0,00613x^2+0,6982x^{0,5}$ | 0,996** |
| <i>E. citriodora</i> | 1,0 c | 2,3 e | 2,3 cd | 1,7 e | $y=0,9898-0,1984x+1,0397x^{0,5}$ | 0,999** |
| <i>A. mangium</i> | 3,1 ab | 16,2 a | 7,8 a | 9,5 a | $y=20,174-2,7316x^{0,5}-17,047e^{-x}$ | 0,756** |
| <i>P. oocarpa</i> | 2,0 a | 3,0 c | 2,9 b | 2,1 b | $y=1,9971-0,1935x+0,8900x^{0,5}$ | 0,999** |
| <i>P. elliottii</i> | 1,6 a | 5,4 a | 4,6 a | 4,8 a | $y=5,3225-0,03269x-3,7207e^{-x}$ | 0,972** |
| <i>P. caribaea</i> | 2,3 a | 4,2 b | 4,8 a | 2,6 b | $Y=2,3136+0,4886x-0,02373x^2$ | 0,999** |

1/ As médias seguidas pela mesma letra nas colunas, dentro de cada experimento, não diferem entre si, em nível de 5%, pelo teste de Tukey.

Tabela 9A. Teores de Cd na parte aérea de *Eucalyptus* spp., *Acacia mangium* e *Pinus* spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado

| Espécie | Proporção de solo contaminado, % | | | | Equação de regressão | r ² |
|-------------------------|----------------------------------|----------|-----------|------------|---|----------------|
| | 0 | 5 | 10 | 20 | | |
| | ----- mg kg ⁻¹ ----- | | | | | |
| <i>E. cloëziana</i> | 0,00 a ^{1/} | 9,50 abc | 11,93 cde | 17,51 def | y=6,7501+0,5348x-6,7273e ^{-x} | 0,999** |
| <i>E. maculata</i> | 0,00 a | 15,96 a | 32,01 a | 27,16 b | y=0,2911+2,7062x ^{1,5} -0,5364x ² | 0,999** |
| <i>E. camaldulensis</i> | 0,06 a | 14,54 a | 14,22 cd | 22,15 bcde | y=13,169+0,02188x ² -13,104e ^{-x} | 0,991** |
| <i>E. grandis</i> | 0,08 a | 2,57 d | 4,35 f | 12,24 fg | y=0,4648+0,1314x ^{1,5} | 0,993** |
| <i>E. pellita</i> | 0,13 a | 5,99 bcd | 9,18 def | 26,01 bc | y=0,02728+2,8.10 ⁻⁸ e ^x +2,8186x ^{0,5} | 0,999** |
| <i>E. pilularis</i> | 0,45 a | 12,40 ab | 13,62 cd | 19,77 cde | y=9,3821+0,5059x-8,9310e ^{-x} | 0,995** |
| <i>E. punctata</i> | 0,12 a | 4,34 cd | 5,65 ef | 11,61 fg | y=0,6137+0,5503x | 0,979** |
| <i>E. pyrocarpa</i> | 0,23 a | 14,96 a | 18,08 c | 23,99 bcd | y=12,087+0,5959x-11,857e ^{-x} | 0,999** |
| <i>E. resinifera</i> | 0,06 a | 4,03 cd | 8,42 def | 27,92 b | y=-0,01294+0,8360x+2,3.10 ⁻⁸ e ^{-x} | 0,999** |
| <i>E. torelliana</i> | 0,19 a | 13,15 a | 17,58 c | 21,34 bcde | y=0,1591-0,5163x+7,0611x ^{0,5} | 0,999** |
| <i>E. urophylla</i> | 0,10 a | 2,18 d | 5,95 ef | 11,99 fg | y=-0,27755+0,6092x | 0,994** |
| <i>E. saligna</i> | 0,22 a | 3,23 cd | 5,78 ef | 16,96 ef | y=0,4958+0,1830x ^{1,5} | 0,995** |
| <i>E. citriodora</i> | 0,33 a | 14,42 a | 25,00 b | 36,07 a | y=0,21181+4,0243x-0,4983x ^{1,5} | 0,999** |
| <i>A. mangium</i> | 0,24 a | 2,38 d | 6,07 ef | 7,45 g | y=-0,1360+1,6907x ^{0,5} | 0,925** |
| <i>P. oocarpa</i> | 0,33 a | 7,21 a | 12,24 a | 33,37 a | y=0,6348+1,1910x+1,8.10 ⁻⁸ e ^x | 0,999** |
| <i>P. elliottii</i> | 0,36 a | 2,91 b | 6,53 b | 11,73 b | y=0,3416+0,5761x | 0,996** |
| <i>P. caribaea</i> | 0,23 a | 3,04 b | 6,58 b | 14,39 b | y=-0,2080+0,7163x | 0,995** |

1/ As médias seguidas pela mesma letra nas colunas, dentro de cada experimento, não diferem entre si, em nível de 5%, pelo teste de Tukey.

Tabela 10A. Razão do teor de Cd entre a parte aérea e raízes de *Eucalyptus* spp., *Acacia mangium* e *Pinus* spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado

| Espécie | Proporção de solo contaminado, % | | | | Equação de regressão | r ² |
|-------------------------|----------------------------------|---------|--------|--------|--|----------------|
| | 0 | 5 | 10 | 20 | | |
| <i>E. cloëziana</i> | 0,7 a ^{1/} | 5,5 bc | 3,9 b | 4,5 b | sem ajuste | --- |
| <i>E. maculata</i> | 1,2 a | 4,6 c | 4,1 b | 3,4 b | sem ajuste | --- |
| <i>E. camaldulensis</i> | 1,9 a | 6,9 bc | 6,3 b | 3,5 b | sem ajuste | --- |
| <i>E. grandis</i> | 2,6 a | 31,9 b | 22,5 b | 10,0 b | $y=38,329-1,4392x-35,712e^{-x}$ | 0,993** |
| <i>E. pellita</i> | 4,1 a | 14,1 bc | 8,2 b | 4,9 b | sem ajuste | --- |
| <i>E. pilularis</i> | 4,4 a | 3,9 c | 3,2 b | 3,0 b | $y=4,4381-0,1501x+0,00385x^2$ | 0,977* |
| <i>E. punctata</i> | 5,2 a | 11,5 bc | 8,0 b | 6,5 b | sem ajuste | --- |
| <i>E. pyrocarpa</i> | 5,1 a | 3,8 c | 2,4 b | 3,2 b | sem ajuste | --- |
| <i>E. resinifera</i> | 5,1 a | 27,1 bc | 12,4 b | 5,2 b | $46,494-9,5769x^{0,5}-41,369e^{-x}$ | 0,929** |
| <i>E. torelliana</i> | 7,8 a | 5,7 bc | 4,1 b | 2,9 b | sem ajuste | --- |
| <i>E. urophylla</i> | 0,3 a | 18,7 bc | 9,7 b | 5,9 b | $y=20,751-0,7963x-20,390e^{-x}$ | 0,915* |
| <i>E. saligna</i> | 0,0 a | 15,9 bc | 11,4 b | 7,9 b | $y=17,7232-0,5093x-17,718e^{-x}$ | 0,984* |
| <i>E. citriodora</i> | 0,0 a | 4,4 c | 4,0 b | 2,0 b | sem ajuste | --- |
| <i>A. mangium</i> | 0,0 a | 156,9 a | 60,3 a | 64,2 a | $y=222,25-38,898x^{0,5}-222,09e^{-x}$ | 0,817** |
| <i>P. oocarpa</i> | 0,0 a | 6,5 b | 4,1 b | 2,7 a | $y=7,2031-0,2394x-7,2031e^{-x}$ | 0,961** |
| <i>P. elliottii</i> | 0,0 a | 13,5 a | 6,4 ab | 6,8 a | $y=18,1835-2,8096x^{0,5}-18,130e^{-x}$ | 0,861** |
| <i>P. caribaea</i> | 0,0 a | 17,0 a | 9,0 a | 5,6 a | $y=26,988-4,9835x^{0,5}-26,979e^{-x}$ | 0,951** |

1/ As médias seguidas pela mesma letra nas colunas, dentro de cada experimento, não diferem entre si, em nível de 5%, pelo teste de Tukey.

Tabela 11A. Teores de Pb na parte aérea de *Eucalyptus* spp., *Acacia mangium* e *Pinus* spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado

| Espécie | Proporção de solo contaminado, % | | | Equação de regressão | r ² |
|-------------------------|----------------------------------|----------|-----------|--|----------------|
| | 0 | 5 | 10 | | |
| <i>E. cloeziana</i> | 0,00 b ¹ | 3,78 ab | 4,24 fg | $y=3,2829+0,09885x-3,2828x^2$ | 0,999** |
| <i>E. maculata</i> | 0,11 b | 5,01 a | 6,58 cdef | $y=3,9584+0,0873x^{1,5}-3,8510e^{-x}$ | 0,999** |
| <i>E. camaldulensis</i> | 0,01 b | 2,69 abc | 2,90 g | $y=2,3137+0,00274x^{2,5}-2,3962e^{-x}$ | 0,995** |
| <i>E. grandis</i> | 0,05 b | 1,13 bc | 3,48 g | $y=0,1980+0,3522x$ | 0,990** |
| <i>E. pellita</i> | 0,76 b | 2,01 bc | 5,20 efg | $y=0,5993+0,1207x^2-0,02398x^{2,5}$ | 0,994** |
| <i>E. pilularis</i> | 0,90 b | 1,93 bc | 5,42 defg | $y=0,5715+0,1472x^2-0,03195x^{2,5}$ | 0,961** |
| <i>E. punctata</i> | 1,02 b | 1,86 bc | 8,33 bcd | $y=0,2516+0,2084x^2-0,04206x^{2,5}$ | 0,949** |
| <i>E. pyrocarpa</i> | 1,48 ab | 2,76 abc | 7,71 bcde | $y=1,0271+0,1831x^2-0,03776x^{2,5}$ | 0,969** |
| <i>E. resinifera</i> | 1,30 b | 2,93 abc | 8,48 bc | $y=0,8287+0,2132x^2-0,04427x^{2,5}$ | 0,973** |
| <i>E. torrelliana</i> | 0,87 b | 3,05 ab | 9,91 ab | $y=0,2702+0,2897x^2-0,06243x^{2,5}$ | 0,967** |
| <i>E. wrophylla</i> | 0,91 b | 2,62 abc | 8,72 abc | $y=0,4004+0,2243x^2-0,04575x^{2,5}$ | 0,977** |
| <i>E. saligna</i> | 1,58 ab | 2,82 abc | 9,65 ab | $y=0,7730+0,2571x^2-0,05498x^{2,5}$ | 0,930** |
| <i>E. citriodora</i> | 2,20 ab | 1,09 bc | 11,44 a | $y=0,2768+0,2994x^2-0,06356x^{2,5}$ | 0,768** |
| <i>A. mangium</i> | 4,27 a | 0,00 c | 8,41 bc | $y=-5,3698+3,2791x^{0,5}+9,6216e^{-x}$ | 0,610** |
| <i>P. oocarpa</i> | 1,61 a | 0,00 a | 4,07 a | $y=1,4670+0,7345x-1,8665x^{0,5}$ | 0,924** |
| <i>P. elliotii</i> | 1,83 a | 0,00 a | 3,86 a | $y=1,3094-0,1193x+0,02703x^2$ | 0,936** |
| <i>P. caribaea</i> | 1,94 a | 0,00 a | 0,32 b | $y=1,5864-0,1020x^2+0,02747x^{2,5}$ | 0,992** |

1/ As médias seguidas pela mesma letra nas colunas, dentro de cada experimento, não diferem entre si, em nível de 5%, pelo teste de Tukey.

Tabela 12A. Razão do teor de Pb entre a parte aérea e raízes de *Eucalyptus* spp., *Acacia mangium* e *Pinus* spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado

| Espécie | Proporção de solo contaminado, % | | | | Equação de regressão | r ² |
|-------------------------|----------------------------------|---------|--------|---------|---|----------------|
| | 0 | 5 | 10 | 20 | | |
| <i>E. cloëziana</i> | 2,5 a ¹ | 7,0 c | 5,6 b | 7,7 c | y=6,7909-4,3312e ^{-x} | 0,862** |
| <i>E. maculata</i> | 2,3 a | 5,3 c | 8,4 ab | 3,8 c | y=2,1384+0,6073x ^{1,5} -0,1317x ² | 0,990* |
| <i>E. camaldulensis</i> | 0,7 a | 11,7 bc | 15,0 a | 5,8 c | y=0,6756+4,2134x-0,08846x ^{1,5} | 0,999** |
| <i>E. grandis</i> | 1,8 a | 24,1 a | 9,9 ab | 6,1 c | y=39,122-7,8063x ^{0,5} -37,277e ^{-x} | 0,888** |
| <i>E. pellita</i> | 5,8 a | 12,0 bc | 5,5 b | 6,2 c | y=15,858-2,4053x ^{0,5} -10,038e ^{-x} | 0,605* |
| <i>E. pilularis</i> | 0,8 a | 9,3 c | 6,8 ab | 18,5 b | y=6,5152+0,02874x ² -5,6525e ^{-x} | 0,929* |
| <i>E. punctata</i> | 1,0 a | 12,5 bc | 3,7 b | 7,9 7 | y=10,365-0,22005x-9,3431e ^{-x} | 0,544** |
| <i>E. pyrocarpa</i> | 0,8 a | 9,5 c | 3,4A b | 6,7 c | y=7,8809-0,1154x-7,0450e ^{-x} | 0,604* |
| <i>E. resinifera</i> | 1,3 a | 8,3 c | 4,3A b | 5,7 c | y=7,6181-0,1299x-6,3545e ^{-x} | 0,759* |
| <i>E. torelliana</i> | 1,3 a | 8,7 c | 4,4 b | 28,3 a | y=3,2590+0,3104x+3,8719e ^{-x} | 0,948** |
| <i>E. urophylla</i> | 1,8 a | 5,5 c | 3,2 b | 10,3 bc | y=2,8552+0,01801x ² | 0,805** |
| <i>E. saligna</i> | 1,4 a | 8,3 c | 3,5 b | 17,4 b | y=3,3152+0,2144x+2,0.10 ⁻⁸ e ^{-x} | 0,849* |
| <i>E. citriodora</i> | 0,9 a | 19,0 ab | 4,4 b | 10,0 bc | y=22,6607-3,4928x ^{0,5} -21,717e ^{-x} | 0,579** |
| <i>A. mangium</i> | 1,1 a | 21,5 a | 3,6 b | 7,8 c | y=29,315-5,5496x ^{0,5} -28,1809e ^{-x} | 0,596** |
| <i>P. oocarpa</i> | 0,4 a | 12,5 a | 6,3 b | 9,0 a | y=11,2010-0,1641x-10,786e ^{-x} | 0,788* |
| <i>P. elliotii</i> | 0,5 a | 7,9 a | 5,0 b | 5,4 a | sem ajuste | --- |
| <i>P. caribaea</i> | 1,2 a | 13,0 a | 61,6 a | 4,5 a | y ⁻¹ =0,2474-0,04502x+0,00219x ² | 0,997* |

1/ As médias seguidas pela mesma letra nas colunas, dentro de cada experimento, não diferem entre si, em nível de 5%, pelo teste de Tukey.

Tabela 13A. Teores de Cu na parte aérea de *Eucalyptus* spp., *Acacia mangium* e *Pinus* spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado

| Espécie | Proporção de solo contaminado, % | | | | Equação de regressão | r ² |
|-------------------------|----------------------------------|------------|---------|-----------|---------------------------------------|----------------|
| | 0 | 5 | 10 | 20 | | |
| | ----- mg kg ⁻¹ ----- | | | | | |
| <i>E. cloëziana</i> | 5,58 ab ^{1/} | 8,39 abc | 6,44 d | 6,55 ef | $y=9,6628-0,7680x^{0,5}-4,0768e^{-x}$ | 0,772** |
| <i>E. maculata</i> | 5,78 ab | 9,62 a | 14,52 a | 12,59 a | $y=5,5311+0,7446x^{1,5}-0,1488x^2$ | 0,990** |
| <i>E. camaldulensis</i> | 4,90 ab | 6,94 bcde | 6,95 cd | 9,77 bcd | $y=5,1534+0,2272x$ | 0,940** |
| <i>E. grandis</i> | 7,12 a | 9,61 a | 9,02 c | 9,69 bcd | $y=9,4443-2,3210e^{-x}$ | 0,938** |
| <i>E. pellita</i> | 7,08 a | 9,19 ab | 9,31 bc | 10,84 ab | $y=7,1115+0,8078x^{0,5}$ | 0,970** |
| <i>E. pilularis</i> | 7,18 a | 6,90 bcde | 6,35 d | 5,71 f | $y=7,1949-0,07562x$ | 0,988** |
| <i>E. punctata</i> | 5,15 ab | 5,18 e | 5,64 d | 7,48 def | $y=5,0777+0,00598x^2$ | 0,998** |
| <i>E. pyrocarpa</i> | 7,04 a | 7,14 abcde | 6,41 d | 6,80 ef | sem ajuste | --- |
| <i>E. resinifera</i> | 5,76 ab | 6,89 bcde | 6,89 cd | 10,45 abc | $y=6,0683+0,0109x^2$ | 0,962** |
| <i>E. torelliana</i> | 6,58 ab | 6,62 cde | 7,68 cd | 7,46 def | $y=6,5047+0,2361x^{0,5}$ | 0,613** |
| <i>E. urophylla</i> | 4,23 b | 5,40 de | 5,94 d | 8,05 cdef | $y=4,2757+0,1863x$ | 0,989** |
| <i>E. saligna</i> | 4,93 ab | 7,71 abcd | 7,08 cd | 7,42 def | $y=7,4090-2,4740e^{-x}$ | 0,956** |
| <i>E. citriodora</i> | 7,06 a | 7,77 abcd | 11,67 b | 8,23 cde | $y=6,5832+0,1522x^2-0,03308x^{2,5}$ | 0,927** |
| <i>A. mangium</i> | 6,40 ab | 5,14 e | 5,82 d | 5,87 ef | sem ajuste | --- |
| <i>P. oocarpa</i> | 4,42 ab | 4,63 a | 9,10 a | 11,28 a | $y=3,8325+0,1208x^2-0,02282x^{2,5}$ | 0,959** |
| <i>P. elliottii</i> | 5,71 a | 5,16 a | 6,00 b | 8,68 b | $y=5,2971+0,00832x^2$ | 0,958** |
| <i>P. caribaea</i> | 3,46 b | 5,55 a | 8,31 a | 10,51 ab | $y=3,3954+0,3296x^{1,5}-0,05588x^2$ | 0,999** |

1/ As médias seguidas pela mesma letra nas colunas, dentro de cada experimento, não diferem entre si, em nível de 5%, pelo teste de Tukey.

Tabela 14A. Razão do teor de Cu entre a parte aérea e raízes de *Eucalyptus* spp., *Acacia mangium* e *Pinus* spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado

| Espécie | Proporção de solo contaminado, % | | | | Equação de regressão | r ² |
|----------------------------|----------------------------------|--------|--------|-----------|--------------------------------------|----------------|
| | 0 | 5 | 10 | 20 | | |
| <i>E. cloëziana</i> | 1,9 a ^{1/} | 16,7 b | 14,8 b | 27,7 bcd | $y=13,9956+0,03311x^2-12,1029e^{-x}$ | 0,969** |
| <i>E. maculata</i> | 2,2 a | 16,3 b | 19,1 b | 14,1 e | $y=2,0507-1,7791x-10,719x^{0,5}$ | 0,990** |
| <i>E. camaldulensis</i> | 1,8 a | 14,2 b | 21,1 b | 14,2 cde | $y=1,6882+3,2114x-0,1292x^2$ | 0,999** |
| <i>E. grandis</i> | 1,4 a | 13,7 b | 17,6 b | 20,1 e | $y=1,3772-0,6300x+7,0292x^{0,5}$ | 0,999** |
| <i>E. pellita</i> | 2,3 a | 15,6 b | 13,0 b | 10,8 b | $y=16,738-0,3060x-14,405e^{-x}$ | 0,993** |
| <i>E. pilularis</i> | 1,5 a | 15,1 b | 18,5 b | 33,5 b | $y=13,819+0,04903x^2-12,272e^{-x}$ | 0,999** |
| <i>E. punctata</i> | 2,1 a | 22,7 b | 19,0 b | 22,3 bcde | $y=21,1885+0,01567x-19046e^{-x}$ | 0,969** |
| <i>E. pyrocarpa</i> | 1,4 a | 17,5 b | 16,7 b | 27,6 bcd | $y=15,458+0,02942x^2-14,050e^{-x}$ | 0,986** |
| <i>E. resinifera</i> | 2,1 a | 16,1 b | 24,3 b | 15,1 e | $y=1,8339+3,7385x-0,1537x^2$ | 0,997** |
| <i>E. torelliana</i> | 1,7 a | 13,1 b | 19,4 b | 21,6 cde | $y=1,8340+2,5846x-0,07994x^2$ | 0,999** |
| <i>E. urophylla</i> | 2,3 a | 11,4 b | 17,3 b | 19,4 cde | $y=2,7158+4,0111x^{0,5}$ | 0,969** |
| <i>E. saligna</i> | 2,2 a | 13,6 b | 21,2 b | 31,0 bc | $y=1,1599+6,4177x^{0,5}$ | 0,986** |
| <i>E. citriodora</i> | 1,7 a | 14,6 b | 22,2 b | 18,0 de | $y=1,6284+3,2568x-0,1217x^2$ | 0,999** |
| <i>A. mangium</i> | 3,3 a | 54,0 a | 85,8 a | 124,1 a | $y=3,5675+13,792x-1,7378x^{1,5}$ | 0,999** |
| <i>Pinus</i> ^{2/} | 3,60 | 18,93 | 17,12 | 28,30 | $y=16,514+0,02836x^2-12,905e^{-x}$ | 0,973** |

1/ As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si, em nível de 5%, pelo teste de Tukey.

2/ Para o experimento com *Pinus*, o efeito principal para espécies e a interação entre as mesmas e as proporções de solo contaminado não foram significativos (P>0,05).

Tabela 15A. Teores de Fe na parte aérea de *Eucalyptus* spp., *Acacia mangium* e *Pinus* spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado

| Espécie | Proporção de solo contaminado, % | | | | Médias ^{2/} | Equação de regressão | r ² |
|-------------------------|----------------------------------|---------|----------|---------|----------------------|---|----------------|
| | 0 | 5 | 10 | 20 | | | |
| | ----- mg kg ⁻¹ ----- | | | | | | |
| <i>E. cloëziana</i> | 73 cd ^{1/} | 75 de | 82 d | 104 cd | --- | sem ajuste | --- |
| <i>E. maculata</i> | 107 bcd | 85 de | 103 cd | 127 bcd | --- | sem ajuste | --- |
| <i>E. camaldulensis</i> | 97 bcd | 71 e | 97 cd | 159 bc | --- | $y=96,946+11,197x-35,998x^{0,5}$ | 0,999* |
| <i>E. grandis</i> | 125 bcd | 162 bc | 124 bcd | 197 ab | --- | $y=136,77+1,2 \cdot 10^{-7}e^x$ | 0,743** |
| <i>E. pellita</i> | 197 a | 219 ab | 177 ab | 246 a | --- | $197,43+1,0 \cdot 10^{-7}e^x$ | 0,672** |
| <i>E. pilularis</i> | 156 ab | 93 cde | 135 abcd | 72 d | --- | $y=153,07-15,866x^{0,5}$ | 0,605** |
| <i>E. punctata</i> | 79 cd | 75 de | 92 d | 94 cd | --- | sem ajuste | --- |
| <i>E. pyrocarpa</i> | 93 bcd | 79 de | 107 bcd | 104 cd | --- | sem ajuste | --- |
| <i>E. resinifera</i> | 140 abc | 112 cde | 134 abcd | 95 cd | --- | $y=128,89-7,1 \cdot 10^{-8}e^x$ | 0,666* |
| <i>E. torelliana</i> | 155 ab | 255 a | 197 a | 231 a | --- | $Y=238,16-0,8953x-82,997e^{-x}$ | 0,709** |
| <i>E. urophylla</i> | 74 cd | 144 cd | 131 abcd | 152 bc | --- | $y=142,49-68,793e^{-x}$ | 0,941** |
| <i>E. saligna</i> | 69 d | 73 de | 64 d | 88 cd | --- | sem ajuste | --- |
| <i>E. citriodora</i> | 131 abcd | 138 cde | 164 abc | 152 bc | --- | sem ajuste | --- |
| <i>A. mangium</i> | 143 abc | 123 cde | 178 ab | 115 cd | --- | $y=129,57+1,3004x^{1,5}-2,7 \cdot 10^{-7}e^x$ | 0,709* |
| ----- | | | | | | | |
| <i>P. oocarpa</i> | 114 | 141 | 189 | 214 | 165 b | --- | --- |
| <i>P. elliottii</i> | 107 | 152 | 191 | 214 | 166 b | --- | --- |
| <i>P. caribaea</i> | 128 | 181 | 226 | 256 | 198 a | --- | --- |
| Médias ^{2/} | 117 | 158 | 202 | 228 | | $y=112,86+25,649x^{0,5}$ | 0,968** |

1/ As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si, em nível de 5%, pelo teste de Tukey.

2/ Para o experimento com *Pinus*, somente os efeitos principais foram significativos (P>0,05).

Tabela 16A. Teores de Fe nas raízes de *Eucalyptus* spp., *Acacia mangium* e *Pinus* spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado

| Espécie | Proporção de solo contaminado, % | | | | Equação de regressão | r ² |
|-------------------------|----------------------------------|----------|-----------|-------------|--|----------------|
| | 0 | 5 | 10 | 20 | | |
| | ----- mg kg ⁻¹ ----- | | | | | |
| <i>E. cloëziana</i> | 10.323 ab | 8.317 a | 5.005 cd | 8.403 abc | y=10.635-504,15x ^{1,5} +107,0x ² | 0,955** |
| <i>E. maculata</i> | 6.354 bcde | 6.391 ab | 2.171 d | 4.915 cde | y=7.048,0-136,96x ² +29,406x ^{2,5} | 0,832** |
| <i>E. camaldulensis</i> | 3.730 e | 3.127 b | 3.690 cd | 2.726 e | sem ajuste | --- |
| <i>E. grandis</i> | 4.186 de | 6.292 ab | 4.583 cd | 6.667 abcde | sem ajuste | --- |
| <i>E. pellita</i> | 9.025 abc | 6.102 ab | 2.836 cd | 5.314 bcde | y=9.298,6-979,18x ² +38,770x ² | 0,953** |
| <i>E. pilularis</i> | 3.806 e | 5.380 ab | 6.536 bc | 9.245 ab | y=3.893,6+268,35x | 0,998** |
| <i>E. punctata</i> | 5.218 cde | 5.509 ab | 3.036 cd | 7.022 abcd | sem ajuste | --- |
| <i>E. pyrocarpa</i> | 5.231 cde | 8.363 a | 6.860 abc | 6.931 abcde | y=8.343,3-81,662x-3.108,9e ^{-x} | 0,859* |
| <i>E. resinifera</i> | 7.166 abcde | 5.536 ab | 5.324 cd | 10.063 a | y=7.190,5-506,55x+32,485x ² | 0,999** |
| <i>E. torelliana</i> | 6.149 bcde | 4.763 ab | 6.139 bcd | 3.844 de | sem ajuste | --- |
| <i>E. urophylla</i> | 8.290 abcd | 3.051 b | 3.903 cd | 7.066 abcd | y=2.783,2+10,730x ² +5.507,0e ^{-x} | 0,999** |
| <i>E. saligna</i> | 7.395 abcde | 5.727 ab | 3.909 cd | 7.010 abcd | y=7.516,4-358,95x ^{1,5} +78,943x ² | 0,986** |
| <i>E. citriodora</i> | 9.084 abc | 6.923 ab | 10.874 a | 8.368 abc | sem ajuste | --- |
| <i>A. mangium</i> | 11.058 a | 7.750 a | 10.354 ab | 7.557 abcd | sem ajuste | --- |
| <i>P. oocarpa</i> | 6.068 Aab | 7.000 Aa | 8.955 Ab | 9.869 Aab | sem ajuste | --- |
| <i>P. elliottii</i> | 3.449 Bb | 4.759 Ba | 9.937 Ab | 13.929 Aa | y=3.174,6+553,59x | 0,956** |
| <i>P. caribaea</i> | 9.024 Ba | 9.552 Ba | 21.065 Aa | 7.521 Bb | y=7.179,1+427,69x ² -95,370x ^{2,5} | 0,880** |

1/ As médias seguidas pela mesma letra nas colunas, dentro de cada experimento, não diferem entre si, em nível de 5%, pelo teste de Tukey.

Tabela 17A. Razão do teor de Fe entre a parte aérea e raízes de *Eucalyptus* spp., *Acacia mangium* e *Pinus* spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado

| Espécie | Proporção de solo contaminado, % | | | | Equação de regressão | r ² |
|-----------------------------------|----------------------------------|----------|----------|---------|--------------------------------------|----------------|
| | 0 | 5 | 10 | 20 | | |
| <i>E. cloëziana</i> ^{1/} | 140,7 | 120,0 | 70,4 | 89,7 | --- | --- |
| <i>E. maculata</i> | 58,9 | 77,0 | 23,1 | 40,6 | --- | --- |
| <i>E. camaldulensis</i> | 40,1 | 383,9 | 41,6 | 19,5 | --- | --- |
| <i>E. grandis</i> | 34,3 | 44,9 | 37,4 | 36,0 | --- | --- |
| <i>E. pellita</i> | 48,9 | 30,6 | 19,6 | 26,2 | --- | --- |
| <i>E. pilularis</i> | 27,3 | 58,1 | 54,8 | 137,3 | --- | --- |
| <i>E. punctata</i> | 65,7 | 75,8 | 34,9 | 74,6 | --- | --- |
| <i>E. pyrocarpa</i> | 58,1 | 107,4 | 68,9 | 69,9 | --- | --- |
| <i>E. resinifera</i> | 51,4 | 50,4 | 41,7 | 112,1 | --- | --- |
| <i>E. torelliana</i> | 44,2 | 22,4 | 35,3 | 18,3 | --- | --- |
| <i>E. urophylla</i> | 115,2 | 23,9 | 30,6 | 56,0 | --- | --- |
| <i>E. saligna</i> | 112,0 | 79,8 | 61,7 | 84,7 | --- | --- |
| <i>E. citriodora</i> | 73,4 | 53,9 | 71,5 | 57,2 | --- | --- |
| <i>A. mangium</i> | 83,8 | 65,1 | 59,3 | 66,7 | --- | --- |
| <i>P. oocarpa</i> | 62,2 Aab ^{2/} | 52,5 Aa | 55,3 Ab | 48,0 Aa | sem ajuste | --- |
| <i>P. elliottii</i> | 33,7 Ab | 32,2 Aa | 55,3 Ab | 68,1 Aa | sem ajuste | --- |
| <i>P. caribaea</i> | 76,7 ABa | 54,7 BCa | 103,3 Aa | 30,9 Ca | $y=63,542+1,0298x^{1,5}-2,5.10^{-7}$ | 0,777* |

1/ Para o experimento de eucaliptos, não houve efeito significativo pelo teste F (P > 0,05).

2/As médias seguidas pela mesma letra nas colunas, dentro de cada experimento, não diferem entre si, em nível de 5%, pelo teste de Tukey.

Tabela 18A. Teores de P na parte aérea e raízes de *Eucalyptus* spp., *Acacia mangium* e *Pinus* spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado

| Espécie | Proporção de solo contaminado, % | | | | Proporção de solo contaminado, % | | | | Médias ^{2/} |
|-------------------------|----------------------------------|------------|------------|------------|----------------------------------|-------------|------------|------------|----------------------|
| | 0 | 5 | 10 | 20 | 0 | 5 | 10 | 20 | |
| | Parte aérea, g kg ⁻¹ | | | | Raízes, g kg ⁻¹ | | | | |
| <i>E. cloëziana</i> | 0,80 Bab ^{1/} | 0,68 Ba | 0,90 Bbc | 1,47 Aab | 0,49 ABbcd | 0,59 Ade | 0,36 Bcd | 0,45 ABcde | --- |
| <i>E. maculata</i> | 1,01 Aa | 0,55 Babc | 1,25 Aa | 1,00 Acdef | 0,63 Bb | 0,75 ABbcde | 0,89 Aa | 0,87 Aa | --- |
| <i>E. camaldulensis</i> | 0,99 Aa | 0,64 Bab | 0,72 Bbcde | 0,84 ABefg | 0,48 Bbcd | 0,92 Aab | 0,54 Bbcd | 0,61 Bbc | --- |
| <i>E. grandis</i> | 0,71 ABabcd | 0,24 Ccd | 0,49 BCde | 0,76 Afg | 0,45 Bbcd | 0,73 Abcde | 0,47 Bbcd | 0,36 Bdef | --- |
| <i>E. pellita</i> | 0,42 Bd | 0,33 Bbcd | 0,57 Bde | 0,96 Adef | 0,58 Bbc | 0,88 Aab | 0,57 Bbc | 0,49 Bcd | --- |
| <i>E. pilularis</i> | 0,50 Cbcd | 0,38 Cabcd | 0,79 Bbcd | 1,04 Acdef | 0,58 Bbc | 0,96 Aa | 0,47 Bbcd | 0,02 Cg | --- |
| <i>E. punctata</i> | 0,52 Bbcd | 0,20 Cd | 0,71 Bbcde | 1,16 Abcde | 0,48 Bbcd | 0,78 Aabcd | 0,55 Bbc | 0,24 Cef | --- |
| <i>E. pyrocarpa</i> | 0,44 Ccd | 0,38 Cabcd | 1,00 Bab | 1,39 Aab | 0,58 Bbc | 0,98 Aa | 0,55 Bbcd | 0,20 Cfg | --- |
| <i>E. resinifera</i> | 0,42 Cd | 0,32 Cbcd | 0,78 Bbcde | 1,60 Aa | 0,53 Bbcd | 0,88 Aab | 0,64 Bb | 0,54 Bcd | --- |
| <i>E. torelliana</i> | 0,55 Bbcd | 0,40 Babcd | 0,51 Bde | 0,84 Afg | 0,58 Bbc | 0,84 Aabc | 0,34 Cd | 0,38 Cdef | --- |
| <i>E. urophylla</i> | 0,46 Bcd | 0,36 Babcd | 0,51 Bde | 1,18 Abcd | 0,33 Bd | 0,66 Acde | 0,40 Bcd | 0,66 Abc | --- |
| <i>E. saligna</i> | 0,51 Bbcd | 0,43 Babcd | 0,67 Bcde | 1,32 Aabc | 0,38 Ccd | 0,61 ABde | 0,50 BCbcd | 0,76 Aab | --- |
| <i>E. citriodora</i> | 0,75 Babc | 0,62 Bab | 0,65 Bcde | 1,01 Acdef | 0,62 Ab | 0,54 ABe | 0,45 Bbcd | 0,59 ABbc | --- |
| <i>A. mangium</i> | 0,97 Aa | 0,66 Ba | 0,46 Be | 0,62 Bg | 0,87 Aa | 0,29 Bf | 0,44 Bbcd | 0,45 Bcd | --- |
| <i>P. oocarpa</i> | 0,71 | 0,94 | 1,03 | 1,20 | 0,76 | 0,67 | 0,50 | 0,44 | 0,59 b |
| <i>P. elliottii</i> | 0,75 | 1,12 | 1,09 | 0,98 | 0,90 | 0,93 | 0,71 | 0,65 | 0,80 a |
| <i>P. caribaea</i> | 0,79 | 0,96 | 1,07 | 1,26 | 0,90 | 0,64 | 0,74 | 0,64 | 0,73 ab |
| Médias ^{2/} | 0,75 B | 1,01 A | 1,07 A | 1,14 A | 0,85 A | 0,75 AB | 0,65 BC | 0,58 C | |

1/ As médias seguidas pela mesma letra nas colunas, dentro de cada experimento, não diferem entre si, em nível de 5%, pelo teste de Tukey.

2/ Para o experimento com *Pinus*, o efeito principal para espécies na PA e a interação entre as mesmas e as PSC na PA e raízes não foram significativos (P>0,05).

Tabela 19A. Teores de K na parte aérea e raízes de *Eucalyptus* spp., *Acacia mangium* e *Pinus* spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado

| Espécie | Proporção de solo contaminado, % | | | | Proporção de solo contaminado, % | | | |
|-------------------------|---|-----------|-----------|-------------|--|-----------|-----------|-----------|
| | 0 | 5 | 10 | 20 | 0 | 5 | 10 | 20 |
| | ----- Parte aérea, g kg ⁻¹ ----- | | | | ----- Raízes, g kg ⁻¹ ----- | | | |
| <i>E. cloëziana</i> | 4,78 ABabc ^{1/} | 5,56 Abc | 5,06 ABcd | 3,76 Bd | 0,98 Bc | 2,94 Abc | 2,96 Acd | 0,68 Be |
| <i>E. maculata</i> | 5,67 Bab | 5,46 Bbc | 7,75 Ab | 3,86 Cbcd | 2,14 Bbc | 3,21 Bbc | 4,78 Aabc | 5,35 Abcd |
| <i>E. camaldulensis</i> | 4,48 Babc | 6,73 Aabc | 6,58 Abc | 4,82 Babcd | 2,19 Bbc | 5,38 Aa | 4,78 Aabc | 4,64 Acd |
| <i>E. grandis</i> | 4,48 Babc | 6,44 Aabc | 6,29 Abc | 3,95 Bbcd | 2,90 Cab | 3,51 BCbc | 4,92 Bab | 6,94 Ab |
| <i>E. pellita</i> | 4,44 Cabc | 8,14 Aa | 6,39 Bbc | 3,81 Ccd | 2,33 Cabc | 4,28Bab | 6,39 Aa | 6,94 Ab |
| <i>E. pilularis</i> | 3,55 Bc | 6,97 Aab | 5,58 Acd | 3,76 Bd | 2,00 Bbc | 3,85 Aab | 1,68 BCd | 0,30 Ce |
| <i>E. punctata</i> | 4,73 Babc | 4,98 ABc | 6,33 Abc | 3,71 Bd | 2,15 Bbc | 3,99 Aab | 4,69 Aabc | 0,96 Be |
| <i>E. pyrocarpa</i> | 4,24 BCbc | 5,66 Bbc | 7,56 Ab | 3,62 Cd | 1,81 ABbc | 3,08 Abc | 2,16 Ad | 0,63 Be |
| <i>E. resinifera</i> | 4,73 Cabc | 6,24 ABbc | 7,55 Ab | 5,66 BCabc | 2,05 BCbc | 3,28 ABbc | 4,64 Aabc | 1,48 Ce |
| <i>E. torelliana</i> | 4,26 Cbc | 6,00 Bbc | 7,84 Ab | 5,28 BCabcd | 3,14 Aab | 4,42 Aab | 4,45 Abc | 3,89 Ad |
| <i>E. urophylla</i> | 3,50 Bc | 6,10 Abc | 6,23 Abc | 5,38 Aabcd | 1,78 Bbc | 3,08 Bbc | 5,12 Aab | 4,99 Acd |
| <i>E. saligna</i> | 3,07 Bc | 5,55 Abc | 6,91 Abc | 5,47 Aabcd | 2,22 Cbc | 4,21 Bab | 6,12 Aab | 5,91 Abc |
| <i>E. citriodora</i> | 4,70 Babc | 5,80 Bbc | 10,57 Aa | 5,71 Bab | 1,45 Abc | 1,70 Ac | 2,54 Ad | 1,83 Ae |
| <i>A. mangium</i> | 6,28 Aa | 5,01 ABc | 4,25 Bd | 6,14 Aa | 4,15 Ca | 4,29 Cab | 6,34 Ba | 9,63 Aa |
| ----- | | | | | | | | |
| <i>P. oocarpa</i> | 6,23 Ca | 8,40 Ba | 10,62 Aa | 6,00 Ca | 3,52 Ab | 2,58 Aa | 1,35 Ba | 0,36 Bb |
| <i>P. elliottii</i> | 5,03 Ba | 7,80 Aa | 8,27 Ab | 5,33 Ba | 5,16 Aa | 2,75 Ba | 1,20 Ca | 2,46 Ba |
| <i>P. caribaea</i> | 5,39 Ba | 9,07 Aa | 4,34 Bc | 5,90 Ba | 4,00 Ab | 3,02 ABA | 2,01 Ba | 2,19 Ba |

1/ As médias seguidas pela mesma letra nas colunas, dentro de cada experimento, não diferem entre si, em nível de 5%, pelo teste de Tukey.

Tabela 20A. Teores de S na parte aérea e raízes de *Eucalyptus* spp., *Acacia mangium* e *Pinus* spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado

| Espécie | Proporção de solo contaminado, % | | | | Proporção de solo contaminado, % | | | |
|-------------------------|---|-----------|-----------|-------------|--|------------|-----------|--------------|
| | 0 | 5 | 10 | 20 | 0 | 5 | 10 | 20 |
| | ----- Parte aérea, g kg ⁻¹ ----- | | | | ----- Raízes, g kg ⁻¹ ----- | | | |
| <i>E. cloëziana</i> | 0,63 Cbc | 2,64 Ba | 2,29 Bbc | 3,54 Aabc | 1,08 Cbcde | 2,34 Acde | 1,51 BCde | 1,85 ABcdefg |
| <i>E. maculata</i> | 0,50 Bbc | 2,27 Aab | 2,95 Ab | 2,87 Acdef | 1,44 Cbcde | 2,67 Bbcd | 3,76 Ab | 2,85 Bb |
| <i>E. camaldulensis</i> | 0,32 Bc | 0,83 Bcd | 1,02 Be | 1,81 Agh | 0,97 Dede | 3,29 Ab | 2,57 Bc | 1,64 Cdefg |
| <i>E. grandis</i> | 0,25 Cc | 0,03 Cd | 1,46 Bcde | 2,75 Acdefg | 0,71 Be | 2,41 Acde | 2,13 Ac | 2,36 Abcd |
| <i>E. pellita</i> | 0,36 Bc | 0,43 Bd | 2,84 Ab | 3,43 Aabc | 1,49 Cbcd | 2,75 Abcd | 2,16 Bcd | 2,61 Bbc |
| <i>E. pilularis</i> | 0,90 Bbc | 0,10 Cd | 1,54 Bcde | 2,44 Adefg | 1,23 Bbcde | 2,67 Abcd | 1,64 Bde | 1,43 Bfg |
| <i>E. punctata</i> | 0,89 Cbc | 0,95 Ccd | 2,19 Bbcd | 3,41 Abc | 1,47 Bbcd | 2,16 Ade | 1,33 Be | 1,55 Befg |
| <i>E. pyrocarpa</i> | 1,37 Cb | 1,48 Cbc | 2,32 Bbc | 3,23 Ac | 1,80 Bb | 2,96 Abc | 1,65 Bde | 1,42 Bfg |
| <i>E. resinifera</i> | 0,93 Cbc | 1,60 Cbc | 2,56 Bb | 4,36 Aa | 1,80 Cb | 2,84 Abcd | 2,63 ABc | 2,23 BCbcde |
| <i>E. torelliana</i> | 0,98 Abc | 0,43 Ad | 0,68 Ae | 1,13 Ah | 0,81 Bde | 1,89 Ae | 1,57 Ade | 1,40 Afg |
| <i>E. urophylla</i> | 0,31 Bc | 0,42 Bd | 0,82 Be | 2,03 Afgh | 1,07 Bbcde | 2,14 Ade | 1,58 ABde | 2,16 Abcdef |
| <i>E. saligna</i> | 0,34 Cc | 0,93 BCcd | 1,51 Bcde | 3,01 Acde | 1,14 Cbcde | 2,25 ABcde | 1,67 BCde | 2,31 Abcd |
| <i>E. citriodora</i> | 0,56 Bbc | 0,89 Bcd | 1,26 Bde | 2,23 Aefg | 1,67 Bbc | 2,30 Acde | 2,44 Ac | 1,36 Bg |
| <i>A. mangium</i> | 2,63 Ba | 2,97 Ba | 4,60 Aa | 4,25 Aab | 4,67 Ba | 5,53 Aa | 4,83 Ba | 4,57 Ba |
| <i>P. oocarpa</i> | 0,78 Ca | 1,11 BCa | 1,49 Ba | 2,59 Aa | 1,86 Ba | 2,44 ABa | 2,74 Aa | 0,96 Ca |
| <i>P. elliottii</i> | 0,42 Ba | 0,22 Bb | 0,64 ABb | 1,03 Ac | 0,44 Cb | 0,96 BCb | 2,29 Aa | 1,35 Ba |
| <i>P. caribaea</i> | 0,60 Ba | 0,68 Bab | 1,53 Aa | 1,91 Ab | 1,63 Aa | 1,76 Aab | 2,13 Aa | 1,54 Aa |

1/ As médias seguidas pela mesma letra nas colunas, dentro de cada experimento, não diferem entre si, em nível de 5%, pelo teste de Tukey.

Tabela 21A. Teores de Ca na parte aérea e raízes de *Eucalyptus* spp., *Acacia mangium* e *Pinus* spp em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado

| Espécie | Proporção de solo contaminado, % | | | | Proporção de solo contaminado, % | | | |
|-------------------------|---|------------|-----------|-------------|--|----------|------------|-----------|
| | 0 | 5 | 10 | 20 | 0 | 5 | 10 | 20 |
| | ----- Parte aérea, g kg ⁻¹ ----- | | | | ----- Raízes, g kg ⁻¹ ----- | | | |
| <i>E. cloëziana</i> | 5,5 Cg | 10,0 Acde | 6,3 BCde | 8,4 ABCdef | 7,7 Acd | 4,9 BCcd | 4,4 Ca | 6,1 ABcd |
| <i>E. maculata</i> | 11,0 ABef | 11,6 Aabcd | 9,3 Babc | 9,6 ABbcde | 13,1 Aab | 7,9 Ca | 8,0 ABab | 10,7 Ba |
| <i>E. camaldulensis</i> | 10,1 Ae | 7,6 Be | 4,4 Ce | 7,4 Bef | 8,2 Acd | 4,9 Ccd | 7,3 BCbcde | 6,4 BCbcd |
| <i>E. grandis</i> | 14,6 Acd | 10,2 Bcde | 6,5 Ccde | 10,8 Babcd | 11,8 Ab | 4,3 Cd | 5,3 Babcd | 6,2 Bcd |
| <i>E. pellita</i> | 13,6 Ade | 12,5 Aabc | 8,0 Bbcd | 12,5 Aa | 12,1 Aab | 4,6 Cd | 6,3 Cbcde | 7,4 Bbcd |
| <i>E. pilularis</i> | 15,2 Abcd | 11,7 Babc | 7,5 Ccd | 10,2 Babcde | 14,3 Aa | 5,2 Ccd | 5,8 Bbcde | 7,9 Bbc |
| <i>E. punctata</i> | 18,6 Aa | 10,6 Bcd | 7,9 Cbcd | 11,9 Bab | 8,4 Acd | 5,1 Bcd | 5,3 Cbcde | 7,8 Abc |
| <i>E. pyrocarpa</i> | 16,7 Aabc | 13,8 Bab | 9,1 Cabcd | 11,0 Cabc | 14,3 Aa | 5,4 Cbcd | 5,1 Cbcde | 7,8 Bbc |
| <i>E. resinifera</i> | 16,7 Aabc | 14,3 Ba | 11,5 Ca | 11,9 Cab | 8,8 Ac | 4,9 Bcd | 4,8 Bcde | 6,3 Bbcd |
| <i>E. torelliana</i> | 13,5 Ade | 12,3 Aabc | 7,2 Bcde | 6,7 Bf | 6,7 Acde | 4,9 Bcd | 4,0 Bef | 5,7 ABcd |
| <i>E. urophylla</i> | 8,5 Bf | 11,2 Abcd | 6,6 Bcde | 8,1 Bdef | 4,6 Aef | 3,8 Ad | 4,2 Adef | 5,3 Ade |
| <i>E. saligna</i> | 9,7 BCf | 12,2 Aabc | 8,0 Cbcd | 11,6 ABab | 6,6 Ade | 6,8 Aabc | 6,8 Aabc | 6,7 Abcd |
| <i>E. citriodora</i> | 11,1 Aef | 10,5 Acd | 10,7 Aab | 10,9 Aabc | 6,9 ABcd | 7,5 ABab | 6,4 Babcd | 8,4 Ab |
| <i>A. mangium</i> | 17,9 Aab | 8,8 Cde | 10,9 BCa | 11,8 Bab | 2,8 Af | 3,4 Ad | 2,6 Af | 3,3 Ae |
| ----- | | | | | | | | |
| <i>P. oocarpa</i> | 3,5 Da | 5,2 Ca | 6,6 Ba | 8,3 Ab | 3,5 Ca | 5,7 ABa | 7,0 Aa | 5,4 Ba |
| <i>P. elliottii</i> | 3,3 BCa | 3,0 Cb | 5,7 Aa | 4,5 ABc | 1,7 Cb | 5,2 ABa | 5,6 Ab | 4,1 Ba |
| <i>P. caribaea</i> | 3,2 Ca | 4,5 Ca | 6,2 Ba | 10,1 Aa | 2,6 Bab | 5,1 Aa | 4,2 Ac | 4,6 Aa |

1/ As médias seguidas pela mesma letra nas colunas, dentro de cada experimento, não diferem entre si, em nível de 5%, pelo teste de Tukey.

Tabela 22A. Teores de Mg na parte aérea e raízes de *Eucalyptus* spp., *Acacia mangium* e *Pinus* spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado

| Espécie | Proporção de solo contaminado, % | | | | Proporção de solo contaminado, % | | | | Médias ^{2/} |
|-------------------------|---|------------|-----------|------------|--|-----------|---------|------------|----------------------|
| | 0 | 5 | 10 | 20 | 0 | 5 | 10 | 20 | |
| | ----- Parte aérea, g kg ⁻¹ ----- | | | | ----- Raízes, g kg ⁻¹ ----- | | | | |
| <i>E. cloëziana</i> | 2,37 Ccd | 2,72 BCcde | 3,04 ABbc | 3,51 Aabcd | 2,29 Acd | 1,90 ABbc | 1,50 Bb | 1,51 Babc | --- |
| <i>E. maculata</i> | 2,38 Bcd | 2,33 Bef | 3,03Abc | 2,61 ABef | 2,54 Aabcd | 1,85 Bbc | 1,48 Bb | 1,80 Bab | --- |
| <i>E. camaldulensis</i> | 2,01 Ad | 1,81 Af | 1,93 Ae | 1,96 Af | 1,32 Be | 1,81 Abc | 1,35 Bb | 1,25 Bbc | --- |
| <i>E. grandis</i> | 2,56 Acd | 2,85 Acde | 2,64 Acd | 3,01 Acde | 2,08 ABd | 2,25 Ab | 1,62 Cb | 1,65 BCabc | --- |
| <i>E. pellita</i> | 2,81 Bc | 3,34 Abc | 3,59 Aab | 3,76 Aab | 2,43 Acd | 1,62 Bc | 1,17 Cb | 1,22 BCc | --- |
| <i>E. pilularis</i> | 3,52 Aa | 3,84 Aab | 3,61 Aab | 3,67 Aabc | 2,74 Aabc | 2,05 Bbc | 1,19 Cb | 1,31 Cbc | --- |
| <i>E. punctata</i> | 2,83 Abc | 2,57 Ade | 2,54 Acde | 2,96 Ade | 2,65 Aabcd | 1,82 Bbc | 1,35 Cb | 1,72 BCabc | --- |
| <i>E. pyrocarpa</i> | 3,50 Bab | 4,08 Aa | 4,03 Aa | 4,12 Aa | 3,02 Aab | 2,15 Bbc | 1,17 Cb | 1,43 Cabc | --- |
| <i>E. resinifera</i> | 2,46 Ccd | 2,92 BCcde | 3,13 Bbc | 4,02 Aa | 2,35 Acd | 1,84 Bbc | 1,32 Cb | 1,37 Cbc | --- |
| <i>E. torelliana</i> | 2,44 ABcd | 2,90 Acde | 2,16 Bde | 2,15 Bf | 2,13 Ad | 1,99 Abc | 1,35 Bb | 1,30 Bbc | --- |
| <i>E. urophylla</i> | 1,99 Bd | 2,93 Acde | 2,66 Acd | 3,15 Abcde | 2,26 Acd | 1,80 Bbc | 1,27 Cb | 1,32 Cbc | --- |
| <i>E. saligna</i> | 2,30 Bcd | 2,93 Acde | 2,67 ABcd | 3,14 Abcde | 2,53 Abcd | 2,08 Bbc | 1,63 Cb | 1,99 BCa | --- |
| <i>E. citriodora</i> | 2,07 Bd | 3,02 Acd | 3,04 Abc | 3,05 Acde | 2,48 Abcd | 1,72 Bbc | 1,38 Bb | 1,82 Bab | --- |
| <i>A. mangium</i> | 2,57 Acd | 2,47 Adef | 2,67 Acd | 2,55 Aef | 3,11 Ba | 3,67 Aa | 2,38 Ca | 1,95 Ca | --- |
| <i>P. oocarpa</i> | 1,19 Ca | 2,98 ABa | 2,47 Bab | 3,17 Aa | 1,45 | 1,17 | 1,21 | 0,95 | 1,20 a |
| <i>P. elliottii</i> | 1,21 Ba | 1,95 Ab | 1,96 Ab | 1,75 ABb | 1,18 | 0,82 | 0,86 | 0,86 | 0,93 b |
| <i>P. caribaea</i> | 1,24 Ca | 2,39 Bab | 2,71 ABa | 3,10 Aa | 1,21 | 1,02 | 0,90 | 0,76 | 0,97 b |
| Médias ^{2/} | --- | --- | --- | --- | 1,28 A | 1,00 B | 0,99 B | 0,86 C | |

1/ As médias seguidas pela mesma letra nas colunas, dentro de cada experimento, não diferem entre si, em nível de 5%, pelo teste de Tukey.

2/ Para o experimento com *Pinus*, nas raízes o efeito principal para espécies e a interação entre as mesmas e as PSC não foram significativos (P>0,05).

Tabela 23A. Teores de Mn na parte aérea e raízes de *Eucalyptus* spp., *Acacia mangium* e *Pinus* spp. em misturas de solo com proporções crescentes de solo contaminado

| Espécie | Proporção de solo contaminado, % | | | | Proporção de solo contaminado, % | | | | Médias ^{2/} |
|-------------------------|--|-----------|------------|-----------|---|---------|---------|---------|----------------------|
| | 0 | 5 | 10 | 20 | 0 | 5 | 10 | 20 | |
| | ----- Parte aérea, mg kg ⁻¹ ----- | | | | ----- Raízes, mg kg ⁻¹ ----- | | | | |
| <i>E. cloëziana</i> | 362 Af | 325 Ade | 354 Aef | 386 Acde | 260 Aabc | 121 ABb | 105 Bb | 141 ABb | --- |
| <i>E. maculata</i> | 587ABe | 470 Bbcd | 611 Aab | 502 ABbc | 337 Aab | 136 Bb | 147 Bb | 123 Bb | --- |
| <i>E. câmaldulensis</i> | 530 Ae | 527 Aab | 475 Aabcde | 450 Acd | 194 Abc | 147 Ab | 155 Ab | 116 Ab | --- |
| <i>E. grandis</i> | 1106 Aa | 503 Bbc | 502 Babcde | 625 Bab | 162 Abc | 88 Ab | 89 Ab | 78 Ab | --- |
| <i>E. pellita</i> | 762 Abcd | 492 Bbc | 448 Bbcdef | 529 Bbc | 202 Abc | 133 Ab | 112 Ab | 107 Ab | --- |
| <i>E. pilularis</i> | 623 Ade | 356 Bcde | 364 Bef | 374 Bcde | 171 Abc | 99 Ab | 124 Ab | 127 Ab | --- |
| <i>E. punctata</i> | 1160 Aa | 415 Dbcd | 589 Cabc | 764 Ba | 264 Aabc | 84 Bb | 77 Bb | 91 Bb | --- |
| <i>E. pyrocarpa</i> | 523 Aef | 352 Bcde | 412 ABdef | 411 ABcde | 161 Abc | 99 Ab | 126 Ab | 150 Ab | --- |
| <i>E. resinifera</i> | 576 ABe | 512 Babc | 628 ABa | 644 Aab | 142 Ac | 94 Ab | 85 Ab | 77 Ab | --- |
| <i>E. torelliana</i> | 789 Abc | 667 ABa | 560 Babcd | 327 Cde | 218 Abc | 154 ABb | 130 ABb | 70 Bb | --- |
| <i>E. urophylla</i> | 663 Acde | 493 Bbc | 429 Bcdef | 426 Bcd | 121 Ac | 115 Ab | 94 Ab | 93 Ab | --- |
| <i>E. saligna</i> | 819 Abc | 509 Babc | 460 Bbcdef | 446 Bcd | 196 Abc | 129 Ab | 113 Ab | 118 Ab | --- |
| <i>E. citriodora</i> | 835 Ab | 513 BCabc | 542 Babcd | 411 Ccde | 256 Aabc | 125 ABb | 102 Bb | 103 Bb | --- |
| <i>A. mangium</i> | 159 Bg | 236 ABe | 298 Af | 249 Ae | 425 Ca | 1446 Aa | 713 Ba | 431 Ca | --- |
| ----- | | | | | | | | | |
| <i>P. oocarpa</i> | 316 Ba | 519 Aa | 510 Aab | 502 Aa | 230 | 159 | 131 | 115 | 159 b |
| <i>P. elliotii</i> | 311 Ba | 357 ABb | 429 Ab | 269 Bb | 341 | 193 | 157 | 106 | 199 ab |
| <i>P. caribaea</i> | 316 Ca | 505 Ba | 609 Aa | 527 Ba | 341 | 208 | 278 | 120 | 237 a |
| Médias ^{2/} | --- | --- | --- | --- | 304 A | 186 B | 189 B | 114 C | |

1/ As médias seguidas pela mesma letra nas colunas, dentro de cada experimento, não diferem entre si, em nível de 5%, pelo teste de Tukey.

2/ Para o experimento com *Pinus*, nas raízes o efeito principal para espécies e a interação entre as mesmas e as PSC não foram significativos (P>0,05).