

GRAZIELLA DE SÁ GATTAI

**EFEITO DOS FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES
SOBRE O CRESCIMENTO DE ESPÉCIES ARBUSTIVAS E
ATIVIDADE MICROBIANA EM SOLO CONTAMINADO COM
METAIS PESADOS**

RECIFE - PE

2006

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS

**EFEITO DOS FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES SOBRE O
CRESCIMENTO DE ESPÉCIES ARBUSTIVAS E ATIVIDADE MICROBIANA EM
SOLO CONTAMINADO COM METAIS PESADOS**

Graziella de Sá Gattai

**Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Biologia de Fungos da
Universidade Federal de Pernambuco,
para obtenção do grau de Mestre.**

**Orientadora: Leonor Costa Maia
Co-orientadora: Sônia Valéria Pereira**

**Recife – PE
Fevereiro 2006**

Gattai, Graziella de Sá

Efeitos dos fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento de espécies arbustivas e atividade microbiana em solo contaminado com metais pesados / Graziella de Sá Gattai. – Recife : O Autor, 2006.

84 : il., fig., tab.

Dissertação(mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco. CCB. Mestrado em Biologia de Fungos, 2006.

Incluir bibliografia e anexos.

1. Micorriza arbuscular. 2. Atividade microbiana. 3. Metais pesados – Solo contaminado. 4. Espécies arbustivas – Seleção. I. Título.

**631.466
621.46**

**CDU (2.ed.)
CDD (22.ed.)**

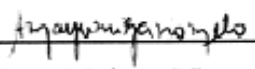
**UFPE
BC2006-067**

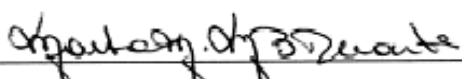
**EFEITO DOS FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES SOBRE O
CRESCIMENTO DE ESPÉCIES ARBUSTIVAS E ATIVIDADE MICROBIANA
EM SOLO CONTAMINADO COM METAIS PESADOS**

Graziella de Sá Gattai

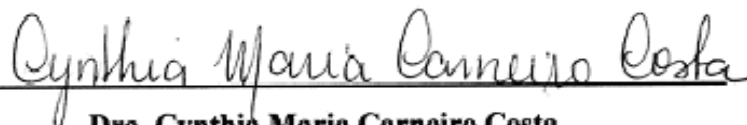
Dissertação apresentada à banca examinadora:

Orientadora: 
Dra. Leonor Costa Maia

Titulares: 
Dra. Adriana Mayumi Yano-Melo


Dra. Marta Maria Menezes Bezerra Duarte

Suplentes: 
Dra. Uided Maaze Tibúrcio Cavalcante


Dra. Cynthia Maria Carneiro Costa

Dedico aos meus pais Sergio e Graça
pelo carinho e apoio constantes
e a minha irmã Gabriella
pela paciência e ajuda durante todos os dias.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela vida.

À Universidade Federal de Pernambuco pela participação na minha formação profissional.

Ao Instituto de Tecnologia de Pernambuco (ITEP-OS) por permitir utilizar as suas instalações contribuindo para o desenvolvimento da pesquisa.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de mestrado.

À Embrapa Semi-árido e ao IPA por fornecer material para o desenvolvimento do trabalho.

À professora e orientadora Leonor Costa Maia pela confiança dedicada e conhecimentos transmitidos.

A Sônia Valéria Pereira, minha co-orientadora, pela amizade e por não me permitir desistir da pesquisa.

Aos examinadores da dissertação Adriana Mayumi Yano-Melo, Marta Maria Menezes Duarte, Uided Maaze Tibúrcio Cavalcante e Cynthia Maria Carneiro Costa pelos comentários que tanto contribuíram para o trabalho.

Aos amigos do Laboratório de Micorrizas: Adália, Aline, Bruno, Catarina, Cláudia, Danielle, Elaine, Érika, Fábio, João, Katiúcia, Marilene, Maryluce, Moacir, Nicácio, Priscila, Renata e Thiago. E do Laboratório de Microbiologia do Solo: Fábio Soriano, Flavio, Indra e Janaína pelo companheirismo e bons momentos compartilhados.

E aos meus pais Sérgio e Graça, irmã Gabriella e Viviane (amiga) pela presença e apoio constante durante todos os momentos.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	08
ABSTRACT	09
INTRODUÇÃO GERAL	10
CAPÍTULO 1	12
REVISÃO DE LITERATURA	13
1. Contaminação do Solo por Metais Pesados	13
2. Atividade Microbiana	16
3. Remediação – Fitorremediação	20
4. Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMA)	24
5. Referências Bibliográficas	30
CAPÍTULO 2	35
ATIVIDADE MICROBIANA E SELEÇÃO DE ESPÉCIES ARBUSTIVAS	
PROMISSORAS PARA PLANTIO EM SOLO DO SEMI-ÁRIDO	
CONTAMINADO COM REJEITO DE METALÚRGICA	36
RESUMO	37
INTRODUÇÃO	38
MATERIAL E MÉTODOS	39
RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
CONCLUSÕES	52
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

CAPÍTULO 3	56
EFEITO DOS FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES (FMA) NO	
CRESCIMENTO DE ESPÉCIES NATIVAS DO SEMI-ÁRIDO E NA	
ATIVIDADE MICROBIANA EM SOLO CONTAMINADO COM CHUMBO	57
REUMO	58
INTRODUÇÃO	59
MATERIL E MÉTODOS	61
RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
CONCLUSÕES	72
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73
CONCLUSÕES GERAIS	77
ANEXOS	78

RESUMO GERAL

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) têm sido utilizados em programas de reabilitação de solo em função do efeito benéfico exercido sobre os hospedeiros. Neste trabalho foram avaliadas a atividade microbiana e a tolerância das plantas (*Senna spectabilis*, *Caesalpinia ferrea*, *Erythrina velutina*, *Mimosa tenuiflora*, *M. caesalpiniaefolia* e *Ricinus communis*) à contaminação do solo por metais pesados. Coletas de solos com e sem contaminação foram realizadas nos períodos seco (agosto/2004) e chuvoso (abril/2005), em áreas de indústria metalúrgica, em Belo Jardim-PE. Nos experimentos foi adicionado solo contaminado ao nativo, nas proporções 0, 7.5, 15 e 30% correspondendo respectivamente a 7.6, 58.6, 97.2 e 93.8 mgPb.kg solo⁻¹. foram avaliados altura, diâmetro do caule e matéria seca, das plantas inoculadas ou não com FMA, após 100 dias em casa de vegetação. A biomassa microbiana e a respiração basal foram menores no período seco (70 µgC.g solo⁻¹ e 41 mgC-CO₂.g solo⁻¹) em relação ao chuvoso (252 µgC.g solo⁻¹ e 52 mgC-CO₂.g solo⁻¹), enquanto o quociente metabólico foi superior no período seco (7,7 e 0,3 mgC-CO₂.µg C.g solo⁻¹), indicando o estresse ambiental. A atividade da fosfatase ácida foi estimulada pelo cultivo das plantas com FMA, mas estas não tiveram o crescimento beneficiado pela micorrização. Entre as plantas testadas, *Erythrina velutina* foi a mais tolerante no tratamento recebendo 15% de solo contaminado.

Palavras-chaves: metal pesado, atividade microbiana e fungo micorrízico arbuscular

ABSTRABT

The arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) have been used in soil rehabilitation programs due to the benefits to their hosts. In this work, microbial activity and tolerance of plants (*Senna spectabilis*, *Caesalpinia ferrea*, *Erythrina velutina*, *Mimosa tenuiflora*, *M. caesalpiniaefolia* and *Ricinus communis*) to heavy metal contaminated soils were evaluated. Samples of contaminated and non contaminated soils were taken during the dry (august/2004) and wet (april/2005) periods, in areas of metallurgic industry in Belo Jardim- PE. In the experiment, contaminated soil was added to the control soil in the proportions: 0, 7.5, 15, 30% (v/v), corresponding respectively to 7.6, 58.6, 97.2 e 95.8 mg Pb. Kg soil⁻¹. Plant height, shoot diameter and dry matter of plants inoculated or not with native AMF were evaluated after 100 days at the greenhouse. Microbial biomass and basal respiration were lower during the dry period (70 $\mu\text{mC.g soil}^{-1}$ and 41 mgC-CO₂.g soil⁻¹) than in the wet period (252 $\mu\text{mC.g soil}^{-1}$ and 52 mgC-CO₂.g soil⁻¹), while CO₂ was higher (7,7 and 0,3 mgC-CO₂. $\mu\text{m C. gsoil}^{-1}$) during the dry period, indicating environmental stress. The phosphatase acid activity was stimulated in the rhizosphere of mycorrhized plants, but presence of AMF was not effective to improve plant growth in the contaminated soil. Among the tested plants, *Erythrina velutina* was the most tolerant in the treatment receiving 15% of contaminated soil.

Key-words: heavy metal, microbial activity and arbuscular mycorrhizal fungi

INTRODUÇÃO GERAL

Quando em estado natural, o solo possui um “equilíbrio” que pode ser perturbado por diversas ações, entre elas as atividades antrópicas (García et al., 2000). Solos contaminados por ação da mineração ou pelo processamento de metais, incluindo o descarregamento maciço de resíduos, normalmente produzem os casos mais severos de contaminação ambiental (Klauberg-Filho et al., 2005).

A utilização de solos contaminados para produção de alimentos tem preocupado vários países desde o início da década de 1970, devido à possibilidade de se ingerir alimentos contaminados com metais pesados. Por esse motivo, limites de contaminação foram estabelecidos no sentido de proteger as plantas e os animais dos efeitos negativos do excesso de metais; porém, esses limites pouco consideram a sensibilidade dos microrganismos do solo (Klauberg-Filho et al., 2005), os quais desempenharam papel fundamental na manutenção dos ecossistemas terrestres, atuando na produção primária de biomassa pelas plantas e nos ciclos biogeoquímicos (Azevedo et al., 2004; Lambais et al., 2005).

As plantas são componentes importantes dos ecossistemas, transportando elementos do ambiente abiótico para o biótico. Entre esses elementos alguns podem ser danosos na contaminação alimentar como o As, Cd (cádmio), Hg (mercúrio) e Pb (chumbo). Simultaneamente, outros micronutrientes como o Cu (cobre), Cr (cromo), Ni (níquel) e Zn (zinco), quando em altas concentrações, podem ser tóxicos tanto para as plantas como para os animais. A biodisponibilidade de um elemento para a planta é controlada por muitos fatores associados ao solo, às condições climáticas, ao genótipo da planta e ao manejo agrícola (Chojnacka et al., 2005).

Dentre os microrganismos do solo encontram-se os fungos micorrízicos arbusculares (FMA), simbioses obrigatórios que colonizam as raízes das plantas e são considerados os principais componentes da microbiota rizosférica (Moreira & Siqueira, 2002).

A dinâmica dos microrganismos e sua interação com o ambiente (solo) refletem as perturbações ambientais, por este motivo foram estabelecidas metodologias para estimar a atividade microbiana dos solos. Dentre essas, destacam-se a atividade da fosfatase e da desidrogenase, a emissão do gás carbônico (CO₂) e a estimativa da biomassa microbiana (Vance et al., 1987; García et al., 1994; 2000).

Neste trabalho foram avaliadas a atividade microbiana e a interação de plantas e fungos micorrízicos arbusculares em solo contaminado com metais pesados.

Gattai, G. S. Efeito dos fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento de espécies arbustivas...

CAPÍTULO 1

REVISÃO DE LITERATURA

REVISÃO DE LITERATURA

1. Contaminação por Metais Pesados

O solo é a base de toda a biosfera e o local onde ocorrem as diferentes atividades biológicas dos organismos que oscilam entre germinar e apodrecer, viver e morrer. Assim, no caminho biológico e bioquímico, o solo representa a interface mais importante no intercâmbio global de matéria orgânica e energia (Filip, 2002).

Como recurso natural para a produção de alimento, o solo desempenha três funções fundamentais no ambiente filtração- capacidade de reduzir os contaminantes contidos na água; produção- capacidade para produzir colheitas de qualidade; e degradação- capacidade para funcionar como ecossistema auto-sustentável e com aptidão para degradar os substratos orgânicos (Trasar-Cepeda et al., 2000).

Solos contaminados e solos poluídos favorecem o desequilíbrio do ambiente e diferem entre si devido a concentrações de determinado elemento químico. No primeiro caso esta concentração está acima das condições naturais, e no segundo os componentes biológicos, a funcionalidade e a sustentabilidade do ecossistema estão sendo comprometidos (Accioly & Siqueira, 2000).

Dentre os agentes poluidores estão os resíduos químicos oriundos da produção de pesticidas, combustíveis, solventes, explosivos e corantes, com diferentes estruturas e níveis de toxicidade, que são liberados no solo por várias fontes antropogênicas. Destas, destacam-se três fontes principais de poluição: a atividade industrial, o rejeito municipal e as práticas agrícolas (Gianfreda & Rao, 2004). A produção crescente de resíduos poluídos e o descarte indiscriminado

no solo provoca danos de difícil recuperação ao ambiente e a diminuição da qualidade ambiental (Costa *et al.*, 2004).

A qualidade do solo foi definida como “a capacidade de um solo funcionar dentro dos limites de um ecossistema para sustentar a produtividade biológica, manter a qualidade ambiental e promover a saúde das plantas e animais” (Doran & Parkin, 1996). Mais tarde, Dick (1997) considerou a “saúde” do solo como “a habilidade do solo realizar as funções que são requeridas pelos componentes biológicos do ecossistema dentro dos fatores ambientais do local”.

A utilização de um solo como local de descarte ou de deposição de materiais considerados poluentes, só é viável quando este apresenta características apropriadas. Dentre estas, destacam-se a presença de matéria orgânica e de óxidos de ferro, alumínio e manganês, que são capazes de complexar e reter diversos metais e moléculas orgânicas, impedindo a sua percolação no perfil do solo (Costa *et al.*, 2004).

Os metais podem estar presentes no solo como íons metálicos livres, complexos solúveis (seqüestrados por ligantes), íons trocáveis, insolúveis na forma de óxidos, carbonatos e hidróxidos e como constituintes da estrutura dos minerais silicatados (Leyval *et al.*, 1997). Estes íons metálicos não migram muito facilmente entre as camadas do solo, ocorrendo como complexos minerais solúveis adsorvidos nas fases coloidais ou associados na fase sólida (Van Assche & Uyttebroeck, 1980).

Os metais pesados são assim designados por ter peso específico maior que 6 g.cm^{-3} ou número atômico maior que 20. Essa classificação, baseada na densidade, acaba englobando grupos de metais, semi-metais e até não metais (selênio). Alguns dos metais pesados mais tóxicos são mercúrio (Hg), chumbo (Pb), cádmio (Cd), cobre (Cu), níquel (Ni) e cobalto (Co). Os três

primeiros são particularmente tóxicos para animais superiores e os três últimos são mais tóxicos para plantas do que para animais (Costa et al., 2004).

O chumbo, em especial, é um elemento químico poluente do solo e potencialmente tóxico para animais e plantas. Sua ocorrência em solo está ligada à adição antropogênica, bem como ao intemperismo das rochas (Pierangeli et al., 2001), que ao sofrer alteração física, química e bioquímica formam novos constituintes minerais muito reativos com grande área de superfície e carga elétrica quase sempre eletronegativas. Dentre os elementos indicados para adsorver estes cátions estão os argilominerais e os óxidos (Calvo, 1999).

A contaminação por metais pesados pode ocorrer como consequência do manejo intensivo de áreas agrícolas, sobretudo em países altamente industrializados, com elevada aplicação de insumos e utilização de resíduos e lodos como fertilizantes. A contaminação por metais também pode ocorrer nas vizinhanças de indústrias metalúrgicas não-ferrosas (Al, Cu, Pb e Zn), nas rodovias, pelo desprendimento de partículas contendo Pb que atingem a superfície do solo via corrente de ar ou pingos de chuva, na aplicação de estrume de porco (Cu) no solo, no uso de compostos de lixo doméstico e esgoto (Cu, Zn e Pb) e no uso de pesticidas contendo metais pesados na sua constituição (Cu) (Van Assche & Uyttebroeck, 1980).

Elementos químicos quando ingeridos podem causar malefícios aos humanos, como por exemplo: o bário pode causar problemas vasculares e cardíacos, o cádmio: disfunção renal, hipertensão, inibição do crescimento e câncer, o cobre: danos capilares, problemas hepáticos e renais e irritação do sistema nervoso central seguido de depressão e o chumbo: anemia, doenças renais, disfunções reprodutivas, perturbações neurológicas (como atraso mental ou alterações do comportamento) (Azevedo et al., 2004).

Por este motivo, a descontaminação do solo é considerado um tópico prioritário na legislação ambiental vigente (Ernst, 1996). De acordo com o Conselho Nacional do Meio Ambiente- CONAMA (Resolução Nº 357/2005), a contaminação de um solo depende da concentração do contaminante, do seu grau de toxidez, da sua solubilidade em água, densidade, porosidade e permeabilidade do solo. A maioria dessas interações pode ser avaliada pelos padrões de água para consumo humano, bem como suas classes de enquadramento de usos.

Nos últimos anos houve maior interesse em se estudar formas de utilização dos organismos para remediação “in situ”, isto é, em processos de biodegradação, biorremediação e fitorremediação (Ernst, 1996).

2. Atividade Microbiana

Os microrganismos representam as formas de vida mais abundantes do planeta e detêm a maior diversidade genética global. A microbiota do solo é responsável por transformações fundamentais nos ciclos biogeoquímicos, na reciclagem da matéria orgânica, na degradação dos xenobiontes, na fixação do N₂ atmosférico e na produção dos gases relacionados ao efeito estufa (Lambais et al., 2005).

Os organismos do solo são responsáveis, direta ou indiretamente, por processos bioquímicos diversos, como a transferência de energia no sistema solo-planta-atmosfera, constituindo a base da sustentação e produtividade dos ecossistemas terrestres em equilíbrio (Moreira & Siqueira, 2002). O papel essencial dos microrganismos é a circulação, reciclagem e transformação dos nutrientes, utilizando como fonte de energia produtos de origem vegetal ou artificial e disponibilizando carbono, nitrogênio, fósforo, enxofre e outros elementos para plantas ou outros organismos (Calvo, 1999).

De modo geral, os organismos são bastante versáteis em adaptar-se a mudanças ambientais. Algumas espécies podem sobreviver em condições extremas de salinidade, temperatura, pressão e pH. Limitações físicas (água, aeração, porosidade, adesão) e químicas (disponibilidade de nutrientes e toxicidade de elementos como metais pesados) podem ocorrer nos solos, mas muitos microrganismos são capazes de superar esses fatores em função de adaptações fisiológicas (Moreira & Siqueira, 2002).

O estudo da diversidade microbiana nos solos é essencial tanto para a definição de estratégias de preservação da biomassa, como para o desenvolvimento de sistemas indicadores de alterações ambientais associadas a distúrbios, como a presença de poluentes ou a utilização não-sustentável de solos agrícolas (Lambais et al., 2005).

Embora altas concentrações de metais no solo sejam tóxicas para bactérias e fungos, alguns microrganismos tolerantes têm sido estudados para remoção dos metais dos solos poluídos, e para fornecer um entendimento biológico da adaptação dos organismos vivos em ambientes extremos (Leyval et al., 1997).

Metais pesados e elementos radioativos como os radionuclídeos podem interagir com os microrganismos por meio da adsorção desses elementos no envelope celular (biosorção) ou pela translocação ativa para dentro da célula (bioacumulação) (Moreira & Siqueira, 2002).

A biota do solo, especialmente bactérias, fungos e plantas superiores podem modificar as condições e processos químicos e físicos que determinam a biodisponibilidade do metal (Ernest, 1996). Além do mais, podem contribuir para a descontaminação do solo pela degradação dos poluentes orgânicos ou imobilização dos metais pesados e pela formação da estrutura do solo (Nannipieri et al., 2002). No entanto, a diminuição da atividade de uma população de microrganismos, por alteração das condições ambientais, poderá ser compensada pelo aumento

da atividade de outra população sem alteração significativa da atividade total da comunidade (Lambais et al., 2005).

A atividade metabólica dos microrganismos do solo é toda reação bioquímica que pode provocar alterações nas propriedades físicas do solo, como o efeito da excreção de polissacarídeos na agregação do solo. Esta atividade pode ser dividida em geral, proveniente de todos ou quase todos os microrganismos do solo (ex. respiração e a produção de calor), e específicas, exercidas por grupos específicos (ex. os fixadores de nitrogênio e os nitrificadores) (Moreira & Siqueira, 2002). As atividades microbiana e enzimática do solo são consideradas indicadores de monitoramento dos distúrbios ou poluição do solo, devido ao seu papel no funcionamento do ecossistema (Hinojosa et al., 2004).

A respiração dos microrganismos tem sido utilizada como parâmetro, para quantificar a atividade microbiana no solo, e representa a oxidação da matéria orgânica por organismos aeróbios que utilizam oxigênio como acceptor final de elétrons (Moreira & Siqueira, 2002).

Estudos realizados em solos degradados apresentam valores acentuados de respiração por unidade de biomassa em relação aos solos naturais. Segundo García et al. (2000), os microrganismos presentes em solos impactados, ainda que escassos em número, estão adaptados ao estresse existente, mantendo a taxa de respiração elevada.

A biomassa microbiana é um importante atributo do solo para obter informações rápidas sobre mudanças nas propriedades orgânicas do solo, na detecção de alterações causadas por cultivo na devastação de florestas, no monitoramento dos processos de regeneração após a remoção da camada superficial e para avaliar os efeitos dos poluentes nesses ambientes (Frighetto & Valarini, 2000). A medida do carbono da biomassa tem sido usada como indicador de mudanças na comunidade do solo sob estresse por excesso de metais pesados, como pode ser

visto no trabalho de Andrade & Silveira (2004), onde o Pb disponível no solo correlacionou-se negativamente com o C da biomassa.

A atividade enzimática também tem sido utilizada como indicador de qualidade do solo em vários estudos sobre impactos nesses ambientes. As enzimas são catalisadores importantes nos processos metabólicos, incluindo a decomposição de material orgânico e a desintoxicação dos xenobióticos (Maila & Cloete, 2005).

As reações enzimáticas podem ser inibidas pelos metais pela complexação com o substrato, pela combinação com o grupo protéico da enzima ativa e pela reação com o complexo enzima-substrato. O modo de ação varia de acordo com o tipo de enzima e pouco se sabe sobre o mecanismo exato da interação do metal com as múltiplas enzimas que podem existir no solo (Dick, 1997).

A excreção de enzimas pelos microrganismos na solução do solo pode ser importante na hidrólise dos substratos com cadeia molecular longa ou insolúvel, viabilizando o transporte de nutrientes para as células, na desintoxicação do ambiente ou na produção, em alguns casos, de uma condição favorável para a sobrevivência dos organismos (Dick, 1997).

A ação das enzimas na reabilitação do meio acontece em função das variações de pH, umidade e substrato, e permite estabelecer comparações com propriedades do solo e tratamentos aplicados utilizando fertilizantes, pesticidas, resíduos, etc. A maioria dos estudos relaciona o efeito dos contaminantes do solo, tais como os metais, sobre as reações catalíticas no sistema solo-planta (Lobo et al., 2000).

As enzimas estão presentes no solo na forma biótica, associadas aos microrganismos viáveis ou à fauna do solo e na forma abiótica, não associada às células vivas, como enzimas extracelulares complexadas aos colóides orgânicos e minerais (Dick, 1997). Algumas são

encontradas apenas em células vivas, como as desidrogenases, enzimas da membrana que estão envolvidas no processo de transporte de elétrons e síntese de ATP. Além desta enzima ainda podem ser estudadas as oxidoredutases, transferases e hidrolases, devido aos seus envolvimento em processos de degradação da matéria orgânica e liberação de nutrientes (Moreira & Siqueira, 2002).

A desidrogenase é amplamente utilizada como indicador da atividade biológica do solo devido à sua relação com as células viáveis. Esta enzima utiliza diretamente o oxigênio como aceptor de hidrogênio (Dick, 1997), permitindo medir o impacto de moléculas tóxicas sobre a atividade microbiana pela redução do cloreto de trifeniltetrazolio (TTC), receptor artificial de elétrons, a trifeniltetrazólio (TTF). Esta ação pode ser realizada por quase todos os organismos (Friguetto & Valarini, 2000).

Enzimas extracelulares, incluindo fosfatases, são importantes para a degradação de substâncias orgânicas no solo e estão envolvidas na mineralização de fosfato orgânico. A atividade da fosfatase é influenciada pelas diversas propriedades do solo, pela cobertura vegetal e pela presença de inibidores e indutores (Friguetto & Valarini, 2000). Esta hidrolase atua na transformação do fósforo orgânico em inorgânico, facilitando a assimilação deste pelas plantas (García et al., 2000). Íons fosfato podem ser liberados dos compostos orgânicos por meio de reações catalisadas pela fosfatase. Tais reações podem ser ativadas em três componentes da rizosfera: solo, microrganismos e raízes das plantas (Tarafdar & Jungk, 1987).

3. Remediação - Fitorremediação

A atividade da mineração é conhecida, na maioria dos casos, por devastar grandes áreas de forma que o solo fica inapropriado para cultivo. Os distúrbios são mais evidentes e

prolongados nas áreas áridas submetidas à baixa umidade, acúmulo de sais e riscos de erosão devido à baixa densidade da vegetação local, responsável também por fornecer habitat para os microrganismos (Rao & Tak, 2002).

A recuperação natural inclui processos químicos, físicos e biológicos tais como dispersão, sorção, volatilização, oxidação abiótica, hidrólise e biodegradação. Entre esses processos naturais a oxidação abiótica, hidrólise e biodegradação são apenas mecanismos atenuadores efetivos capazes de reduzir os contaminantes. Quando a adição de contaminantes excede o nível de degradação natural é necessário remediar o local usando processos de remediação que requerem a intervenção humana para aumentar ou acelerar o poder de degradação dos agentes de remediação selecionados (Gianfreda & Rao, 2004).

As vantagens de se usar bioindicadores está em entender o efeito da toxidez por meio de testes rápidos e metodologias acessíveis disponibilizadas para analisar a extensão do efeito dos poluentes presentes. As desvantagens estão na incapacidade de distinguir a origem da toxidez (se vem de material natural ou de metabólicos), e na dificuldade de se relacionar as respostas dos bioindicadores à concentração dos contaminantes e nas diferentes respostas aos testes para os vários tipos de elementos tóxicos (Maila & Cloete, 2005).

Para reabilitar solos contaminados com metais pesados é possível adotar diferentes estratégias. A solução mais viável envolve a remoção do solo e substituição por solo não poluído. Porém, em larga escala, esta opção não é recomendável, devido ao alto custo envolvido no processo. Uma abordagem mais recente pode ser a purificação do substrato “in situ” ou “ex situ” utilizando técnicas químicas ou físico-químicas, que “extraem” ou “removem” os metais do solo. A desvantagem associada com tal técnica é o aumento da mobilidade dos metais que

permaneceram e as mudanças das características físico-químicas do substrato (Arienzo et al., 2004).

A fitorremediação é um tipo de remediação que consiste no emprego de plantas para melhorar a funcionalidade do solo. A associação da planta com microrganismos tolerantes pode remover, imobilizar ou tornar os contaminantes menos inofensivo ao ecossistema (Accioly & Siqueira, 2000).

O uso de plantas no tratamento de água vem sendo utilizado há mais de 300 anos. No entanto, apenas na metade dos anos setenta, este tipo de remediação passou a ser empregada em solo contaminado. Na maioria dos ambientes, as plantas são continuamente agredidas por toxinas orgânicas e metálicas e, mesmo assim, desenvolvem mecanismos de adaptação, sobrevivência, e crescimento. Dentre os mecanismos desenvolvidos destacam-se a absorção e a imobilização dos metais pela raiz, restringindo a translocação para a parte aérea da planta (Cunningham & Lee, 1995). Desta forma, as práticas de remediação podem melhorar o estado químico e biológico do solo, porém não eliminam totalmente os resíduos de metais pesados. O uso de corretivos contribui para diminuir a biodisponibilidade do metal, aumentar o pH e restaurar as propriedades microbiológicas do solo (Mora et al., 2005).

No processo de seleção de espécies de plantas utilizadas em programas de revegetação, aspectos como tipo de solo, temperatura, clima e volume de chuva do local devem ser observados (García et al., 2005). Um dos requisitos básicos para o sucesso de qualquer técnica de revegetação é a seleção de plantas tolerantes aos contaminantes (Carneiro et al., 2002).

De acordo com Nogueira (1996), a resistência das plantas aos metais pode ser atingida por exclusão e tolerância. A exclusão é definida como a habilidade de um organismo prevenir a

excessiva absorção de metais, e tolerância é a habilidade dos organismos de suportarem a excessiva concentração de metais em seu corpo, ou em parte dele.

Assim a fitorremediação inclui a fitoextração (a utilização de plantas para remover contaminantes do solo), a fitovolatilização (o uso de plantas para tornar volátil elementos químicos do solo), a rizofiltração (utilização de raízes de plantas para remover contaminantes de águas correntes) e a fitoestabilização (uso de plantas e agentes amenizantes do solo para remover, imobilizar ou tornar os contaminantes menos nocivos ao ecossistema) (Costa et al., 2004).

O sucesso da fitorremediação depende de três fatores: o nível de contaminação do solo, o nível de metais biodisponíveis (aspectos físico e químico) e a capacidade da planta em acumular o metal na folha (Ernest, 1996). O crescimento das plantas em ecossistemas onde o solo foi alterado pelo homem é lento, o desenvolvimento é alterado e a taxa de mortalidade é alta (Malcová et al., 2001). Segundo Ledin & Pedersen (1996), a freqüente dificuldade das plantas crescerem diretamente no solo contaminado é devida aos baixos conteúdos de matéria orgânica e nutrientes, à ausência de cobertura vegetal e à toxicidade do rejeito.

A presença de vegetação nativa ou com espécies introduzidas pelo homem que tolerem o índice de contaminação do local, é um fator que influencia no poder depurador, devido à intervenção direta das plantas na reciclagem e circulação de diversos elementos (Calvo, 1999). Por isso, a vegetação encontrada em áreas contaminadas representa importante fonte potencial de ecótipos tolerantes à poluição e adaptados ao ambiente estressante (Carneiro et al., 2002). A revegetação apresenta vantagens, dada a sua natureza permanente, os baixos custos de manutenção, proteção do solo contra erosão eólica e hídrica, melhoria da estruturação do solo e aumento da fertilidade, permitindo sucessão biológica na área (Accioly & Siqueira, 2000).

Estudos estão sendo realizados visando identificar plantas que absorvam contaminantes em taxa mais elevada, acumulando-os em concentrações de 1 a 3% na matéria seca, ou ainda, plantas modificadas geneticamente para extrair os contaminantes em maiores quantidades (Costa et al., 2004).

Vários trabalhos citam a importância das plantas na fitorremediação de solos contaminados. Em solos de mineradora, *Lolium perene* tem sido utilizada para revegetar áreas contaminadas com Cu, Pb e Zn, na Itália (Arienzo et al., 2004). Yanqun et al. (2004) observaram que a capacidade de 20 espécies vegetais de acumular Pb, Cd, Cu e Zn aumentou de acordo com o tipo de planta, ou seja, arbustos > árvores > herbáceas e os metais foram absorvidos na ordem de grandeza de $Pb < Cu < Cd < Zn$. Deng et al. (2004) evidenciaram que 12 espécies de plantas de pântanos e áreas alagadas acumulam metais principalmente na raiz. Viard et al. (2004) estudaram a bioacumulação de Pb, Zn e Cd em gramíneas e no solo observando que a quantidade dos metais diminui com o aumento da distância de rodovias na França. No sudeste brasileiro, Carneiro et al. (2002) utilizando 21 espécies de herbáceas tropicais, observaram que *Trifolium repens* L., *Euchlaena mexicana* Schrad, *Cynodon dactylon* (L.) Pers, *Avena strigosa* Schreb, *Cenchrus ciliaries* L. e *Cyperus* sp., apresentam crescimento satisfatório em solo contaminado com cádmio e zinco e *Pffafia* sp. é capaz de acumular o Cd na parte aérea da planta.

4. Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMA)

Os microrganismos durante a evolução adquiriram características e adaptações para coexistirem com os outros seres vivos. Dentre as relações biológicas, a simbiose entre certos fungos e raízes de plantas, conhecidas como micorriza, é um dos tipos mais importantes de associação. Acredita-se que as micorrizas surgiram há 400 milhões de anos, porém, apenas no

século XIX, a associação das raízes com os fungos foi chamada de “micorriza” (Moreira & Siqueira, 2002).

A micorriza é uma associação mutualística, na qual as raízes de plantas vasculares são invadidas por fungos específicos, ocorrendo perfeita integração morfológica e funcional entre os simbiontes. Trata-se de uma simbiose praticamente universal, não só pelo grande número de plantas susceptíveis à micorrização, como por sua ocorrência generalizada. Os fungos formadores de micorriza habitam o solo e colonizam as raízes, estabelecendo inter-relações onde a planta fornece substrato energético ao fungo, e este, através da rede de hifas externas, captura nutrientes da solução do solo e os transfere à planta hospedeira (Frighetto & Valarini, 2000).

As micorrizas são classificadas em diversos tipos, entre os quais o mais comum nos trópicos é a micorriza arbuscular. Os fungos que formam essa associação são denominados fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e estão atualmente classificados no filo Glomeromycota (Schüßler et al., 2001).

A propriedade simbiótica é determinada pela habilidade da planta adquirir nutrientes através do micélio do fungo (micotrófico), da dificuldade do fungo completar o ciclo de vida independente do hospedeiro, uma vez que a fisiologia o obriga à simbiose (fungo dependente) e ao melhor desenvolvimento da planta quando formando a micorriza (dependência da planta à micorrização) (Azcón-Aguilar & Barea, 1997). Os fungos micorrízicos arbusculares são obrigatoriamente dependentes do carbono da planta hospedeira como fonte de energia e este só é disponibilizado pela simbiose (Marschner & Dell, 1994). Portanto, o micélio do FMA pode ser intraradical, com hifa e outras estruturas (arbúsculos e vesículas) sendo formadas dentro da raiz e extraradical com produção de esporos e exploração do solo promovendo a absorção de água e nutrientes (Rillig et al., 2003).

A maioria das plantas vasculares são capazes de se associar aos fungos micorrízicos. Exceções como a de alguns membros das famílias: Brassicaceae, Amarantaceae, Commelinaceae, Juncaceae, Proteaceae, Polygonaceae, Cyperaceae, Chenopodiaceae, podem ocorrer devido à produção de compostos fungistáticos, da insuficiência de sinais moleculares entre o fungo e a planta para a associação e da deficiência na aderência ou existência de barreiras físicas na parede do hospedeiro. Em relação ao ambiente, condições de elevada fertilidade do solo e a adição de N e/ou P em quantidades suficientes podem otimizar o crescimento da planta e reduzir a necessidade de simbiose (Moreira & Siqueira, 2002).

Entre as funções dos FMA destacam-se a contribuição para aumento da disponibilidade de água e de vários nutrientes, especialmente o P para a planta hospedeira (Rao & Tak, 2002). Solos com propágulos de FMA apresentam maior atividade respiratória do que solos sem propágulos, possivelmente por causa da contribuição da atividade metabólica das estruturas externas do FMA e do possível estímulo do FMA a comunidades heterotróficas da rizosfera (Andrade & Silveira, 2004).

Os FMA contribuem no fluxo do carbono entre a biosfera e a atmosfera armazenando o carbono no solo, acumulando resíduos por mais tempo na hifa, estabilizando os agregados do solo e produzindo glomalina (Zhu & Miller, 2003). Esta última é uma glicoproteína recentemente descoberta, sendo produzida pelos fungos micorrízicos e com atenção na estruturação do solo (Rillig et al., 2003). A sua concentração no solo está relacionada principalmente com a percentagem de agregados estáveis em água em uma variedade de solo (Wright & Upadhyaya, 1998). Depois de produzida pelo fungo, a glomalina é secretada no ambiente, constituindo numa fonte rica em C (e N), e a sua importância funcional ainda é desconhecida (Rillig & Steinberg, 2002).

Os FMA possuem um ciclo biológico complexo, muito influenciado por agentes abióticos dos quais podemos citar a contaminação por metais pesados, que atuam de modo diferenciado sobre as várias fases do ciclo de vida desses fungos e suas relações funcionais e ecológicas. Esses efeitos são percebidos na germinação dos propágulos e estabelecimento da simbiose, na colonização radicular, na esporulação e no crescimento micelial de cada gênero e espécie de FMA, afetando assim a eficiência, a sobrevivência e a diversidade dos FMA no solo e os benefícios potenciais de sua simbiose com as plantas (Klauber-Filho et al., 2005). Desta forma, pode-se dizer que, na natureza, a toxicidade de um determinado metal ou dois ou mais metais pode ocorrer no fungo, na planta ou em ambos componentes (Nogueira, 1996).

A biodisponibilidade dos metais está relacionada com o pH do solo e a calagem dos solos ácidos. A presença de Al, Mn, Cu, Zn, Cd e Ni inibe a germinação de esporos e o crescimento micelial e conseqüentemente reduz a colonização micorrízica das plantas. Diversos estudos evidenciam o comportamento diferenciado dos FMA em relação ao excesso de metais no solo, sendo conhecidos isolados tolerantes a solos com Al, Mn, Cd, Cu e Zn (Moreira & Siqueira, 2002).

Nas áreas agrícolas, o uso dos FMA está restrito à inoculação comercial de culturas que passam por uma fase de casa de vegetação. No entanto, do ponto de vista ambiental, há possibilidade de utilizar FMA na recuperação de áreas erodidas ou degradadas. (Frighetto & Valarini, 2000; Caravaca et al., 2002; Liao et al., 2003). A fitoestabilização é uma solução temporária para áreas degradadas, pois as plantas com micorrizas ligam-se aos metais e limitam sua translocação para as folhas (Leyval et al., 1997).

Segundo Andrade et al. (2003), os FMA têm papel relevante na diminuição da concentração de Pb na parte aérea da soja, conferindo tolerância à planta em uma condição de

excesso de metal pesado no solo. A adição de resíduos contaminados por metais não afeta significativamente o desenvolvimento das micorizas arbusculares sob condições de campo (Arnold & Kaputska, 1987), provavelmente porque diferentes espécies de FMA podem exibir diferentes níveis de tolerância aos metais. Desta forma, alto nível de colonização micorrízica pode ser encontrado em plantas crescendo em solo poluído (Pawlowska et al., 2000).

No entanto, Del Val et al. (1999) observaram que o número total de esporos de FMA diminui fortemente com o aumento da quantidade de metais pesados, mas os propágulos de FMA nunca desapareceram completamente no solo corrigido com o maior nível de rejeito, sugerindo certa adaptação dos FMA indígenas ao estresse ambiental e ainda, que altas concentrações de metais pesados pode afetar de forma adversa o tamanho, a diversidade e a atividade das populações microbianas no solo.

A produção de novos propágulos infectivos também constitui etapa crítica do ciclo de vida dos fungos, uma vez que as condições físico-químicas do solo e os fatores derivados da planta atuam na formação e produção de propágulos responsáveis por mantê-los no solo (Klauberg-Filho et al., 2005).

Quando as micorizas são encontradas em ambientes contaminados necessitam ser tolerantes a estes resíduos. Alguns trabalhos citam que espécies como *Glomus fasciculatum* isolado do solo (Rao & Tak et al., 2002) e *Glomus intraradices* inoculados em *Olea europaea* e *Rhamnus lycioides* (Caravaca et al., 2002) são tolerantes a áreas contaminadas e aumentam o crescimento das plantas. Em trabalho desenvolvido por Liao et al. (2003), *Acaulospora laevis* foi sensível ao Cu e Cd, enquanto *Glomus caledonium* foi tolerante.

A razão fundamental da mudança na diversidade de FMA relativa ao estresse causado pela presença de metais pesados, não é completamente entendida. Sabe-se que os metais pesados

não podem ser quimicamente degradados, portanto, a remediação do solo contaminado por esses elementos é limitada principalmente para imobilização, ou seja, pela fitoestabilização (Del Val et al., 1999).

A presença de FMA em solo com longo período de contaminação sugere que esses fungos podem desenvolver mecanismos de adaptação e tolerância ao excesso de metais pesados, dependendo do grau de poluição do solo e da ocorrência de plantas hospedeiras para garantir a multiplicação, promovendo a seleção. Portanto, em termos práticos, seria necessário estabelecer valores críticos dos metais para as plantas nos diferentes tipos de solo. Isso traria grande avanço para o entendimento dos efeitos das micorrizas na absorção de metais do solo e a sua aplicação na remediação de áreas degradadas (Klauber-Filho et al., 2005).

5. Referências Bibliográficas

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

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

ANDRADE, S. A. L.; SILVEIRA, A. P. D. Biomassa e atividade microbianas do solo sob influência de chumbo e da rizosfera da soja micorrizada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.39, nº12, p.1191-1198, 2004.

ARIENZO, M.; ADAMO, P.; COZZOLINO, V. The potential of *Lolium perenne* for revegetation of contaminated soil from a metallurgical site. **The Science of the Total Environment**. v.319, p.13-25, 2004.

ARNOLD, P. T.; KAPUTSKA, L. A. VA mycorrhizal colonization and spore populations in abandoned agricultural field after five years of sludge additions. **Journal Science**, Ohio, v.87 p.112-114, 1987.

AZCÓN-AGUILAR, C.; BAREA, J. M. Applying micorriza biotechnology to horticulture: significance and potentials. **Science Horticulturae**. v.68, p.1-24, 1997.

AZEVEDO, A. C.; DALMOLIN, R. S. D.; PEDRON, F. A. **Solos & Ambiente**: I Fórum. 1º edição. Santa Maria, RS: Gráfica Editorial Pallotti, 2004. 167p.

CALVO, M. S. **Contaminación del Suelo**: Estudios, Tratamiento y Gestión. 1º ed. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 1999. 352p.

CARAVACA, F.; BAREA, J. M.; FIGUEROA, D.; ROLDÁN, A. Assessing the effectiveness of mycorrhizal inoculation and soil compost addition for enhancing reafforestation with *Olea europaea* subsp. *Sylvestris* through changes in soil biological and physical parameters. **Applied Soil Ecology**. v.20, p.107-118, 2002.

CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Comportamento de espécies herbáceas em misturas de solos com diferentes graus de contaminação de metais pesados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília. v.37, nº11, p.1629-1638, 2002.

CHOJNACKA, K.; CHOJNACKI, A.; GÓRECKA, H.; GÓRECKI, H. Bioavailability of heavy metals from polluted soils to plants. **Science of the Total Environment**. v.337, p.175-182, 2005.

Gattai, G. S. Efeito dos fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento de espécies arbustivas...

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE- CONAMA, Resolução Nº 357 de 17 de março de 2005. Disponível em: < <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf> >. Acesso em 30 jan. 2006.

COSTA, C. N.; MEURER, E. J.; BISSANI, C. A.; SELBACH, P. A. Contaminantes e poluentes do solo e do ambiente. In: MEURER, E. J. (Ed.). **Fundamentos de Química do Solo**. 2ª edição. Porto Alegre: Editora Gênese, 2004. p.239-281.

CUNNINGHAM, S. D.; LEE, C. R. Phytoremediation: plant-based remediation of contaminated soils and sediments. **Soil Science Society of America**. American Society of Agronomy, and Crop Science Society. Madison: Special Publish, 1995. p.145-156.

DEL VAL, C.; BAREA, J. M.; AZCÓN-AGUIAR, C. Diversity of arbuscular mycorrhizal Fungus populations in heavy-metal-contaminated soils. **Applied and Environmental Microbiology**. v.65, nº 2, p.718-723, 1999.

DENG, H.; YE, Z. H.; WPONG, M. H. Accumulation of lead, zinc, copper and cadmium by 12 wetland plant species thriving in metal-contaminated sites in China. **Environmental Pollution**. v.132, p.29-40, 2004.

DICK, R. P. Soil enzyme activities as integrative indicators of soil health. In: PANKHURST, C. E.; DOUBE, B. M.; GUPTA, V. V. S. R. (Ed.). **Biological Indicators of Soil Health**. USA: Cab International, 1997. p.121-156.

DORAN, J. W.; PARKIN, T. B. Quantitative indicators of soil quality: a minimum data set. In: DORAN, J. W.; JONES, A. J. (Ed.). **Methods for Assessing Soil Quality**. SSSA Special Publication 49, Madison, WI, 1996, p.25-37.

ERNST, W. H. O. Bioavailability of heavy metals and decontamination of soils by plants. **Applied Geochemistry**. v.11, p.163-167, 1996.

FILIP, Z. International approach to assessing soil quality by ecologically-related biological parameters. **Agriculture, Ecosystems and Environmental**. v.88, p.169-174, 2002.

FRIGHETTO, R. T. S.; VALARINI, P. J. **Indicadores Biológicos e Bioquímicos da Qualidade do Solo**. Manual Técnico. 1ª edição. Jaguariúna, SP: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Monitoramento e Avaliação de Impacto Ambiental, 2000.

GARCÍA, C.; HERNÁNDEZ, T.; COSTA, F.; CECCANTI, B. Biochemistry parameter in soils regenerated by the addition of organic wastes. **Wastes Management & Research**. v.12, p.457-466, 1994.

GARCÍA, C.; HERNÁNDEZ, T.; PASCUAL, J.; MORENO, J. L.; ROS, M. Actividad microbiana en suelo del sureste español sometidos a procesos de degradación y desertificación.

Gattai, G. S. Efeito dos fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento de espécies arbustivas...

Estrategias para su rehabilitación. In: GARCÍA, C.; HERNÁNDEZ, T. (Ed.). **Investigación y Perspectivas de la Enzimología de Suelo en España**. 1º edição. CSIC: Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura, 2000. p.43-143.

GARCÍA, C.; ROLDAN, A.; HERNÁNDEZ, T. Ability of different plant species to promote microbiological processes in semiarid soil. **Geoderma**. v.124, p.193-202, 2005.

GIANFREDA, L.; RAO, M. A. Potential of extra cellular enzymes in remediation of polluted soils: a review. **Enzyme and Microbial Technology**, v.35, p.339-354, 2004.

HINOJOSA, M. B.; CARREIRA, J. A.; GARCÍA-RUÍZ, R.; DICK, R. P. Soil moisture pré-treatment effects on enzyme activities as indicators of heavy metal-contaminated and Reclaimed soils. **Soil Biology & Biochemistry**. v.36, p.1559-1568, 2004.

KLAUBERG-FILHO, O.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; SOARES, C. R. F. S.; SILVA, S. Ecologia, função e potencial de aplicação de fungos micorrízicos arbusculares em condições de excesso de metais pesados. In: VITAL-TORRADO, P.; ALLEONI, L. R. F.; COOPER, M.; SILVA, A. P.; CARDOSO, E. J. (Ed.). **Tópicos em Ciência do Solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2005. p.85-144.

LAMBAIS, M. R.; CURY, J. C.; MALUCHE-BARETTA, C. R.; BÜLL, R. C. Diversidade microbiana no solos: definindo novos paradigmas. In: VITAL-TORRADO, P.; ALLEONI, L. R. F.; COOPER, M.; SILVA, A. P.; CARDOSO, E. J. (Ed.). **Tópicos em Ciência do Solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2005. p.43-84.

LEDIN, M.; PEDERSEN, K. The environmental impact of mine wastes-roles of microorganisms and their significance in treatment of mine wastes. **Earth-science: Reviews**. v.41, p.67-108, 1996.

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

LIAO, J. P.; LIN, X. G.; CAO, Z. H.; SHI, Y. Q.; WONG, M. H. Interactions between arbuscular mycorrhizae and heavy metals under sand culture experiment. **Chemosphere**. v.50, p.847-853, 2003.

LOBO, M. C.; SASTRE, I.; VICENTE, M. A. Las enzimas como medida del impacto ambiental en los suelos. In: GARCÍA, C.; HERNÁNDEZ, T. **Investigación y Perspectivas de la Enzimología de Suelo en España**. 1º edição. CSIC: Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura, 2000. p.297-352.

MAILA, M. P.; CLOETE, T. E. The use of biological activities to monitor the removal of fuel contaminants – perspective for monitoring hydrocarbon contamination: a review. **International Biodeterioration & Biodegradation**. v.55, p.1-8, 2005.

MALCOVÁ, R.; ALBRECHTOVA, J.; VOSÁTKA, M. The role of the extraradical mycelium network of arbuscular mycorrhizal fungi on the establishment and growth of *Calamagrostis epigejos* in industrial waste substrates. **Applied Soil Ecology**. v.18, p.129-142, 2001.

MARSCHNER, H.; DELL, B. Nutrient Uptake in Mycorrhizal Symbiosis. **Plant and Soil**. v.159, p.89-102, 1994.

MORA, A. P.; ORTAGA-CALVO, J. J.; CABRERA, F.; MADEJÓN, E. Change in enzyme activities and microbial biomass after “in situ” remediation of heavy metal-contaminated soil. **Applied Soil Ecology**. v.28, p.125-137, 2005.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 1º edição. Lavras: Editora UFLA, 2002. 626p.

NANNIPIERI, P.; KANDELER, E.; RUGGIERO, P. Enzyme activities and microbiological and biochemical process in soil. In: BURNS, R. G.; DICK, R. P. **Enzymes in the Environment**. Activity, Ecology and Applications. New York: Marcel Dekker, Inc., Basel, 2002. p.1-33.

NOGUEIRA, A. V. As micorrizas e o excesso de metais. In: SIQUEIRA, J. O. **Avanços em Fundamentos e Aplicação de Micorrizas**. Universidade Federal de Lavras, MG: Depto. Ciência do Solo & Depto. Ciência Florestais, 1996. p.135-174.

PAWLOWSKA, T. E.; CHANEY, R. L.; CHIN, M.; CHARVAT, I. Effects of metal phytoextrstction practices on the indigenous community of arbuscular mycorrhizalfungi at a metal-contaminated landfill. *Applied and Environmental Microbiology*. v.66, nº 6, p.2526-2530, 2000.

PIERANGELI, M. A. P.; GUILHERME, L. R. G.; CURI, N.; SILVA, M. L. N.; OLIVEIRA, L. R.; LIMA, J. M. Efeito do pH na adsorção-dessorção de chumbo em latossolos brasileiros. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v.25, p.269-277, 2001.

RAO, A. V.; TAK, R. Growth of different tree species and their nutrient uptake in limestone mine spoil as influenced by arbuscular mycorrhizal (AM)-fungi in Indian arid zone. **Journal of Arid Environments**. v.51, p.113-119, 2002.

RILLIG, M. C.; STEINBERG, P. D.; Glomalin production by an arbuscular mycorrhizal fungus: a mechanism of habitat modification? **Soil Biology & Biochemistry**. v.34, p.1371-1374, 2002.

RILLIG, M. C.; MAESTRE, F. T.; LAMIT, L. J. Microsite differences in fungal hyphal length, glomalin, and soil aggregate stability in semiarid mediterranean steppes. **Soil Biology & Biochemistry**. v.35, p.1257-1260, 2003.

SCHÜßLER, A.; SCHWARZOTT, D.; WALKER, C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. **Mycological Research**. v.105, p.1413-1421, 2001.

TARAFDAR, J. C.; JUNGK, A. Phosphatase activity in the rhizosphere and its relation to the depletion of soil phosphorus. **Biology and Fertility of Soils**. v.3, p.199-204, 1987.

TRASAR-CEPEDA, C.; LEIRÓS, M. C.; SEOANE, S.; GIL-SOTRES, F. Limitations of soil enzymes as indicators of soil pollution. **Soil Biology & Biochemistry**. v.32, p.1867-1875, 2000.

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

VAN ASSCHE, C.; UYTTEBROECK, P. Heavy metals in soils and their neutralisation. **Agricultural Wastes**. v.2, p.279-291, 1980.

VIARD, B.; PIHAN, F.; PROMEYRAT, S.; PIHAN, J-C. Integrated assessment of heavy metal (Pb, Zn, Cd) highway pollution: bioaccumulation in Soil, Graminaceae and land snails. **Chemosphere**. v.55, p.1349-1359, 2004.

WRIGHT, S. F.; UPADHYAYA, A. A Survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae arbuscular mycorrhizal fungi. **Plant and Soil**. v.198, p.97-107, 1998.

YANQUN, Z.; YUAN, L.; SCHVARTZ, C.; LANGLADE, L.; FAN, L. Accumulation of Pb, Cd, Cu and Zn in plants and hyperaccumulator choice in Lanping lead-zinc mine area, China. **Environment International**. v.30, p.567-576, 2004.

ZHU, Y-G.; MILLER, R. M. Carbon cycling by arbuscular mycorrhizal fungi in soil-plant systems. **TRENDS in Plant Science**. v.8, n° 9, p.407-409, 2003.

Gattai, G. S. Efeito dos fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento de espécies arbustivas...

CAPÍTULO 2

ATIVIDADE MICROBIANA E SELEÇÃO DE ESPÉCIES ARBUSTIVAS PROMISSORAS PARA PLANTIO EM SOLO DO SEMI-ÁRIDO CONTAMINADO COM REJEITO DE METALÚRGICA

A ser enviado para publicação na revista **Pesquisa Agropecuária Brasileira**

**ATIVIDADE MICROBIANA E SELEÇÃO DE ESPÉCIES ARBUSTIVAS
PROMISSORAS PARA PLANTIO EM SOLO DO SEMI-ÁRIDO CONTAMINADO COM
REJEITO DE METALÚRGICA ⁽¹⁾**

Graziella de Sá Gattai⁽²⁾, Cynthia Maria Carneiro Costa⁽³⁾, Sônia Valéria Pereira⁽⁴⁾ e Leonor Costa Maia⁽⁵⁾

⁽¹⁾Parte da dissertação apresentada pela primeira autora ao Curso de Pós-Graduação em Biologia de Fungos. Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Depto. de Micologia.

⁽²⁾Bióloga, graziellagattai@bol.com.br

⁽³⁾Bióloga, Dr^a., ITEP. cynthia@itep.br

⁽⁴⁾Engenheira Química, Dr^a., ITEP, Laboratório de Microbiologia do Solo, Av. Prof. Luiz Freire, 700, Cidade Universitária, CEP 50740-540, Recife, PE. svp@itep.br

⁽⁵⁾Bióloga, Ph.D., Universidade Federal de Pernambuco, Depto. Micologia, Av. Prof. Nelson Chaves, s/n, Cidade Universitária, CEP 50670-420, Recife, PE. leonorcmaia@yahoo.com.br

RESUMO

O impacto ambiental provocado pela deposição de metais pesados no solo altera a comunidade microbiana provocando danos aos microrganismos. Para melhor elucidar o processo, os objetivos deste trabalho foram: avaliar a atividade microbiana nas proporções de solo contaminado, avaliar o número de esporos e propágulos infectivos de FMA e selecionar espécies de plantas (*Senna spectabilis*, *Caesalpinia ferrea*, *Erythrina velutina*, *Mimosa tenuiflora*, *M. caesalpiniaefolia* e *Ricinus communis*) tolerantes à contaminação do solo com metais pesados. Amostras de solo foram coletadas nos períodos seco (agosto/2004) e chuvoso (abril/2005), em duas áreas: uma contaminada com metais pesados e outra sem contaminação (nativa), e misturados experimentalmente nas proporções 0, 7,5, 15 e 30% de contaminação. A concentração de chumbo trocável nos substratos variou de 7,6 a 93,8 mg.kg⁻¹. O carbono da biomassa microbiana diminuiu à medida que a proporção de solo contaminado foi aumentada, com maiores valores no solo coletado no período chuvoso (328,86 a 201,02 µg C.g solo⁻¹) em relação ao período seco (95,03 a 32,87 µgC.g solo⁻¹). O quociente metabólico respondeu ao estresse durante o período seco, com o solo apresentando C biomassa microbiana reduzida e um alto quociente metabólico. A estimativa da atividade da fosfatase ácida apresentou valores superiores em solo coletado durante o período seco (3,069 a 2,997 µg p-npp.g solo⁻¹) em relação ao chuvoso (1,07 a 1,27 µg p-npp.g solo⁻¹). O aumento da contaminação inibiu o número de esporos e de propágulos infectivos de FMA, sendo maior no período chuvoso do que no período seco. *Erythrina velutina* foi a única espécie vegetal que apresentou diferença significativa para os parâmetros de crescimento.

Palavras-chaves: metais pesados, atividade microbiana e fungo micorrízico

INTRODUÇÃO

Do ponto de vista da sustentabilidade, solos de alta qualidade são aquelas capazes de produzir colheitas saudáveis e abundantes, descontaminando a água que passa através dele, não emitindo gases em quantidades detrimenais para o ambiente e comportando-se como ecossistema, capaz de degradar materiais orgânicos (Trasar-Cepeda et al., 2000).

Nas últimas décadas a atividade humana tem aumentado o nível de metais pesados que poluem a biosfera e elevam a contaminação do solo, provocando impacto negativo ao meio ambiente (Yanqun *et al.*, 2004).

Entre os vários elementos de origem inorgânica responsável pela poluição do solo, os metais pesados são considerados os mais relevantes; o seu efeito se estende sobre a atividade enzimática e varia de acordo com os tipos de contaminantes, de enzimas e de solo (Gianfreda et al., 2005). Os efeitos da contaminação do solo por metais pesados em relação ao ciclo dos nutrientes podem ser determinados, entre outros, pela estimativa da atividade da biomassa microbiana, emissão de CO₂, atividade enzimática e nível de degradação da matéria orgânica (García et al., 1994; Rillig & Steinberg, 2002; Andrade & Silveira, 2004; Gianfreda et al., 2005).

Os microrganismos e a flora são os principais agentes primários responsáveis pelos processos que ocorrem no solo (Dick, 1997). Nesse contexto, bactérias e fungos vêm sendo estudados como indicadores de qualidade do solo, pois a resposta da atividade microbiana às mudanças do ambiente reflete a soma de vários fatores que regulam a degradação e a transformação dos nutrientes no solo (Stenberg, 1999).

Fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são simbioses obrigatórios responsáveis por fornecer nutrientes e água para as plantas, além de favorecer a retenção de umidade, a agregação e a estabilidade dos solos. Os FMA produzem uma glicoproteína (glomalina) que tem sido

utilizada como indicadora da presença desses fungos no ambiente (Rillig & Steinberg, 2002). Alguns FMA têm sido encontrados em solos contaminados por metais pesados, evidenciando que existem isolados tolerantes a estes contaminantes, os quais tem potencial para serem utilizados na recuperação de ambientes poluídos (Liao et al., 2003).

Em áreas contaminadas, plantas colonizadas por FMA provenientes do mesmo local apresentam maior crescimento do que plantas associadas a isolados oriundos de solos não contaminados (Nogueira, 1996). A associação micorrízica em solos contaminados pode favorecer a sobrevivência das plantas devido aos benefícios decorrentes da simbiose com relação à nutrição, resistência à aridez e saúde da raiz (Weissenhorn et al., 1993).

Técnicas de remediação estão baseadas na extração ou estabilização dos contaminantes (Mora et al., 2005). Plantas podem ser utilizadas para minimizar os efeitos adversos do ambiente podendo ser esta uma alternativa nos estudos ambientais, por contribuir especialmente para minimizar os níveis de contaminação do solo (Salt et al., 1998), proteger o solo contra erosão, lixiviação, aumentar a agregação e a atividade microbiana do solo (Carneiro *et al.*, 2002).

Os objetivos deste trabalho foram avaliar a atividade microbiana, o número de propágulos infectivos e de esporos de FMA no solo e selecionar plantas tolerantes ao solo contaminado com metais pesados.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram desenvolvidos em casa de vegetação do Departamento de Micologia/CCB-UFPE e as análises bioquímicas realizadas nos Laboratórios de Microbiologia do Solo e Química Ambiental/ITEP. Foram coletadas amostras de solos (0 - 20 cm de profundidade) em duas áreas localizadas na região agreste de Pernambuco, sendo uma contaminada com

resíduos sólidos contendo metais pesados (principalmente Pb) e outra nativa, não contaminada. As coletas foram realizadas nos períodos seco (agosto/2004) e chuvoso (abril/2005).

Para cada espécie vegetal foi conduzido um experimento, em casa de vegetação, com delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro proporções de solo contaminado (0, 7,5 15 e 30% (v/v), em cinco repetições, totalizando 20 unidades experimentais/ espécie vegetal. As seis espécies testadas foram cássia carnaval (*Senna spectabilis* (DC) H.S.Irwin.& Barneby), pau-ferro (*Caesalpinia ferrea* C. Martius), mulungu (*Erythrina velutina* Wild.), jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* (Wild.) Poir.), sabiá (*M. caesalpiniaefolia* Benth.) e mamona (*Ricinus communis* L.). As sementes foram cedidas pela Embrapa Semi-árido (Petrópolis-PE), Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA) e Empresa “Produção e Comercialização de Sementes e Bagas” localizada em Garanhuns.

A caracterização química do solo foi realizada pelo Laboratório de Solos do IPA (Tabela 1). Os solos apresentaram textura franco-argilo-arenosa (solo nativo- areia 49%, silte 24% e argila 27%) (solo contaminado- areia 50%, silte 23% e argila 27%).

Tabela 1. Características químicas do substrato com proporções crescentes de solo contaminado por metais pesados dos dois períodos de coleta

% SC	PH	M.O	P	Ca	Mg	Al
	(H ₂ O)	(%)	mg.dm ⁻³		cmol _c .dm ⁻³	
0	5,34 (5,07)	1,34 (2,73)	3,0 (6,0)	1,90 (1,70)	0,90 (1,85)	0,10 (0,15)
7,5	4,92 (4,88)	1,27 (2,33)	2,0 (5,0)	2,00 (2,70)	1,25 (2,80)	0,15 (0,25)
15	4,85 (4,82)	1,26 (2,48)	2,0 (6,0)	2,00 (3,25)	1,60 (4,05)	0,15 (0,30)
30	4,76 (4,70)	1,02 (2,51)	2,0 (6,0)	1,85 (5,00)	2,85 (5,65)	0,20 (0,45)

% SC- proporção de solo contaminado
período seco (período chuvoso)

A análise do chumbo foi realizada no ITEP por lixiviação ácida (ABNT, 1987) através da leituras do pH do solo (1 solo : 20 água) nos tempos 0, 15', 30', 60' e 24 h, seguidas por agitação e corrigindo o pH para 5,0 com ácido acético. Após estes tempos fez-se a leitura em espectrometro de emissão atômica em plasma individualmente acoplado (tabela 2).

Tabela 2. Análise dos metais pesados nas proporções crescentes de solo contaminado

% Solo	Fe	Cu	Zn	Cd	Pb
contaminado	mg/dm ³				mg.kg ⁻¹
0	2714,050	8,38	509,10	7,52	7,6
7,5	2377,135	8,62	443,56	6,46	58,6
15	2040,220	8,86	377,52	5,40	97,2
30	2959,200	15,50	962,02	7,81	93,8

Para o experimento em casa de vegetação, sementes das seis espécies vegetais foram previamente desinfestadas com Hipoclorito de sódio a 0,05% e semeadas no solo sem contaminação. Após o aparecimento das folhas verdadeiras, as mudas foram transferidas para sacos plásticos contendo 2 Kg de substrato com as diluições pré-estabelecidas de solo contaminado. Após 90 dias, foi avaliada a tolerância de cada espécie vegetal à contaminação, medindo-se altura, diâmetro do caule e matéria seca da parte aérea das plantas.

O número mais provável de propágulos de FMA no solo foi avaliado utilizando solos nativo e contaminado e como diluente areia autoclavada. Vasos de 300 mL receberam 30 mL do solo nativo ou contaminado e 270 mL do diluente, diluição 10⁻¹, seguindo até a diluição de 10⁻³ sendo usado milho (*Zea mays* L.) como planta hospedeira (Feldmann & Idczak, 1994). Para cada diluente foram feitas 5 repetições e após 30 dias as raízes foram retiradas, lavadas e coradas com azul de Trypan para avaliação (Phillips & Hayman, 1970).

De cada tratamento (0, 7,5, 15 e 30%) de solo, esporos de FMA foram extraídos de 50 g de solo pelo método de peneiramento por via úmida (Gerdeemann & Nicolson, 1963), seguido por centrifugação em água e sacarose (Jenkins, 1964). Após a extração, os esporos foram contados em placas canaletadas, com o auxílio de estereomicroscópio.

Foram realizadas as seguintes análises bioquímicas e enzimáticas em cada proporções do solo contaminado:

Respiração basal (Respirometria) (Grisi, 1978): amostras de 100 g de solo foram mantidas em frascos fechados contendo um recipiente com 10 mL de KOH 0,5 M. Após 15 dias o CO₂ absorvido pelo KOH foi titulado com HCl 0,1 N, usando fenolftaleína e metilorange como indicadores.

Carbono da biomassa microbiana (método de fumigação-extração) (Vance et al., 1987): amostras de solo foram fumigadas com clorofórmio e o C foi extraído com K₂SO₄ 0,5 M. A diferença do C microbiano foi obtido após oxidação ácida (K₂Cr₂O₇, H₃PO₄ e H₂SO₄) e posterior titulação com sulfato ferroso amoniacal. O carbono da biomassa microbiana foi estimado pela diferença entre o C das amostras fumigadas e não fumigadas, utilizando o fator (kc) 0,45 (Joergensen, 1996).

O quociente metabólico (qCO₂) foi obtido pelo produto da respiração basal pelo carbono da biomassa microbiana.

Desidrogenase (Casida et al., 1964): cloreto de trifeniltetrazolium (TTC) foi adicionado a 5,0 g de solo e incubadas a 37°C. Após 24 h o trifeniformazan (TTF) formado foi extraído com metanol e estimado em espectrofotômetro (485 nm).

Fosfatase ácida (Tabatabai & Bremner, 1969): amostras de 2,0 g de solo foram incubados a 37 °C com p-nitrofenilfosfato e tampão universal modificado. Após 1 h foram adicionados CaCl_2 0,5 M, NaOH 0,2 M e p-nitrofenol e realizada leitura em espectrofotômetro (490 nm).

Glomalina facilmente extraível (EEG): amostras de 0,25 g de agregados (fração 1 - 2 mm) foram autoclavados com citrato de sódio (20 mM; pH 7,0) por 30 min., centrifugadas (10000g/5 min.) e o sobrenadante armazenado em geladeira (-4°C). As frações de glomalina foram estimadas pelo método de Bradford (1976) em espectrofotômetro (595 nm).

Os dados foram submetidos a análises de variância, os tratamentos avaliados pelo teste F ($P < 0,05$) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância usando o programa STATISTICA.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de pH (Tabela 1) apresentaram uma tendência a diminuir com o aumento da proporção de solo contaminado, possivelmente devido ao caráter ácido do solo contaminado por resíduos industriais, proporcionando maior disponibilidade dos metais no solo. A Companhia de Saneamento do Paraná (1997) propôs concentrações máximas para cada tipo de metal no solo, sendo que para o Pb é recomendada como concentração máxima, 300 mg.kg^{-1} em pH básico, e de apenas 50 mg.kg^{-1} em pH ácido, o que mostra que a partir de 7,5% de solo contaminado os níveis de Pb nos substratos testados estão acima do nível aceitável (Tabela 2).

Houve interação significativa entre as proporções de solo contaminado e os períodos de coleta com relação aos parâmetros carbono da biomassa microbiana, respiração basal e quociente metabólico (Tabela 3).

Tabela 3. Análise de variância da atividade do carbono da biomassa microbiana- C bmic. ($\mu\text{g C. g solo}^{-1}$), respiração basal- C-CO₂ ($\text{mg C-CO}_2. \text{g solo}^{-1}$), quociente metabólico- $q\text{CO}_2$ ($\text{mg C-CO}_2. \mu\text{g C mic.}^{-1}$), atividade da desidrogenase- DEH ($\mu\text{g TTC. g solo}^{-1}$), fosfatase ácida- F.AC. ($\mu\text{g p-np. g solo}^{-1}$) e glomalina- GLOM ($\text{mg prot. g solo}^{-1}$) nas proporções de solo contaminado.

Parâmetros	GL	ATIVIDADE MICROBIANA					
		C bmic.	C-CO ₂	$q\text{CO}_2$	DEH	F.AC.	GLOM.
P	3	14,04**	40,54**	41,286**	2,0869 ^{ns}	4,42*	3,9898*
E	1	203,54**	169,32**	56,114**	0,8416 ^{ns}	575,22**	2,2939 ^{ns}
P x E	3	5,56**	37,45**	34,449**	0,9213 ^{ns}	0,90 ^{ns}	2,3454 ^{ns}

(P- proporção de solo contaminado; E- período de coleta); ns- não significativo; *significativo a 5% e **significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

O carbono da biomassa microbiana pode ser utilizado de forma mais efetiva que a matéria orgânica como indicador das variações sofridas no solo, já que responde de forma mais rápida e sensível às mudanças (García et al., 2000).

A taxa de carbono da biomassa microbiana (Figura 1) foi influenciada negativamente pelo aumento da contaminação do solo nos dois períodos de estudo. No período seco a regressão foi linear mostrando que a biomassa decaiu gradativamente com o aumento da contaminação, enquanto no período chuvoso uma queda ocorreu até a concentração de 15%. De todo modo, no período chuvoso a taxa de C da biomassa microbiana foi sempre maior do que no período seco, pois limitações físicas como água, aeração e porosidade afetam as comunidades biológicas do solo e sua atividade. Em baixo potencial hídrico, a maioria dos microrganismos é inativada resultando na morte dos vegetais e aumento da esporulação dos microrganismos, com o aumento do potencial hídrico os microrganismos saem do estado de latência e voltam a se desenvolver (Moreira & Siqueira, 2002).

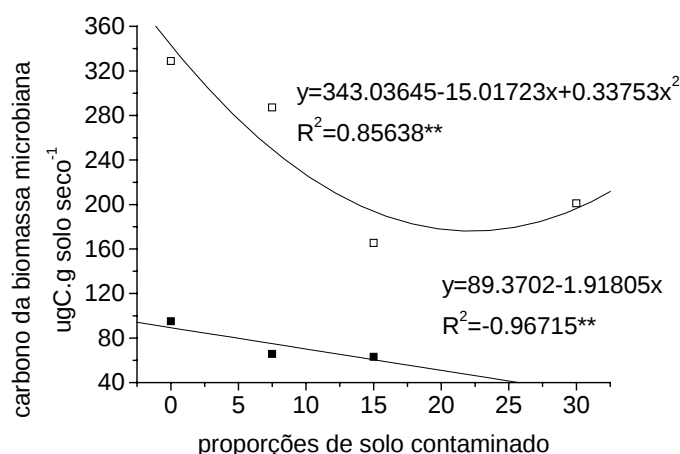


Figura 1. Médias do carbono da biomassa microbiana em função das proporções 0, 7,5, 15 e 30% de solo contaminado com metais pesados (■ período seco e □ período chuvoso).

No solo coletado durante a estação chuvosa observou-se maior produção de biomassa microbiana ($232 \mu\text{gC} \cdot \text{g solo}^{-1}$) do que na estação seca ($70 \mu\text{gC} \cdot \text{g solo}^{-1}$), com diferença significativa entre os tratamentos. Resultados similares foram observados por Andrade & Silveira (2004) em área sob a influência de chumbo.

Os dados confirmam que a presença de metais pesados é prejudicial aos microrganismos, o que refletiu na redução da biomassa microbiana. Tanto o carbono da biomassa quanto a respiração são influenciados por mudanças na composição microbiana ou na comunidade do solo, devido à presença de altos níveis de metais biodisponíveis no solo que causam diminuição no C e no N da biomassa (Khan & Scullion, 2002).

Com relação à respiração basal, o aumento da contaminação no solo alterou significativamente apenas o solo coletado durante o período chuvoso (Figura 2). Em estudos sobre contaminação do solo por diferentes metais pesados, Dumontet et al. (1992) observaram

que a respiração basal do solo não sofria alteração na presença de Pb ou Zn, porém quando o solo estava contaminado com Cd ou Cu a respiração basal respondia à contaminação.

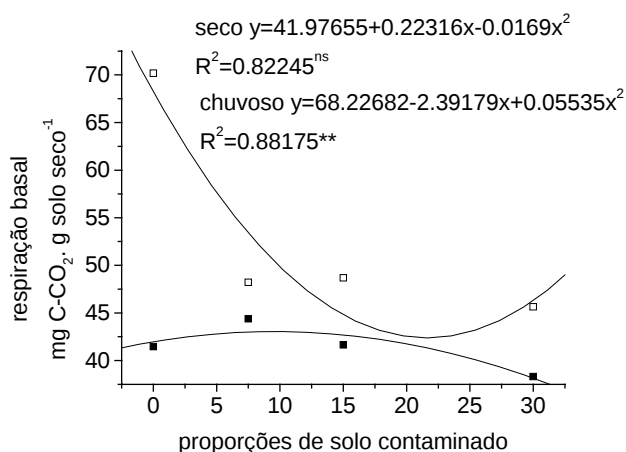


Figura 2. Médias da respiração basal em função das proporções 0, 7,5, 15 e 30% de solo contaminado com metais pesados nos períodos seco (■) e chuvoso (□).

O quociente metabólico (qCO_2) estimado no solo coletado durante o período seco (Figura 3) aumentou nas maiores concentrações de contaminação. Este resultado sugere estresse ambiental durante o período, pois o C da biomassa microbiana, para o mesmo solo, foi linearmente decrescente (Figura 1), demonstrando a baixa quantidade de microrganismos no local. O qCO_2 do solo coletado durante o período chuvoso diminuiu com o aumento da contaminação, e segundo García et al. (1994) o aumento do qCO_2 indica uma resposta da microbiota do solo às condições adversas diante das perturbações do solo.

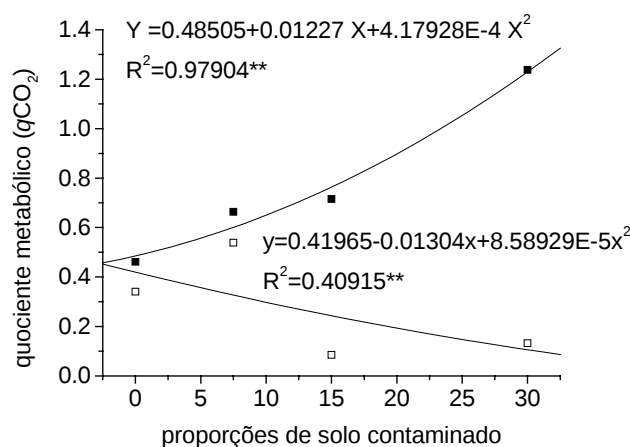


Figura 3. Médias do quociente metabólico em função das proporções 0, 7,5, 15 e 30% de solo contaminado com metais pesados (■ período seco e □ período chuvoso).

A atividade da desidrogenase não apresentou diferença significativa nem entre os períodos de coleta nem entre as proporções de solo contaminado (Tabelas 3). Essa enzima, como medida geral dos microrganismos viáveis, tem sido empregada no diagnóstico da degradação dos solos impactados por metais pesados e pesticidas (Gil-Sotres et al., 2005).

Em estudo para elucidar a utilização da atividade enzimática como estimativa da qualidade do solo, Trasar-Cepeda et al. (2000) usaram solos poluídos por efluente com tanino, lixo urbano (lixo) e hidrocarbonetos, e observaram que entre as enzimas desidrogenase, urease, β -glicosidase e fosfomonoesterase, apenas a primeira apresentou respostas em função dos diferentes tipos de contaminantes. No entanto, neste trabalho a atividade da desidrogenase não se mostrou um parâmetro sensível para detectar mudanças na microbiota do solo.

A atividade da fosfatase ácida apresentou diferença significativa tanto nas proporções de solo contaminado como nos períodos de coleta (Tabela 3). De modo geral, o valor médio da atividade da fosfatase ácida no período seco ($3,14 \mu\text{g p-npp.g}^{-1} \text{h}^{-1}$) foi 2,3 vezes maior do que o

observado no período chuvoso ($1,33 \mu\text{g p-npp.g}^{-1} \text{h}^{-1}$) (Figura 4 a). A atividade da fosfatase ácida também diferiu entre os tratamentos com diferentes proporções de contaminação, sendo que a estimativa desta enzima no tratamento com 7,5% de solo contaminado ($2,411 \mu\text{g p-np. g solo}^{-1}$) foi superior ao detectado no solo sem contaminação ($2,070 \mu\text{g p-np. g solo}^{-1}$). O aumento da contaminação de 7,5 para 30% não produziu efeito sobre a produção de fosfatase ácida (Figura 4 b).

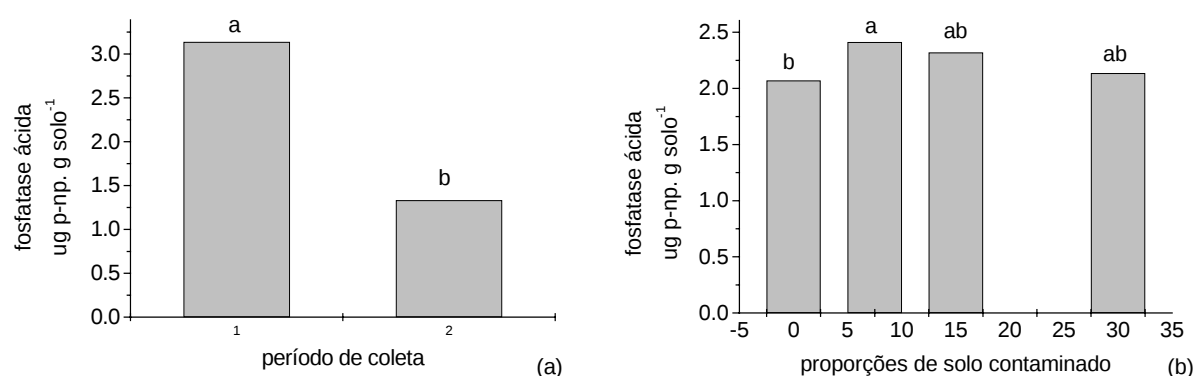


Figura 4. Médias da atividade da fosfatase ácida em função dos períodos de coleta (a) (1 seco e 2 chuvoso) e em relação as proporções 0, 7,5, 15 e 30% de solo contaminado com metais pesados (b). Médias seguidas das mesmas letras minúsculas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey (5%).

Lee et al. (2002) estudaram o efeito da deposição de metais pesados e de TNT no solo, sobre a atividade enzimática (atividade da desidrogenase, fosfatase e β -glicosidase) em dois períodos, observando que no outono a atividade da fosfatase ácida (período das chuvas) foi menor que no período mais seco e que o aumento da concentração de metais tem impacto negativo na estrutura e função das comunidades do solo.

A fosfatase pode estar relacionada positivamente com o pH ou negativamente com o fósforo disponível no solo, devido à atuação na mineralização do fósforo, indicando o seu

potencial para as reações bioquímicas e contribuindo para a fertilidade do solo (Gianfreda et al., 2005).

Foi observada diferença significativa na produção de glomalina, que diminuiu no tratamento com 15% de solo contaminado, em comparação com o solo controle (Figura 5).

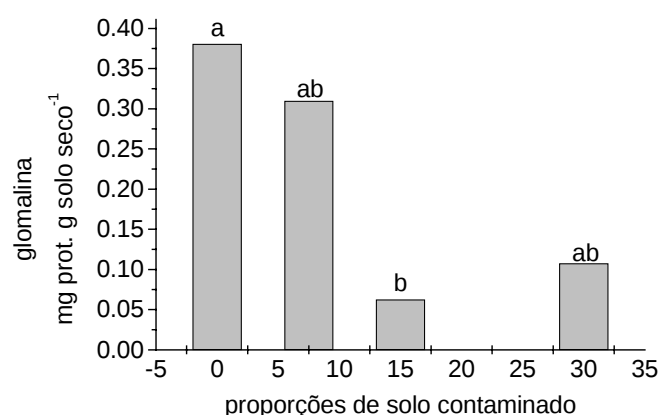


Figura 5. Médias da produção de glomalina em relação as proporções 0, 7,5, 15 e 30% de solo contaminado com metais pesados.

Médias seguidas das mesmas letras minúscula, não diferem significativamente pelo teste de Tukey (5%).

A baixa produção de glomalina pode estar relacionada com o estresse do solo mostrado pelo qCO_2 (Figura 3) confirmando o comentário feito por Rillig & Steinberg (2002), de que as condições menos favoráveis do ambiente representam menor agregação do solo e produção de glomalina.

O potencial infectivo dos FMA foi influenciada pelo período de coleta, sendo maior no período chuvoso (média 350 a 40 propágulos infectivos.cm⁻³) do que no período seco (média 140 a 12 propágulos infectivos.cm⁻³) para o solo sem e com contaminação.

O número de propágulos infectivos no solo nativo foi maior do que no solo com 100% de contaminação, confirmando o trabalho de Liao et al. (2003) que observaram que o número de

esporos, a infectividade micorrízica e a germinação dos esporos de FMA são afetados diferentemente pela concentração de metais pesados e pelos diferentes tipos de metais.

O número de esporos não diferiu entre os solos nativo (média 136 e 124 esporos.100g solo⁻¹) e contaminado (média 144 a 132 esporos.100g solo⁻¹), respectivamente no período seco e chuvoso. Souza et al. (2003) observaram que quando o número de esporos encontrados em um solo é baixa, e a infectividade dos esporos do mesmo solo é alta, isto pode estar relacionado aos diferentes mecanismos de sobrevivência do FMA.

Estudando três espécies de FMA e dois hospedeiros, em solos contaminados com Cu ou Cd, Liao et al. (2003) observaram que a densidade dos inóculos de *Acaulospora laevis*, *Glomus caledonium* e *G. manihotis* variou com a contaminação e que a esporulação dos fungos foi afetada pela concentração de metal pesado no solo. Do mesmo modo, Del Val et al. (1999) encontraram diminuição no número de esporos (550 para 30 esporos.100g solo⁻¹) com aumento da concentração de metais pesados no solo.

As seis espécies vegetais cultivadas nas diferentes proporções de solo contaminado, não apresentaram diferença significativa, para nenhum dos parâmetros analisados, com exceção da espécie mulungu (Tabela 4). Esta se desenvolveu no solo com até 15% de contaminação.

Tabela 4. Médias de altura, diâmetro do caule e produção de matéria seca da parte aérea (MSPA) de plantas mantidas em substrato com proporções crescentes de solo contaminado.

Planta	% Solo contaminado	Parâmetros de crescimento		
		Altura (cm)	Diâmetro caule (mm)	MSPA (g)
Cássia	0	16,76 a	0,29 a	0,78 a
	7,5	15,28 a	0,28 a	0,75 a
	15	13,94 a	0,25 a	0,62 a
	30	14,96 a	0,30 a	0,71 a
Jurema	0	6,04 a	0,17 a	0,24 a
	7,5	6,28 a	0,17 a	0,25 a
	15	5,74 a	0,17 a	0,23 a
	30	6,58 a	0,18 a	0,18 a
Mamona	0	16,36 a	0,43 a	0,66 a
	7,5	14,26 a	0,46 a	0,65 a
	15	16,96 a	0,48 a	0,74 a
	30	17,02 a	0,46 a	0,54 a
Mulungu	0	7,42 b	0,36 c	1,47 b
	7,5	16,60 a	0,88 a	3,40 a
	15	15,16 ab	0,78 ab	2,06 ab
	30	7,70 b	0,49 bc	1,22 b
Pau-ferro	0	28,76 a	0,34 a	1,44 a
	7,5	28,54 a	0,35 a	1,29 a
	15	36,14 a	0,35 a	1,88 a
	30	32,76 a	0,34 a	1,67 a
Sabiá	0	21,62 a	0,36 a	1,50 a
	7,5	23,38 a	0,38 a	1,71 a
	15	18,46 a	0,34 a	1,02 a
	30	20,92 a	0,35 a	1,18 a

Observando o crescimento de três espécies arbustivas (*Acacia mangium*, *Enterolobium contortisiliquum* e *Sesbania virgata*) em solo contaminado com metais pesados, Trannin et al. (2001) registraram efeito significativo sobre a produção e o crescimento das plantas, em função dos baixos índices de tolerância para as variáveis de produção de matéria seca da parte aérea, altura e diâmetro do caule, de cada espécie vegetal estudada. Os autores observaram ainda, efeito fitotóxico dos metais sobre as três espécies, a partir de 15% de contaminação, com redução no crescimento, clorose das folhas novas seguidas por branqueamento e diminuição da ramificação das raízes, sintomas típicos da toxidez por metais pesados. Aspectos similares também foram

percebidos para as espécies cássia e sábia, embora isso não tenha sido evidenciado estatisticamente.

CONCLUSÕES

- O carbono da biomassa microbiana e o quociente metabólico refletem estresse do solo durante o período seco;
- Os esporos dos fungos micorrízicos arbusculares coletados no período chuvoso possuem um maior potencial infectivos do que os coletados durante o período seco;
- *Erythrina velutina* (mulungu) mostrou-se tolerante ao solo com até 15% de contaminação por metais pesados;

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas), NBR 10005 – Lixiviação de resíduos. **Fórum Nacional de Normalização**. 10 p., 1987.

ANDRADE, S. A. L.; SILVEIRA, A. P. D. Biomassa e atividade microbianas do solo sob influência de chumbo e da rizosfera da soja micorrizada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.39, nº12, p.1191-1198, 2004.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p. 248-254, 1976.

CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Comportamento de espécies herbáceas em misturas de solo com diferentes graus de contaminação com metais pesados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, nº 11, p. 1629-1638, 2002.

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

DEL VAL C.; BAREA, J. M.; AZCÓN-AGUILAR, C. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungus populations in heavy-metal-contaminated soils. **Applied and Environmental Microbiology**, v.65, nº 2, p. 718-723, 1999.

DICK, R. P. Soil enzyme activities as integrative indicators of soil health. In: PANKHURST, C. E.; DOUBE, B. M.; GUPTA, V. V. S. R. (Ed.). **Biological Indicators of Soil Health**. USA: Cab International, 1997. p.121-156.

DUMONTET, S.; DINEL, H.; LÉVESQUE, P.E.N. The distribution of heavy metals and their effect on soil respiration and acid phosphatase activity in mineral soils of the Rouyn-Noranda region, Quebec. **The Science of the Total Environment**. v.121, p.231-245, 1992.

FELDMANN, F.; IDCZAK, E. Inoculum production of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for use in tropical nurseries. In: NORRIS, J.R.; READ, D.J.; VARMA, A. K. **Techniques for Mycorrhizal Research**. London: Academic Press, 1994, p. 799-817.

GARCÍA, C.; HERNÁNDEZ, T.; COSTA, F.; CECCANTI, B. Biochemistry parameter in soils regenerated by the addition of organic wastes. **Wastes Management & Research**. v.12, p.457-466, 1994.

GARCÍA, C.; HERNÁNDEZ, T.; PASCUAL, J.; MORENO, J. L.; ROS, M. Actividad microbiana en suelo del sureste español sometidos a procesos de degradación y desertificación. Estrategias para su rehabilitación. In: GARCÍA, C.; HERNÁNDEZ, T. (Ed.). **Investigación y Perspectivas de la Enzimología de Suelo en España**. 1ª edición. CSIC: Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura, 2000. p.43-143.

GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 46, p. 235-244, 1963.

GIANFREDA, L.; RAO, M. A.; PIOTROWSKA, A.; PALUMBO, G.; COLOMBO, C. Soil enzyme activity as affected by anthropogenic alterations: intensive agricultural practices and organic pollution. **Soil of the Total Environment**. v. 341, p.265-279, 2005.

GIL-SOTRES, F.; TRASAR-CEPEDA, C.; LEIRÓS, M. C.; SEOANE, S. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. **Soil Biology & Biochemistry**. v.37, p.877-887, 2005.

GRISI, B. M. Método químico de medição da respiração edáfica: alguns aspectos técnicos. **Ciência e Cultura**, v.30, n° 1, p. 82-88, 1978.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Report**, v. 48, p. 692, 1964.

JOERGENSEN, R. G. The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass:calibration of the k_{EC} value. **Soil Biology & Biochemistry**. v.28, n° 1, p.25-31, 1996.

KHAN, M.; SCULLION, J. Effects of metal (Cd, Cu, Ni, Pb or Zn) enrichment of sewage-sludge on soil micro-organisms and their activities. **Applied Soil Ecology**. v. 20, p.145-155, 2002.

LEE, I. S.; KIM, O. K.; CHANG, Y. Y.; BAE, B.; KIM, H. H.; BAEK, K. H. Heavy metal concentrations and enzyme activities in soil from a contaminated Korean shooting range. **Journal of Bioscience and Bioengineering**. v.94, n° 5, p.406-411, 2002.

LIAO, J. P.; LIN, X. G.; CAO, Z. H.; SHI, Y. Q.; WONG, M. H. Interactions between Arbuscular Mycorrhizae and Heavy Metals under Sand Culture Experiment. **Chemosphere**. v.50, p. 847-853, 2003.

MORA, A. P.; ORTAGA-CALVO, J. J.; CABRERA, F.; MADEJÓN, E. Change in enzyme activities and microbial biomass after “in situ” remediation of heavy metal-contaminated soil. **Applied Soil Ecology**. v.28, p.125-137, 2005.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 1º edição. Lavras: Editora UFLA, 2002. 626 p.

NOGUEIRA, A. V. As micorrizas e o excesso de metais. In: SIQUEIRA, J. O. **Avanços em Fundamentos e Aplicação de Micorrizas**. Universidade Federal de Lavras, MG: Depto. Ciência do Solo & Depto. Ciência Florestais, 1996. p. 135-174.

PHILLIPS, J.M. & HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assesment of infection. **Transactions British Mycological Society**. v.55, nº1, p.158-161, 1970.

RILLIG, M. C.; STEINBERG, P. D. Glomalin production by an arbuscular mycorrhizal fungus: a mechanism of habitat modification? **Soil Biology & Biochemistry**. v.34, p.1371-1374, 2002.

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

STENBERG, B. Monitoring soil quality of Arable Land: Microbiological indicators. **Acta Agriculturae Scandinavica**. v.49, p. 1 – 49, 1999.

SOUZA, R. G.; MAIA, L. C.; SALES, M. F.; TRUFEM, S. F. B. Diversidade e potencial de infectividade de fungos micorrízicos arbusculares em área de caatinga, na Região de Xingo, Estado de Alagoas, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**. v. 26, p. nº 1, p. 49-60, 2003.

TABATABAI, M. A.; BREMNER, J. M. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. **Soil Biology & Biochemistry**, v.1, p. 301-307, 1969.

TRANNIN, I. C. B.; MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Crescimento e nodulação de *Acácia mangium*, *Enterolobium contortisiliquum* e *Sesbania virgata* em solo contaminado com metais pesados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v.25, p.743-753, 2001.

TRASAR-CEPEDA, C.; LEIRÓS, M. C.; SEOANE, S.; GIL-SOTRES, F. Limitations of soil enzymes as indicators of soil pollution. **Soil Biology & Biochemistry**. v. 32, p.1867-1875, 2000.

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

WEISSENHORN, I.; LEYVAL, C.; BERTHELIN, J. Cd-tolerant arbuscular mycorrhizal (AM) fungi from heavy-metal polluted soils. *Plant and Soil*. v.157, p.247-256, 1993.

YANQUN, Z.; YUAN, L.; SCHVARTZ, C.; LANGLADE, L.; FAN, L. Accumulation of Pb, Cd, Cu e Zn in plants and hyperaccumulator choice in lamping lead-zinc mine area, China. **Environment International**, v.30, p. 567-576, 2004.

Gattai, G. S. Efeito dos fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento de espécies arbustivas...

CAPÍTULO 3

EFEITO DOS FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES (FMA) NO CRESCIMENTO DE ESPÉCIES NATIVAS DO SEMI-ÁRIDO E NA ATIVIDADE MICROBIANA EM SOLO CONTAMINADO COM CHUMBO ⁽¹⁾

A ser enviado para publicação na **Revista Brasileira de Ciência do Solo**

EFEITO DOS FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES (FMA) NO CRESCIMENTO DE ESPÉCIES NATIVAS DO SEMI-ÁRIDO E NA ATIVIDADE MICROBIANA EM SOLO CONTAMINADO COM CHUMBO ⁽¹⁾

Graziella de Sá Gattai⁽²⁾, Bruno Tomio Goto⁽³⁾, Sônia Valéria Pereira⁽⁴⁾ e Leonor Costa Maia⁽⁵⁾

⁽¹⁾Parte da dissertação apresentada pela primeira autora ao Curso de Pós-Graduação em Biologia de Fungos. Universidade Federal de Pernambuco.

⁽²⁾Bióloga, graziellagattai@bol.com.br

⁽³⁾Biólogo, Doutorando, Universidade Federal de Pernambuco, Depto. Micologia, brunogoto@yahoo.com.br

⁽⁴⁾Engenheira Química, Dr^a., ITEP, Laboratório de Microbiologia do Solo, Av. Prof. Luiz Freire, 700, Cidade Universitária, CEP 50740-540, Recife, PE. svp@itep.br

⁽⁵⁾Bióloga, Ph.D., Universidade Federal de Pernambuco, Depto. Micologia, Av. Prof. Nelson Chaves, s/n, Cidade Universitária, CEP 50670-420, Recife, PE. leonorcmaia@yahoo.com.br

RESUMO

A utilização de plantas micorrizadas tem adquirido destaque pelo potencial em minimizar os efeitos da poluição pela deposição de metais pesados no solo. Os objetivos deste trabalho foram: identificar e testar a efetividade de fungos micorrízicos arbusculares nativos sobre o crescimento de mudas de *Caesalpinia ferrea*, *Erythrina velutina*, *Mimosa tenuiflora* e avaliar a atividade microbiana em solo contaminado por chumbo, antes e após o cultivo. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em fatorial, considerando quatro tratamentos de solo (sem e com 15% de contaminação, sem e com FMA nativo), em três espécies vegetais e com cinco repetições. Foram identificadas dezoito espécies de FMA, sendo 17 no solo sem contaminação e 11 no solo contaminado. A contaminação do solo inibiu a colonização das mudas pelos FMA e possivelmente por este motivo a inoculação não foi efetiva em promover o crescimento das mudas. *Erythrina velutina* foi a única espécie com aumento de massa da matéria seca na presença do FMA, em solo contaminado. As estimativas da biomassa microbiana, da glomalina e da atividade da desidrogenase foram maiores no solo antes do cultivo, devido à posterior esterilização do solo para os experimentos, enquanto a fosfatase ácida foi estimulada na presença das plantas micorrizadas.

Palavras-chaves: chumbo, atividade microbiana e fungos micorrízicos.

INTRODUÇÃO

O solo é um importante recurso natural que necessita ser preservado, pois o equilíbrio ecológico, quando perturbado pelo homem, resulta na queda da qualidade natural promovendo destruição das plantas, deficiência na matéria orgânica e degradação da estrutura do solo, o que aumenta o risco de erosão (Izquierdo et al., 2005). Entre as inúmeras atividades antrópicas que afetam o ambiente, as atividades de mineração e da indústria metalúrgica produzem grandes quantidades de rejeito com metais pesados que poluem o solo (Carneiro et al., 2002).

Entre as fontes de contaminação de metais ao solo agrícola, a disposição inadequada de resíduos industriais e o uso de produtos agrícolas contaminados com Cd, Pb, Ni, Cu e Zn, quando aplicados durante muitos anos e em um mesmo local, têm sido considerados como as mais preocupantes (Azevedo et al., 2004).

O desenvolvimento das plantas em um solo contaminado depende de vários fatores, entre os quais a intensidade da contaminação, a biodisponibilidade dos metais para as raízes e a habilidade das plantas em absorver e acumular os metais nas folhas (Ernest, 1996). Estudando 31 espécies herbáceas, Carneiro et al. (2002) observaram que as espécies se comportam de forma diferente em relação à contaminação do solo por Cd e Zn, variando de tolerante a muito sensível a esses elementos.

Os microrganismos presentes no solo e na rizosfera realizam atividades metabólicas relevantes para o crescimento das plantas (Andrade & Silveira et al., 2004). Entre eles, os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são importantes por formar associações simbióticas com as raízes da maioria das plantas vasculares, disponibilizando nutrientes para os hospedeiros em troca de carboidratos (Weissenhorn et al., 1993). Contudo, o potencial de adaptação desses fungos à

toxidez de metais no solo precisa ser melhor conhecido, embora os FMA sejam considerados “atenuadores da toxidez causada pelos metais” (Leyval et al., 1997).

Os metais podem atuar como fungitóxicos, reduzindo a germinação dos esporos, o crescimento do micélio e a colonização micorrízica (Nogueira, 1996). Desta forma, altas concentrações de metais podem interferir na associação micorrízica (Siqueira et al., 1999; Rao & Tak, 2002).

A análise das propriedades biológicas e bioquímicas é uma das formas mais úteis de detectar a perda da qualidade do solo (Visser & Parkinson, 1992). Tais propriedades estão relacionadas com o ciclo dos nutrientes, degradação da matéria orgânica, capacidade de mineralização do carbono e do nitrogênio e atividade enzimática do solo (García & Hernandez, 1997; Trasar-Cepeda et al., 2000; Mora et al., 2005). Entre as análises atualmente empregadas para definir a qualidade de um solo incluem-se: biomassa microbiana (C e N), respiração basal, quociente metabólico, atividade enzimática e produção de glomalina. Esta última é uma glicoproteína resultado da atividade do micélio externo dos FMA e contribui para agregação do solo (Wright & Upadhyaya, 1998).

Os objetivos deste trabalho foram identificar e testar a efetividade dos FMA nativos sobre o crescimento de mudas arbóreas nativas e estimar a atividade microbiana em solo do semi-árido contaminado por chumbo.

MATERIAL E MÉTODOS

Local de execução

Os experimentos foram realizados em casa de vegetação, no Departamento de Micologia/CCB-UFPE e as análises químicas e ensaios bioquímicos realizados nos Laboratórios de Microbiologia do Solo e Química Ambiental-ITEP.

Coleta, preparo e caracterização do solo

Foram coletadas amostras de solo em duas áreas, localizadas no Município de Belo Jardim, na região agreste do Estado de Pernambuco, sendo uma destinada à deposição de resíduos sólidos industriais (ARSI) com metais pesados (principalmente Pb) e outra nativa com vegetação de caatinga, como controle.

As amostras de solo foram coletadas (0 – 20 cm profundidade) em dez pontos aleatórios (cada um composto de três sub-amostras) em cada área, e acondicionadas em sacos de polietileno fechados e identificados. No Laboratório, o solo foi peneirado e esterilizado em autoclave (1 h, 2 dias consecutivos) a 120 °C e após 10 dias colocado em sacos de 1 Kg, sendo arranjado em dois tratamentos: solo nativo sem contaminação (SC) e solo com contaminação (CC), este último composto de solo nativo (85%) e contaminado (15%).

Análise granulométrica e da fertilidade do solo

A caracterização química do solo foi realizada pela Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA) (Tabela 1). O solo apresentou textura-franco-argilo arenosa (solo SC areia 51%, silte 22% e argila 27%) (solo CC areia 49%, silte 28% e argila 23%).

Tabela 1. Características físico-químicas do solo utilizado nos experimentos.

Solos	pH	M.O.	V	P	Ca	Mg	K	Al	H	S	Pb
	H ₂ O	%		mg.dm ⁻³				cmol _c .dm ⁻³			mg.kg ⁻¹
SC	5,07	2,73	68	6,00	1,70	1,85	0,45	0,15	2,82	6,40	37,0
CC	4,82	2,48	77	6,00	3,25	4,05	0,41	0,30	4,65	16,05	154,0

SC- sem contaminação; CC- com contaminação

Análise dos metais pesados do solo por lixiviação (ABNT, 1987)

Leituras do pH do solo (1 solo : 20 água) foram realizadas nos tempos 0, 15', 30', 60' e 24 h, seguidas por agitação e corrigindo o pH para 5,0 com ácido acético. Após o último tempo, as amostras foram filtradas e fez-se a leitura em espectro de emissão atômica em plasma individualmente acoplado, no laboratório LQA do ITEP.

Espécies vegetais e germinação das sementes

As espécies testadas foram jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* [Wild.] Poir.), pau-ferro (*Caesalpinia ferrea* C. Martius) e mulungu (*Erythrina velutina* Wild.).

As sementes foram previamente desinfestadas (Hipoclorito de sódio a 0,05% por 10 minutos), lavadas com água destilada e semeadas em solo sem contaminação. Após emissão das duas primeiras folhas verdadeiras, as mudas foram transferidas para os sacos contendo 1 Kg de solo (sem ou com contaminação) e mantidas em casa de vegetação por 90 dias.

Análise dos FMA

Identificação das espécies de FMA: esporos foram extraídos do solo por peneiramento por via úmida (Gerdemann & Nicolson, 1963), centrifugados em água sacarose (Jenkins, 1964) e separados, sendo parte usada para identificação e o restante como inóculo. Esporos foram montados com PVLG (ácido láctico polivinílico glicerina) e reagente de Melzer + PVLG (1: 1) e para identificação foram utilizados o Manual de Identificação de FMA (Schenck & Perez, 1990) e o banco de dados da International Culture Collection of Arbuscular Mycorrhizal Fungi

(<http://www.invam.caf.wvu.edu/taxonomy>). O inóculo foi constituído de 100 esporos/pote, extraídos do solo aleatoriamente. A inoculação ocorreu no momento do transplântio das mudas para os sacos com os respectivos tratamentos de solo.

Avaliação da efetividade dos FMA nativos: após 90 dias em casa de vegetação, as plantas inoculadas com FMA nativos e as não inoculadas foram avaliadas quanto à altura, diâmetro do caule, matéria seca da parte aérea e colonização micorrízica.

Avaliação da colonização micorrízica - as raízes foram lavadas, diafanizadas com KOH e H₂O₂, acidificadas com HCl (1%) e coradas com azul de Trypan em lactoglicerol (0,05%) (Phillips & Hayman, 1970). A colonização foi avaliada pelo método de interseção dos quadrantes (Giovannetti & Mosse, 1980).

Delineamento experimental

Para cada espécie vegetal foi conduzido um experimento, em casa de vegetação, com delineamento experimental inteiramente casualizado, com 4 tratamentos (sem contaminação e com micorriza (SC + M), sem contaminação e sem micorriza (SC + SM), com contaminação e com micorriza (CC + M) e com contaminação e sem micorriza (CC SM) em 5 repetições, perfazendo 20 unidades experimentais/espécie vegetal.

Para análise da qualidade do solo pelos parâmetros bioquímicos e enzimáticos foram utilizados 6 tratamentos de solo (antes e após o cultivo, solo com e sem contaminação e com e sem FMA) e 5 repetições, perfazendo 30 unidades/espécies vegetais.

Análises bioquímicas e enzimáticas do solo

Análises bioquímicas e enzimáticas das amostras do solo foram feitas para cada tratamento, antes e após o cultivo das plantas.

Respirometria (Grisi, 1978): amostras com 100 g de solo e capacidade de campo ajustada a 50% foram mantidas em frascos fechados contendo em seu interior um recipiente com 10 mL de KOH 0,5 M. O CO₂ absorvido pelo KOH foi titulado com HCl 0,1 N, usando fenolftaleína e metilorange como indicadores.

Carbono da biomassa microbiana (método de fumigação-extração) (Vance *et al.*, 1987): amostras com 4 g de solo foram submetidas a atmosfera de clorofórmio por 30' para a sua fumigação. O carbono das amostras fumigadas e não fumigadas foram extraídas com K₂SO₄ 0,5 M. Em seguida o extrato obtido foi oxidado com K₂Cr₂O₇, H₂SO₄ e H₃PO₄ e foi feita a titulação com Fe(SO₄)₂NH₄.6H₂O. A estimativa do carbono microbiano foi feita pela diferença entre o C das amostras fumigadas e não fumigadas, utilizando o fator (kc) 0,45 (Joergensen, 1996).

O quociente metabólico (qCO₂) foi obtido da reação da respiração basal pelo carbono da biomassa microbiana

Desidrogenase (Casida *et al.*, 1964): amostras com 5,0 g de solo receberam 5,0 mL de cloreto de trifeniltetrazolium (TTC) e foram incubadas por 24h a 37 °C. O trifeniformazan (TTF) formado foi extraído com metanol e estimado por espectrofotometria a 485 nm.

Fosfatase ácida (Tabatabai & Bremner, 1969): amostras com 2,0 g de solo foram incubadas por 1 h a 37 °C com p-nitrofenilfosfato e tampão universal modificado (MUB). Após incubação foram adicionados CaCl₂ 0,5 M e NaOH 0,2 M. A leitura foi realizada pela absorbância do extrato em espectrofotômetro a 490 nm.

Glomalina facilmente extraível (EEG): amostras de 0,25 g de solo foram autoclavadas com citrato de sódio (20 mM; pH 7,0) por 30 min. e centrifugadas (10000g/5 min.) e o sobrenadante armazenado em geladeira (-4 °C). As frações de glomalina foram estimadas pelo

método de Bradford (1976) em espectrofotômetro (595 nm). Para a curva-padrão foi utilizado soro albumina bovina (BSA).

Análise dos dados

Os dados foram submetidos à análise de variância, os tratamentos avaliados pelo teste F ($P < 0,05$) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância usando o programa STATISTICA.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas áreas estudadas, os FMA estão representados por seis gêneros e dezoito espécies, sendo: três de *Acaulospora*, uma de *Archaeospora*, duas de *Gigaspora*, sete de *Glomus*, uma de *Paraglomus* e quatro de *Scutellospora*. O gênero mais representado em número de espécies foi *Glomus* (Tabela 2).

Resultados similares foram observados por Silva et al. (2005) em estudo realizado em área de mineração de cobre, onde 21 espécies de FMA foram identificadas, sendo a maioria pertencente ao gênero *Glomus*, provavelmente por ser um gênero com ampla distribuição e maior número de espécies. Comparando os dois trabalhos verifica-se que *Acaulospora scrobiculata*, *A. tuberculata*, *Glomus clarum*, *G. etunicatum*, *G. sinuosum* e *Paraglomus occultum* foram encontradas nos dois locais de estudo, evidenciando a provável tolerância destas espécies à contaminação.

Tabela 2. Fungos micorrízicos arbusculares identificados nos solos nativo (sem contaminação) e com 15% e 100% de contaminação por chumbo, coletados no Município de Belo Jardim, PE.

Espécies de FMA	Solos		
	Nativo	15%	100%
<i>Acaulospora mellea</i> Spain & Schenck	+	+	-
<i>A. scrobiculata</i> Trappe	+	+	-
<i>A. tuberculata</i> Janos & Trappe	+	+	-
<i>Archaeospora leptoticha</i> (Schenck & Smith) Morton & Redecker	+	+	-
<i>Gigaspora</i> sp.	+	+	-
<i>G. decipiens</i> Hall & Abbott	+	+	-
<i>Glomus</i> sp.	+	-	-
<i>G. clarum</i> Nicolson & Schenck	-	+	+
<i>G. clavisporum</i> (Trappe) Almeida & Schenck	+	-	-
<i>G. coremioides</i> (Berkeley & Broome) Morton & Redecker	+	-	-
<i>G. etunicatum</i> Becker & Gerdemann	+	-	-
<i>G. glomerulatum</i> Sieverding	+	+	-
<i>G. sinuosum</i> (Gerdemann & Baski) Almeida & Schenck	+	-	-
<i>Paraglomus occultum</i> (Walker) Morton & Redecker	+	+	+
<i>Scutellospora biornata</i> Spain, Sieverding & Toro	+	-	-
<i>S. gregaria</i> (Schenck & Nicolson) Walker & Sanders	+	+	+
<i>S. pellucida</i> (Nicolson & Schenck) Walter & Sanders	+	-	-
<i>S verrucosa</i> (Koske & Walker) Walker & Sanders	+	+	-

(+) presença e (-) ausência do fungo micorrízicos

Em trabalhos sobre a diversidade de FMA no cerrado brasileiro, Klauberg-Filho et al. (2002) identificaram 21 espécies de FMA, dentro de 5 gêneros, em área contaminada com metais pesados, sendo identificada apenas uma espécie de *Entrophospora*, gênero que não foi representado no presente estudo.

Souza et al. (2003) identificaram, em área preservada da caatinga no semi-árido nordestino, sete espécies de *Acaulospora*, uma de *Archaeospora*, uma de *Entrophospora*, duas de *Gigaspora*, oito de *Glomus*, uma de *Paraglomus* e quatro de *Scutellospora*. *Acaulospora*

scrobiculata, *A. leptoticha*, *G. etunicatum*, *G. sinuosum*, *P. occultum* e *S. pellucida* foram encontrados nas duas áreas, mostrando a adaptação dessas espécies ao ambiente semi-árido.

A taxa de colonização dos FMA foi baixa nos dois solos (<10%) decaindo com a adição do solo contaminado em raízes de jurema (6,5 – 2,7 % de colonização) e pau-ferro (8,7 – 6,0% de colonização), porém esta diminuição não foi significativa. A baixa colonização da raiz pelo FMA pode ter sido devido à concentração do chumbo no solo e à saturação de bases (V), como observado por Andrade et al. (2003), em estudo sobre a influência do chumbo no crescimento de FMA.

Del Val et al. (1999) constataram redução significativa da colonização de raízes de *Allium porrum* e *Sorghum bicolor* por diferentes espécies de *Glomus*, em solo com adição de lodo de esgoto contendo altos teores de Zn, Cd, Ni e Pb, além de forte diminuição na formação de arbúsculos e na extensão do micélio externo.

De modo geral, a simbiose não propiciou benefícios às plantas, possivelmente devido aos níveis muito baixos da colonização micorrízica. Mesmo assim, em mulungu, as plantas micorrizadas apresentaram maior desenvolvimento em alguns parâmetros (Tabela 3). O diâmetro do caule diferiu entre os tratamentos com e sem micorriza nos dois solos, com produção de matéria seca diferindo apenas no solo com contaminação, pela presença ou ausência da micorriza. A micorrização nas plantas de pau-ferro proporcionou diferença significativa na altura das plantas mantidas em solos com e sem contaminação.

Estudando o efeito da micorrização em mudas de espécies arbóreas cultivadas em solo contaminado com metais pesados, Siqueira et al. (1999) observaram forte redução do crescimento com o aumento da contaminação, tanto em plantas micorrizadas quanto nas não micorrizadas.

Em espécies de gramíneas, Carneiro et al. (2001) evidenciaram queda na produção de matéria seca com o aumento da contaminação, enquanto a mostarda apresentou produção máxima em tratamentos com 18% de solo contaminado. Isso demonstra que a eficiência do FMA em promover aumento na produção de matéria seca da planta depende do nível e tipo de metais pesados no solo (Del Val et al., 1999).

Tabela 3. Médias dos parâmetros do crescimento de plantas com micorriza (M) ou sem micorriza (SM), cultivadas em solos sem contaminação (SC) e com contaminação (CC) após 90 dias em casa de vegetação

Planta	Tratamentos	Altura (cm)		Diâmetro caule (cm)		MSPA (g)	
		SC	CC	SC	CC	SC	CC
Jurema	M	3,77 aA	4,72 aA	0,07 aA	0,08 aA	0,02 aA	0,02 aA
	SM	5,22 aA	3,95 aA	0,07 aA	0,06 aA	0,02 aA	0,02 aA
Mulungu	M	13,82 aA	14,17 aA	0,57 aA	0,53 aA	0,95 aA	0,97 aA
	SM	12,50 aA	7,77 aA	0,27 aB	0,32 aB	0,54 aA	0,36 aB
Pau-ferro	M	20,55 aA	15,37 bA	0,27 aA	0,20 aA	0,76 aA	0,39 aA
	SM	10,42 aB	10,10 aA	0,19 aA	0,24 aA	0,23 aA	0,19 aA

MSPA- matéria seca da parte aérea

Médias seguidas da mesma letra minúscula, na linha, e mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Analisando o efeito da adição de doses de Pb no solo sobre a massa da matéria seca, Andrade et al. (2003) observaram significativa diminuição linear do crescimento em plantas de soja micorrizada. Por outro lado, neste trabalho, as plantas sem micorriza não apresentaram efeito inibitório no crescimento em função da presença dos metais, apesar de terem crescimento inferior em relação às plantas micorrizadas.

Enkhtuya et al. (2000) observaram que espécies nativas de FMA isolados de solos degradados com altos níveis de metais e alta acidificação, não estimularam o crescimento das plantas quando comparado com o controle sem micorriza. Segundo os autores, este fenômeno

pode estar relacionado com o desequilíbrio custo-benefício da simbiose micorrízica nos solos contaminados ou ser devido à maior absorção de metais pesados por plantas micorrizadas.

Em plantas de *Olea europaea*, *Pistácia lentiscus*, *Retama sphaerocarpa* e *Rhamnus lycioides*, inoculadas com fungos nativos ou com *Glomus claroideum*, em solo degradado, Caravaca et al. (2005) observaram que não houve interferência significativa da inoculação no crescimento das plantas.

A produção de glomalina (Tabela 4) foi maior no solo não contaminado, antes de iniciado o plantio, do que nos demais tratamentos, que não diferiram entre si. Essa proteína é produzida exclusivamente pelos FMA e possivelmente a contaminação determinou esse resultado, porque em solução ácida os cátions metálicos são liberados para o solo e estes podem estar ligados à glomalina. Além do mais, quando o fungo está associado ao hospedeiro os metais (Cu, Pb, Cd, Mn, Zn e Fé) ligados à glomalina, não passando o metal para a planta (Wright & Upadhyaya, 1998; Gonzalez-Chavez et al., 2004).

A inoculação com *Glomus claroideum* ou com uma mistura de fungos nativos aumentou a concentração de glomalina, a percentagem de agregados, melhorou a estrutura do solo e viabilizou o desenvolvimento das plantas estudadas por Caravaca et al. (2005), reforçando a importância dos fungos no solo.

Tabela 4. Medias da produção de glomalina (mg prot. g solo⁻¹) e da atividade da desidrogenase (µg TTC. g solo⁻¹) para os tratamentos antes do cultivo (com e sem contaminação), e após cultivo (com e sem contaminação e com e sem micorriza)

Tratamentos	Atividade microbiana	
	Glomalina	Desidrogenase
Antes SC	0,406 A	0,259 A
Após SC + M	0,121 B	0,036 B
Após SC + SM	0,266 B	0,125 B
Antes CC	0,082 B	0,242 A
Após CC + M	0,111 B	0,065 B
Após CC + SM	0,087 B	0,035 B

SC- sem contaminação; CC- com contaminação; M- com micorriza; SM – sem micorriza.

Médias seguidas da mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5%

A atividade da desidrogenase (Tabela 4) diminuiu significativamente após o cultivo em todos os tratamentos, talvez porque o solo foi autoclavado antes da inoculação com os FMA, o que reduziu a atividade enzimática, que não foi recuperada no espaço de tempo do experimento, mesmo nos tratamentos onde o FMA foi inoculado. Portanto, a avaliação da atividade da desidrogenase não foi útil como parâmetro de avaliação devido a esterilização do solo, sendo mais precisa para a avaliação em campo.

A atividade da fosfatase ácida (Tabela 5) foi o melhor parâmetro para medir a qualidade do solo, pois aumentou significativamente após o cultivo dos hospedeiros, em alguns tratamentos. Plantas micorrizadas de jurema no solo sem contaminação e de pau-ferro nos dois tratamentos de solo.

A importância da atividade da fosfatase para os solos está na hidrólise dos compostos de fósforo, de orgânico para inorgânico, disponibilizando a forma assimilável para as plantas. Segundo Baum et al. (2003) a alta atividade da fosfatase ácida pode ser uma reação das plantas e microrganismos à ausência de fósforo biodisponível e ao baixo conteúdo de fósforo total ou do

disponível. García et al. (2000) observaram que os valores da fosfatase em solos degradados equivalem à quarta parte do encontrado em solos que não sofreram ação antrópica, e a presença de vegetação pode estimular a produção desta enzima.

Tabela 5. Médias da atividade da fosfatase ácida ($\mu\text{g p-np. g solo}^{-1}$) e da biomassa microbiana ($\mu\text{g C. g solo}^{-1}$) para as três espécies de plantas nos tratamentos antes do cultivo (com e sem contaminação), e após cultivo (com e sem contaminação e com e sem micorriza)

Planta	Tratamentos	Atividade microbiana	
		Fosfatase ácida	Biomassa microbiana
Jurema	Antes SC	1,034 B	321,72 A
	Após SC + M	4,048 A	61,33 B
	Após SC + SM	1,672 B	96,38 B
	Antes CC	1,404 B	161,79 AB
	Após CC + M	2,437 AB	70,09 B
	Após CC + SM	1,152 B	148,85 AB
Mulungu	Antes SC	1,034 A	321,72 A
	Após SC + M	0,734 A	78,73 B
	Após SC + SM	0,846 A	108,68 B
	Antes CC	1,404 A	161,79 AB
	Após CC + M	1,574 A	26,24 B
	Após CC + SM	0,878 A	149,72 AB
Pau-ferro	Antes SC	1,034 D	321,72 A
	Após SC + M	5,737 A	70,43 B
	Após SC + SM	2,547 CD	344,43 A
	Antes CC	1,404 D	161,79 AB
	Após CC + M	5,029 AB	99,76 B
	Após CC + SM	3,556 BC	344,43 A

SC- sem contaminação; CC- com contaminação; M- com micorriza; SM – sem micorriza.

Médias seguidas da mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5%

O carbono da biomassa microbiana (Tabela 5) apresentou maiores valores no solo antes do cultivo e sem contaminação, provavelmente devido à esterilização dos solos usados nos experimentos o que demonstra que o método não é efetivo para trabalhos onde o solo necessite

ser esterilizado. Além disso, é possível que três meses não sejam suficientes para que a microbiota do solo seja recuperada ou re-estabelecida.

Uma das principais limitações na interpretação das análises das propriedades do solo, incluindo a atividade enzimática, é que não é possível generalizar os resultados obtidos em solos com propriedades e características diferentes (Gianfreda et al., 2005). O carbono da biomassa, a respiração basal e a atividade enzimática são estimativas da qualidade do solo mais efetivas que a matéria orgânica, já que as primeiras respondem mais rapidamente e sensivelmente aos problemas do solo (García et al., 2000). No entanto, neste trabalho, a atividade da fosfatase ácida foi o parâmetro bioquímico com melhores respostas para as características do solo e o tipo de experimento desenvolvido.

CONCLUSÕES

- Várias espécies de FMA parecem ser resistentes à contaminação do solo por chumbo, embora a colonização dos hospedeiros seja inibida;
- Os FMA não se mostraram efetivos em promover o crescimento das plantas no solo contaminado por chumbo;
- Os valores do carbono da biomassa microbiana e da atividade da desidrogenase diminuem com a esterilização do solo, cuja microbiota não se recupera efetivamente em curto espaço de tempo.
- A atividade da fosfatase é estimulada pelo cultivo de plantas micorrizadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas), NBR 10005 – Lixiviação de resíduos. Fórum Nacional de Normalização. 10 p., 1987.

ANDRADE, S. A. L.; ABREU, C. A.; ABREU, M. F.; SILVEIRA, A. P. D. Interação de chumbo, da saturação por bases e de micorriza arbuscular no crescimento e nutrição mineral da soja. *R. Bras. Ci. Solo*, 27:945-954, 2003.

ANDRADE, S. A. L.; SILVEIRA, A. P. D. Biomassa e atividade microbianas do solo sob influência de chumbo e da rizosfera da soja micorrizada. *Pesq. Agropec. Bras.*, 39(12):1191-1198, 2004.

AZEVEDO, A. C.; DALMOLIN, R. S. D.; PEDRON, F. A. *Solos & Ambiente*. 1º ed. Santa Maria, RS: Gráfica Editorial Pallotti, 2004. 167p.

BAUM, C.; LEINWEBER, P.; SCHLICHTING, A. Effects of chemical conditions in re-wetted peats on temporal variation in microbial biomass and acid-phosphatase activity within the growing season. *Appl. Soil Ecol.*, 22:167-174, 2003.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of micrograms quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72:248-254, 1976.

CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Comportamento de espécies herbáceas em misturas de solos com diferentes graus de contaminação de metais pesados. *Pesq. Agropec. Bras.*, 37(11):1629-1638, 2002.

CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Estabelecimento de plantas herbáceas em solo com contaminação de metais pesados e inoculação de fungos micorrízicos arbusculares. *Pesq. Agropec. Bras.*, 36(12):1443-1452, 2001.

CARAVACA, F.; ALGUACIL, M.M.; BAREA, J. M.; ROLDÁN, A. Survival of inocula and native AM fungi species associated with shrubs in a degraded Mediterranean ecosystem. *Soil Biol. & Biochem.*, 37:227-233, 2005.

CASIDA Jr., L. E.; KLEIN, D. A.; SANTORO, T. Soil dehydrogenase activity. *Soil Sci.*, 98:371-376, 1964.

DE VAL C.; BAREA, J. M.; AZCÓN-AGUILAR, C. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungus populations in heavy-metal-contaminated soils. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65(2):718-723, 1999.

ENKHTUYA, B.; RYDLOVÁ, J.; VOSÁTKA, M. Effectiveness of indigenous and non-indigenous isolates of arbuscular mycorrhizal fungi in soils from degraded ecosystems and man-made habitats. *Appl. Soil Ecol.*, 14:201-211, 2000.

Gattai, G. S. Efeito dos fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento de espécies arbustivas...

ERNST, W. H. O. Bioavailability of heavy metals and decontamination of soils by plants. Appl. Geochem., 11:163-167, 1996.

GARCÍA, C.; HERNÁNDEZ, T. Biological and Biochemical indicators in derelict soils subject to erosion. Soil Biol. & Biochem., 29(2):171-177, 1997.

GARCÍA, C.; HERNÁNDEZ, T.; PASCUAL, J.; MORENO, J. L.; ROS, M. Actividad microbiana en suelo del sureste español sometidos a procesos de degradación y desertificación. Estrategias para su rehabilitación. In: GARCÍA, C.; HERNÁNDEZ, T. (Ed.). Investigación y Perspectivas de la Enzimología de Suelo en España. 1º edição. CSIC: Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura, 2000. p.43-143.

GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. Trans. Br. Mycol. Soc., 46:235-244, 1963.

GIANFREDA, L.; RAO, M. A.; PIOTROWSKA, A.; PALUMBO, G.; COLOMBO, C. Soil enzyme activities as affected by anthropogenic alterations: intensive agricultural practices and organic pollution. Sci. Total Environ., 341:265-279, 2005.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. Na evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. The New Phytol., 84:489-500, 1980.

GONZÁLEZ-CHÁVEZ, M. C.; CARRILLO-GONZÁLEZ, R.; WRIGHT, S. F.; NICHOLS, K. A. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. Environ. Pollut., 130:317-323, 2004.

GRISI, B. M. Método químico de medição da respiração edáfica: alguns aspectos técnicos. Ciênc. e Cult., 30(1):82-88, 1978.

IZQUIERDO, I.; CARAVACA, F.; ALGUACIL, M. M.; HERNÁNDEZ, G.; ROLDAN, A. Use of microbiological indicators for evaluating success in soil restoration after revegetation of a mining area under subtropical conditions. Appl. Soil Ecol., 30:3-10, 2005.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. Plant Dis. Rep., 48: 692p, 1964.

JOERGENSEN, R. G. The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass:calibration of the k_{EC} value. Soil Biol. & Biochem., 28(1):25-31, 1996.

KLAUBERG-FILHO, O.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Fungos micorrízicos arbusculares em solos de área poluída com metais pesados. R. Bras. Ci. Solo, 26:125-134, 2002.

LEYVAL, C.; TURNAU, K.; HASELWANDTER, K. Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. Mycor., 7:139-153, 1997.

MORA, A. P.; ORTAGA-CALVO, J. J.; CABRERA, F.; MADEJÓN, E. Change in enzyme activities and microbial biomass after “in situ” remediation of heavy metal-contaminated soil. *Appl. Soil Ecol.*, 28:125-137, 2005.

NOGUEIRA, A. V. As micorrizas e o excesso de metais. In: SIQUEIRA, J. O. *Avanços em Fundamentos e Aplicação de Micorrizas*. Universidade Federal de Lavras, MG: Depto. Ciência do Solo & Depto. Ciência Florestais, 1996. p.135-174.

PHILLIPS, J.M. & HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assesment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 55(1):158-161, 1970.

RAO, A. V.; TAK, R. Growth of different tree species and their nutrient uptake in limestone mine spoil as influenced by arbuscular mycorrhizal (AM)-fungi in Indian arid zone. *J. Arid Environ.*, 51:113-119, 2002.

SCHENCK, N. C.; PÉREZ, Y. *Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi*. Synergistic Publish, Gainesville, 1990.

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

SIQUEIRA, J. O.; POUYU, E.; MOREIRA, F. M. Micorrizas arbusculares no crescimento pós-transplante de mudas de árvores em solo com excesso de metais pesados. *R. Bras. Ci. Solo*, 23:569-580, 1999.

SOUZA, R. G.; MAIA, L. C.; SALES, M. F.; TRUFEM, S. F. B. Diversidade e potencial de infectividade de fungos micorrízicos arbusculares em área de caatinga, na Região de Xingo, Estado de Alagoas, Brasil. *R. Brás. Bot.*, 26(1):49-60, 2003.

TABATABAI, M. A.; BREMNER, J. M. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol. & Biochem.*, 1:301-307, 1969.

TRASAR-CEPEDA, C.; LEIRÓS, M. C.; SEOANE, S.; GIL-SOTRES, F. Limitations of soil enzymes as indicators of soil pollution. *Soil Biol. & Biochem.*, 32:1867-1875, 2000.

WEISSENHORN, I.; LEYVAL, C.; BERTHELIN, J. Cd-tolerant arbuscular mycorrhizal (AM) fungi from heavy-metal polluted soils. *Plant and Soil*. 157:247-256, 1993.

WRIGHT, S. F.; UPADHYAYA, A. A survey of soils for aggregate stability and glomalina, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, 198:97-107, 1998.

VANCE, E. D.; BROOKES, P. C.; JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol. & Biochem.*, 19:703-707, 1987.

Gattai, G. S. Efeito dos fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento de espécies arbustivas...

VISSER, S.; PARKINSON, D. Soil biological criteria as indicators of soil quality: soil microorganisms. *Am. J. Alternative Agr.*, 7:33-37, 1992.

CONCLUSÕES GERAIS

- O carbono da biomassa microbiana e a respiração do solo são estimulados durante o período das chuvas e refletem o estresse do solo durante o período seco.
- A esterilização do solo diminui os valores do carbono da biomassa microbiana e da atividade da desidrogenase.
- A atividade da fosfatase ácida é estimulada pelo cultivo de plantas micorrizadas.
- Os esporos de fungos micorrízicos arbusculares coletados do solo no período chuvoso possuem um maior potencial infectivos do que os coletados durante o período seco.
- O aumento da contaminação do solo pelo chumbo inibe a colonização dos hospedeiros, apesar de várias espécies de FMA parecem ser resistentes à contaminação.
- Os FMA não se mostraram efetivos em promover o crescimento das plantas no solo contaminado por chumbo.
- Entre as plantas testadas, mulungu foi a única espécie vegetal que apresentou diferença significativa no solo contaminado com metais pesados.

ANEXOS



INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Objetivos

A revista Pesquisa Agropecuária Brasileira é uma publicação mensal da Embrapa, que edita e publica trabalhos técnico-científicos originais, em português, espanhol ou inglês, resultantes de pesquisas de interesse agropecuário. A principal forma de contribuição é o Artigo, mas a PAB também publica Notas Científicas, Novas Cultivares e Revisões a convite do Editor.

Submissão

Os originais submetidos à publicação devem ser enviados por via eletrônica (pab@sct.embrapa.br) acompanhada de mensagem com os seguintes dados: nome, formação profissional, grau acadêmico e endereço institucional e eletrônico dos autores; indicação do autor-correspondente; declaração de não-submissão do trabalho à publicação em outro periódico. Cada autor deve enviar mensagem expressando sua concordância com a submissão do artigo. Os manuscritos podem também ser encaminhados pelos correios, para o seguinte endereço:

Embrapa Informação Tecnológica
Pesquisa Agropecuária Brasileira – PAB
Caixa Postal 040315
70770-910 Brasília, DF

Apresentação

- O artigo científico deve ser digitado em Word, espaço duplo, Times New Roman, corpo 12, folha formatado A4, com páginas e linhas numeradas.
- As figuras, na forma de gráficos, devem ser apresentadas no final do texto, em Excel ou Word.
- As figuras, na forma de fotografias, imagens ou desenhos, com 8,5 cm ou 17,5 cm de largura, devem ser escaneadas com 300 dpi e gravadas, separadas do texto, em arquivos TIF.
- As tabelas devem ser apresentadas em Word, no final do texto, somente com linhas horizontais; os dados devem ser digitalizados em fonte Times New Roman.

Estrutura e organização

O artigo, com no máximo 20 páginas, deve ser apresentado na seguinte sequência: título, nome completo dos autores, endereços institucionais e eletrônicos, Resumo, Termos para indexação, Título em inglês, Abstract, Index terms, Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusões, Agradecimentos, Referências, Tabelas e Figuras.

Título: 15 palavras no máximo, em letras minúsculas.

Autores: nomes completos, com chamada para nota de endereços; autores de uma mesma instituição devem ter a mesma nota de endereço.

Notas de endereço: endereços institucionais e eletrônicos dos autores.

Resumo: máximo de 200 palavras; Abstract deve ser tradução fiel do Resumo.

Termos para indexação: mínimo três e máximo seis.

Conclusões: frases curtas, com o verbo no presente do indicativo, sem comentários adicionais, e elaboradas com base nos objetivos do artigo.

Citações: não são aceitas citações de dados não publicados, comunicação pessoal, resumos e publicações no prelo.

Referências: de acordo com a NBR 6023 da ABNT; em ordem alfabética dos nomes dos autores; principalmente dos últimos dez anos e de artigos de periódicos. Exemplos:

Eventos (considerados em parte)

ALBUQUERQUE, F.C.; DUARTE, M.L.R.; NUNES, A.M.L.; STEIN, R.L.B.; OLIVEIRA, R.P. Comportamento de germoplasma de pimenta-do-reino em áreas de ocorrência de fusariose no Estado do Pará. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE PIMENTA E CUPAÇU, 1., 1996, Belém. **Anais**. Belém: Embrapa-CPATU; JICA, 1997. p.269-276. (Embrapa-CPATU. Documentos, 89).

Artigos de periódicos

BAK, P.; TANG, C.; WIESENFELD, K. self-organized criticality. **Physical review A**, v.38, p.364-374, 1998.

Capítulos de livros

DIAS-FILHO, M.B. Pastagemns cultivadas na Amazônia oriental brasileira: processos e causas de degradação e estratégias de recuperação. In: DIAS, L.E.; MELLO, J.W.V. (Ed.). **Recuperação de áreas degradadas**. Viçosa: UFV; Sociedade Brasileira de Recuperação de Áreas Degradadas, 1998. p.135-147.

Livros

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análises genéticas**. 3.ed. Brasília: Embrapa-Cenargen, 1998. 220p.

Teses e dissertações

MACHADO, C.A.E. **Padrões isoenzimáticos de superóxidos dismutase de alguns genótipos de pessegueiro *Prunus pérsica* (L.) Batsch**. 1984. 36p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Outras informações

- Todos os manuscritos são revisados por no mínimo dois especialistas.
- O editor e a assessoria científica reservam-se o direito de solicitar modificações nos artigos e de decidir sobre a sua publicação.
- São de exclusiva responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos.
- Os trabalhos aceitos não podem ser reproduzidos, mesmo parcialmente, sem o consentimento expresso do editor da PAB.
- **Contatos com a secretaria da revista podem ser feitos por telefone: (61) 448-4231 e 273-9616, fax: (61) 340-5483 ou e-mail: pab@sct.embrapa.br.**



ISSN 0100-0683 *versão
impressa*

ISSN 1806-9657 *versão online*

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

- [Escopo e política](#)
- [Forma e preparação de manuscritos](#)
- [Envio de manuscritos](#)

Escopo e política

A **Revista Brasileira de Ciência do Solo** é um periódico de divulgação científica publicado pela Sociedade Brasileira de Ciência do Solo (SBCS).

Os trabalhos submetidos à publicação **somente poderão ser enviados por correio eletrônico, acessando o site www.sbcs.org.br** (E-mail: autores@sbcs.org.br), **e não mais em papel**, e nas seguintes formas:

Artigos ou notas científicas.

Revisões de literatura sobre tema específico, **a convite da Comissão Editorial.**

Cartas ao Editor de, no máximo, quatro páginas digitadas em espaço duplo, contendo um dos seguintes temas: (a) Comunicação de matéria diretamente ligada à Ciência do Solo; (b) Comentário crítico de trabalhos publicados na **Revista Brasileira de Ciência do Solo**.

Só serão aceitos trabalhos escritos em português ou inglês, depois de revistos e aprovados pela Comissão Editorial, e que não foram publicados e não submetidos à publicação em outro veículo. Excetuam-se, nesta última limitação, os apresentados em congressos, em forma de resumo. **O autor que encaminhar o trabalho deverá se responsabilizar pelos demais autores, quando houver, como co-responsáveis pelo conteúdo científico do trabalho.**

Os trabalhos subdivididos em partes I, II..., devem ser enviados juntos, pois serão submetidos aos mesmos revisores.

Forma e preparação de manuscritos

Solicita-se observar as seguintes instruções para o preparo dos artigos e notas científicas:

1. O original deve ser encaminhado completo e revisto.
2. Deve ser enviado digitado em espaço 1,5, utilizando fonte **"Times New Roman 12"**, formato A4, **enumerando-se todas as páginas e as linhas do texto.**
3. O trabalho deve ser o mais claro e conciso possível. Somente em casos especiais serão aceitos trabalhos com número de páginas de texto superior a quinze.
4. **Os artigos, notas e revisões** deverão ser iniciados com o título do trabalho e, logo abaixo, sobrenomes dos autores precedidos das iniciais dos pré-nomes, todos em maiúscula. Como chamada de rodapé referente ao título, deve-se usar número-índice que poderá indicar se foi trabalho extraído de tese, ou apresentado em congresso, entidades financiadoras do projeto e, necessariamente, a data (Recebido para publicação em / /) em que o trabalho foi recebido para publicação. O cargo, o local de trabalho dos autores [endereço postal e, se possível, eletrônico (E-mail)], deverão ser inseridos também no rodapé, em numeração consecutiva de chamada de números-índices colocados logo após o nome de cada autor. A condição de bolsista poderá ser incluída.
5. Os artigos deverão ser divididos, sempre que possível, em seções com cabeçalho, na seguinte ordem: **RESUMO, SUMMARY** (precedido da tradução do título para o inglês), **INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES, AGRADECIMENTOS e LITERATURA CITADA.** Não há necessidade dessa subdivisão para os artigos sobre educação, revisões de literatura e notas científicas, embora devam ter, obrigatoriamente, **RESUMO e SUMMARY.**

Tais seções devem ser constituídas de:

- 5.1. **TÍTULO** do trabalho que deve ser conciso e indicar o seu conteúdo.
- 5.2. **RESUMO** que deve apresentar, objetivamente, **uma breve frase introdutória, que justifique o trabalho**, o que foi feito e estudado, os mais importantes resultados e conclusões. Será seguido da indicação dos termos de indexação, diferentes daqueles constantes do título. A tradução do **RESUMO** para o inglês constituirá o **SUMMARY.**
- 5.3. **INTRODUÇÃO** que deve ser breve, esclarecendo o tipo de problema abordado ou a(s) hipótese(s) de trabalho, com citação da bibliografia específica e finalizar com a indicação do objetivo do trabalho.
- 5.4. **MATERIAL E MÉTODOS** em que devem ser reunidas informações necessárias e suficientes que possibilitem a repetição do trabalho por outros pesquisadores.

5.5. **RESULTADOS** que devem conter uma apresentação concisa dos dados obtidos. Quadros ou figuras devem ser preparados sem dados supérfluos.

5.6. **DISCUSSÃO** que deve conter os resultados analisados, levando em conta a literatura, mas sem introdução de novos dados.

5.7. **CONCLUSÕES** que devem basear-se somente nos dados apresentados no trabalho e deverão ser numeradas.

5.8. **AGRADECIMENTOS** devem ser sucintos e não aparecer no texto ou em notas de rodapé.

5.9. **LITERATURA CITADA**, incluindo trabalhos citados no texto, quadro(s) ou figura(s) e inserida em ordem alfabética e da seguinte forma:

a. **Periódicos**: Nome de todos os autores, Título do artigo. Título abreviado do periódico, volume: páginas inicial e final, ano de publicação. Exemplo:

FONSECA, J.A. & MEURER, E.J. Inibição da absorção de magnésio pelo potássio em plântulas de milho em solução nutritiva. R. Bras. Ci. Solo, 21:47-50, 1997.

b. **Livro**: Autores. Título da publicação. Número da edição. Local, Editora, ano de publicação. Número de páginas. Exemplo:

KONHNKE, H. Soil physics. 2.ed. New York, MacGraw Hill, 1969. 224p.

c. **Participação em obra coletiva**: Autores. Título da parte referenciada seguida de In: Nome do editor. Título da publicação, número da edição. Local de Publicação, Editora, ano. Páginas inicial e final. Exemplos:

- *Capítulo de livro*:

JACKSON, M.L. Chemical composition of soil. In: BEAR, F.E., ed. Chemistry of the soil. 2.ed. New York, Reinhold, 1964. p.71-141.

d. **Trabalho em Anais**:

VETTORI, L. Ferro "livre" por cálculo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 15., Campinas, 1975. Anais. Campinas, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1976. p.127-128.

e. **CD-ROM**:

SILVA, M.L.N.; FREITAS, P.L.; BLANCANEUX, P. & CURI, N. Índice de erosividade de chuva da região de Goiânia (GO). In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DO SOLO. 13., 1996. Anais. Águas de Lindóia, EMBRAPA, 1996. CD-ROM

f. **Internet**:

EL NIÑO and La Niña. Disponível em:
<http://www.stormfax.com/el_nino.htm>. Acesso em 15 out.

2000.

As abreviações de nome de revistas devem ser feitas de acordo com as usadas pelos "abstracting journals", como dos Commonwealth Agricultural Bureaux.

6. As Referências no texto deverão ser feitas na forma: Silva & Smith (1975) ou (Silva & Smith, 1975). Quando houver mais de dois autores, usar a forma reduzida: (Souza et al., 1975). Referências a dois ou mais artigos do(s) mesmo(s) autor(es), no mesmo ano, serão discriminadas com letras minúsculas (Ex.: Silva, 1975a,b).

7. Os quadros deverão ser numerados com algarismos arábicos, sempre providos de um título claro e conciso e construídos de modo a serem auto-explicativos. Não usar linhas verticais. As linhas horizontais devem aparecer para separar o título do cabeçalho e este do conteúdo, além de uma ao final do quadro. O quadro deve ser feito por meio de uma tabela (MICROSOFT WORD/TABELA/INSERIR TABELA), no qual cada valor deve ser digitado em células distintas, estando centralizado e alinhado.

8. Os gráficos deverão ser preparados, utilizando-se "Softwares" compatíveis com "Microsoft Windows" ("Excel", "Power Point", "Sigma Plot", etc.). Não serão aceitas figuras que repitam

Envio de manuscritos

Os trabalhos submetidos à publicação **somente poderão ser enviados por correio eletrônico, acessando o site www.sbcs.org.br** (E-mail: autores@sbcs.org.br), e não mais em papel

[[Home](#)] [[Sobre esta revista](#)] [[Corpo editorial](#)] [[Assinaturas](#)]

© 2003 Sociedade Brasileira de Ciência do Solo

Secretaria Executiva
Caixa Postal 231
36570-000 Viçosa - MG
Tel./Fax: +55 31 3899 2471