

Ana Cristiane Queiroz Santos

**METAIS PESADOS EM SOLOS: SELEÇÃO DE ESPÉCIES ACUMULADORAS,
COMPETIÇÃO ENTRE ELEMENTOS E USO DE SILÍCIO NA FITOEXTRAÇÃO
INDUZIDA**

Recife - PE

2006

Ana Cristiane Queiroz Santos

**METAIS PESADOS EM SOLOS: SELEÇÃO DE ESPÉCIES ACUMULADORAS,
COMPETIÇÃO ENTRE ELEMENTOS E USO DE SILÍCIO NA FITOEXTRAÇÃO
INDUZIDA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como exigência para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Adriana Maria de Aguiar Accioly, DS.

Recife - PE

2006

Ana Cristiane Queiroz Santos

Dissertação intitulada METAIS PESADOS EM SOLOS: SELEÇÃO DE ESPÉCIES ACUMULADORAS, COMPETIÇÃO ENTRE ELEMENTOS E USO DE SILÍCIO NA FITOEXTRAÇÃO INDUZIDA, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como exigência para obtenção do título de Mestre, e aprovada em 22 de fevereiro de 2006.

Adriana Maria de Aguiar Accioly, DS.
Presidente da Banca Examinadora
(Orientador)

Adailson Pereira de Souza, DS.
Examinador

Mateus Rosas Ribeiro Filho, DS.
Examinador

Maria Betânia Galvão dos Santos Freire, DS.
Examinador

“Deus dos Pais, Senhor de misericórdia, que tudo criaste com Tua palavra e com Tua Sabedoria formaste o homem para dominar as criaturas que fizeste, governar o mundo com justiça e santidade e exercer o julgamento com retidão de vida, dá-me a Sabedoria Contigo entronizada e não me excludas do número de Teus filhos. Pois sou Teu servo, filho de Tua serva, homem frágil, de vida efêmera, incapaz de compreender a justiça e as leis. Por mais perfeito que seja alguém entre os filhos dos homens, se lhe falta a Sabedoria que vem de Ti, de nada valerá.

Dos céus sagrados, envia-a, manda-a de Teu trono de glória para que me assista nos trabalhos, ensinando-me o que de fato Te agrada.”

Sabedoria 9, 1-6.10

“...pois o Todo Poderoso fez grandes coisas em meu favor.”

Lucas 1, 49

Aos meus pais, Maria do Socorro Queiroz Santos e José Esperidião Santos
Filho e ao meu noivo, Tarcísio Sá.
Dedico.

AGRADECIMENTOS

Antes e acima de tudo, a Deus, pelas graças derramadas e por toda a condução na minha vida, por todas as experiências que Ele me permite vivenciar e a Nossa Senhora, por seu poderoso auxílio e intercessão.

Aos meus pais, pelo amor, pelo respeito e pelo apoio em todas as decisões importantes da minha vida. Pela paciência nos momentos de tensão, pela ajuda nos períodos de trabalho, pela oração em todos os instantes de minha vida.

Ao meu noivo, pelo amor, paciência e compreensão durante as ausências. Por ele ser quem ele é e pelo que representa pra mim.

Aos meus amigos que não fazem parte do programa de Pós-graduação, mas que fazem parte da minha história, que contribuem para meu crescimento, que tornam a minha vida mais alegre e mais colorida, que se alegram comigo nas minhas vitórias.

Aos meus orientadores, a doutora Adriana M. A. Accioly e o professor Clístenes W. A. Nascimento, pelo voto de confiança a uma profissional que não é agrônoma, pela orientação madura e profissional durante a concepção, condução e conclusão do trabalho, e principalmente, pela paciência ao longo de nosso convívio.

Aos companheiros do programa, em especial a Évio, pela amizade, pela ajuda em todos os trabalhos, nas análises, nas preocupações, nas orações, e a Karina, pelo auxílio na novidade das análises de Si.

Aos professores do programa, pela contribuição valiosa com seus conhecimentos, em especial a professora Betânia, pela competência e pela pessoa que é. Aos membros da banca examinadora pelas sugestões de melhoria deste trabalho e pelo que agregaram à minha formação acadêmica.

Aos funcionários do departamento, Socorro e “seu” Noca, pela amizade e ajuda. Pela atenção, pela boa vontade, pela disponibilidade.

A todos, meu coração grato.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS	6
CAPÍTULO 1: TOLERÂNCIA E ACUMULAÇÃO DE METAIS EM PLANTAS CULTIVADAS EM SOLO CONTAMINADO.....	9
RESUMO	9
SUMMARY	9
INTRODUÇÃO	10
MATERIAL E MÉTODOS.....	12
RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
Produção de Matéria Seca.....	14
Teores de Cd, Cu, Zn e Pb nas plantas	17
CONCLUSÕES	21
REFERÊNCIAS	22
CAPÍTULO 2: COMPETIÇÃO DE METAIS NA DISTRIBUIÇÃO DE Cd, Zn E Pb ENTRE FRAÇÕES DO SOLO E NO ACÚMULO EM MUCUNA PRETA (<i>Mucuna aterrina</i>).....	25
RESUMO	25
SUMMARY	25
INTRODUÇÃO	26
MATERIAL E MÉTODOS.....	29
RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
Teores de Metais no Solo	31
Produção de Matéria Seca.....	33
Acúmulo de Metais nas Plantas.....	35
CONCLUSÕES	38
REFERÊNCIAS	39
CAPÍTULO 3: TOLERÂNCIA E ACUMULAÇÃO DE Pb E Zn EM MUCUNA APÓS APLICAÇÃO DE SILICATO E ÁCIDO CÍTRICO.....	43
RESUMO	43
SUMMARY	43
INTRODUÇÃO	44
RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
Produção de Matéria Seca.....	52

CONCLUSÕES	57
REFERÊNCIAS	58

INTRODUÇÃO GERAL

No decorrer dos últimos anos, o crescimento populacional e o desenvolvimento de atividades econômicas como a mineração, a industrialização e as práticas agrícolas têm contribuído para a degradação do ambiente (ACCIOLY e SIQUEIRA, 2000), sendo responsáveis pela introdução de contaminantes em solos. No Brasil, o aumento das exigências da sociedade, bem como a elaboração de leis mais rígidas, têm tornado necessário o desenvolvimento de tecnologias eficientes e de baixo custo, não somente para remediar áreas contaminadas, mas também para evitar a contaminação (PLETSCH et al., 1999).

Diferentes substâncias e elementos podem contaminar o solo, dentre estes, metais pesados. Por metal pesado entende-se o elemento cuja densidade atômica é maior que 6 g cm^{-3} (ALLOWAY, 1990). Alguns metais pesados, como Fe, Mn, Zn, Cu e Mo são essenciais para o crescimento das plantas, enquanto outros como Pb, Cd, Hg e Cr não o são. Estes elementos, essenciais ou não, quando se encontram em concentrações elevadas nos tecidos vegetais provocam efeitos deletérios (PUNZ e SIEGHARDT, 1993).

Solos contaminados por metais pesados podem ser remediados através da utilização de plantas que removem poluentes do ambiente ou os transformam em formas menos tóxicas (RASKIN et al., 1997). Esta técnica é conhecida como fitorremediação. Os custos envolvidos na implantação de fitorremediação são variáveis (CUNNINGHAM et al., 1995), mas menores do que aqueles relacionados com outras tecnologias de remoção de metais pesados do solo. Além disso, é uma alternativa ambientalmente adequada por não ser destrutiva (MEAGHER, 2000) e por gerar um volume de resíduos tóxicos bastante inferior aos produzidos por outros métodos de remediação (RASKIN et al., 1997). Estas vantagens tornam a fitorremediação uma alternativa promissora para descontaminação de solos poluídos por metais pesados (CHANEY et al., 1997).

Os mecanismos envolvidos nos processos de remoção ou degradação de poluentes no solo por plantas variam em função do tipo de contaminante e da extensão da contaminação. A fitorremediação compreende a fitoextração (remoção dos contaminantes do solo), a fitovolatilização (transformação dos contaminantes em formas voláteis), a fitodegradação (os contaminantes são convertidos em formas não tóxicas), a fitoestabilização (conversão dos contaminantes em formas menos tóxicas, mas sem remoção destes do solo) e a fitoestimulação (estímulo da atividade da microbiota do solo pela planta) (ACCIOLY e SIQUEIRA, 2000).

Fitoextração é a absorção de contaminantes, particularmente metais tóxicos e radionuclídeos, pelas raízes e sua translocação na planta (FLATHMAN e LANZA, 1998). Sua eficiência é determinada basicamente por dois fatores: produção de biomassa e fator de bioconcentração. O fator de bioconcentração, definido como a razão entre a concentração do metal na planta e a concentração do metal no solo, reflete a capacidade da planta de retirar e translocar o elemento das raízes para a parte aérea (McGRATH e ZHAO, 2003). De acordo com esses autores, a maioria das plantas apresenta fator de bioconcentração menor que 1 (um), o que torna a fitoextração com estas espécies impraticável. No caso das plantas hiperacumuladoras, o fator de bioconcentração é maior que a unidade. Estas plantas extraem os contaminantes do solo, os translocam das raízes para parte aérea e acumulam em seus tecidos concentrações de elementos tóxicos cerca de 10 a 500 vezes maiores do que espécies que não são hiperacumuladoras (CHANEY et al., 1997, FITZ e WENZEL, 2002).

Segundo Cunningham et al. (1995), existem algumas limitações na utilização de plantas hiperacumuladoras na remediação de solos contaminados. Normalmente, estas plantas acumulam apenas um elemento, e em sua maioria apresentam crescimento lento e pequena produção de biomassa.

Na fitoextração, deve-se considerar ainda os processos fisiológicos relacionados com o transporte de metais na planta. O transporte de metais através da membrana celular é o processo que inicia a absorção pelos tecidos vegetais (LASAT, 2002). Entretanto, este transporte não ocorre de forma totalmente livre por causa da ação das cargas elétricas da parede celular. Estas cargas negativas são geradas pela dissociação de H^+ de grupos carboxílicos (MARSCHNER, 1995).

A retenção de metais no apoplasto é descrita como uma das estratégias de tolerância de plantas a metais pesados. De acordo com Punz e Sieghardt (1993), as plantas desenvolvem diversas estratégias quando se encontram sob estresse desses elementos tóxicos. Uma das estratégias que estes autores descrevem é a exclusão, na qual ocorre uma diminuição da atividade da ATPase. Como esta enzima é responsável pelo funcionamento das bombas de prótons, a diminuição da sua atividade reduz a entrada no citoplasma de cátions.

No interior da planta, Punz e Sieghardt (1993) também descrevem ligações entre os metais com diferentes compostos orgânicos como forma de imobilizar estes elementos e evitar seus efeitos fitotóxicos. Dentre estes compostos, pode-se destacar as fitoquelatinas e as metalotioninas, proteínas que formam complexos com os metais. De acordo com Cobbett e Goldsbrough (2002), os complexos formados pela fitoquelatina e o metal são seqüestrados pelo vacúolo.

Segundo Nascimento e Xing (2006), os mecanismos de tolerância internos são de maior interesse para a fitoextração, uma vez que este processo permite a acumulação de metais na parte aérea. Ainda de acordo com estes autores, os mecanismos de tolerância interna mais significantes são a compartimentalização vacuolar e a quelatção no citoplasma.

Em face das limitações apresentadas pelas hiperacumuladoras, especialmente a baixa produção de biomassa, torna-se necessário buscar novas espécies que viabilizem a fitoextração. Uma opção é lançar mão de práticas que promovam o aumento de produção de biomassa associado à aplicação de agentes quelantes. Mesmo que as espécies utilizadas não sejam hiperacumuladoras, a remoção de metais pode ser tão ou mais eficiente utilizando-se outras espécies não hiperacumuladoras associadas à utilização de agentes quelantes (fitoextração induzida). Por fitoextração induzida entende-se o uso de agentes quelantes para aumentar a absorção e a translocação de metais nas plantas (FITZ e WENZEL, 2002).

A redução da adsorção de Pb e Cd em solos tratados com ácido cítrico foi atribuída à diminuição do pH (CHEN et al., 2003). A adição de EDTA e H-EDTA aumentou a translocação de Pb em *Pinus radiata*, parecendo haver superação de barreiras à translocação (JARVIS e LEUNG, 2002). De acordo com estes autores, o Pb quelatado com EDTA e H-EDTA apareceu em quantidades significativas nos tecidos vegetais, destacando-se o EDTA como mais eficiente no aumento da solubilidade do Pb. Lai e Chen (2004) observaram que a adição de EDTA aumentou a translocação de Cd, Zn e Pb em *Dianthus chinensis*. Jiang et al. (2003) observaram que a adição de EDTA aumentou a solubilidade de Cd no solo e pareceu estimular a translocação desse elemento em *Brassica juncea*.

Apesar das vantagens do uso de ácidos orgânicos na fitoextração, existe o risco de lixiviação de metais pesados. Diversos trabalhos (JIANG et al., 2003; LAI e CHEN, 2003; WU et al., 2004) têm demonstrado que a adição de quelantes, como o EDTA reduz a adsorção e aumenta a concentração de íons metálicos na solução do solo. Este aumento de disponibilidade maior que a absorção de metais pelas plantas pode provocar, através da lixiviação, contaminação de camadas do solo mais profundas e de águas subterrâneas. A lixiviação dos metais está também relacionada com o tempo de permanência dos complexos formados no solo. Ácidos que são degradados mais lentamente permanecem mais tempo no solo e esta permanência aumenta os riscos de lixiviação (MEERS et al., 2004). Estes autores propõem como alternativa aplicar ácidos mais facilmente degradáveis. Entretanto, a rápida degradação de ácidos de baixo peso molecular torna necessária a reaplicação para manter a disponibilidade dos metais. Krishnamurti et al. (1997) observaram readsorção de Cd após a degradação de ácido cítrico.

Além de aumentar a disponibilidade dos metais para absorção pelas plantas pelo uso de agentes quelantes, garantir a produção de biomassa é premissa para uma fitoextração eficiente. Adicionar corretivos inorgânicos e compostos orgânicos em solos contaminados é uma alternativa para evitar a redução do crescimento vegetal. Dentre diferentes amenizantes que podem ser utilizados em programas de revegetação de solos contaminados, pode-se destacar os silicatos. O Si é reconhecido como elemento benéfico para plantas superiores (MARSCHNER, 1995), e tem aumentado a tolerância a metais pesados como Cd e Zn (NEUMANN e NIEDEN, 2001; LIANG et al., 2005). A possibilidade de associar o uso de amenizantes para garantir o crescimento das plantas à aplicação de ácidos orgânicos pode ser uma estratégia para aumentar a eficiência da fitoextração.

Diversos trabalhos vêm sendo conduzidos e seus resultados têm apontado para fitoextração como uma alternativa eficiente e viável economicamente. Diante desses resultados promissores deve-se testar novas possibilidades, sempre no intuito de tornar esta técnica mais eficiente e viável para utilização em condições de campo.

REFERÊNCIAS

- ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. **Tópicos de Ciência do Solo**, Viçosa, v.1, p. 299-351, 2000.
- ALLOWAY, B. J. **Heavy metals in soils**. Glasgow: Blackie Academic and Professional, 1990. 339p.
- CHANEY, R. L. et al. Phytoremediation of soils metals. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v.8, p. 279-284, 1997.
- CHEN, Y. X. et al. The role of citric acid on the phytoremediation of heavy metals contaminated soil. **Chemosfere**, Oxford, v.50, p. 807-811, 2003.
- COBBETT, C.; GOLDSBROUGH, P. Phytochelatins and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis. **Annual Reviews of Plant Biology**, Palo Alto, v.53, p. 159-182, 2002.
- CUNNINGHAM, S. D.; BERTI, W. R.; HUANG, J. W. Phytoremediation of contaminated soils. **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, v.13, p. 393-397, 1995.
- FITZ, W. J.; WENZEL, W. W. Arsenic transformations in the soil-rhizosphere-plant system: fundamentals and potential application to phytoremediation. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v.99, p. 259-278, 2002.
- FLATHMAN, P. E.; LANZA, G. R. Phytoremediation: current views on an emerging green technology. **Journal of Soil Contamination**, Boca Raton, v.7, n.4, p. 415-432, 1998.
- JARVIS, M. D.; LEUNG, D. W. M. Chelated lead transport in *Pinus radiata*: an ultrastructural study. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v.48, p. 21-32, 2002.

JIANG, X. J. et al. Soil Cd availability to indian mustard and environmental risk following EDTA addition to Cd-contaminated soil. **Chemosphere**, Oxford, v.50, p. 813-818, 2003.

KRISHNAMURTI, G. S. R. et al . Kinetics of cadmium from soils as influenced by organic acids: implication in cadmium availability. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.26, p. 271-277, 1997.

LAI, H.; CHEN, Z. Effects of EDTA on solubility of cadmium, zinc and lead and their uptake by rainbow pink and vetiver grass. **Chemosphere**, Oxford, v.55, n.3, p. 421-430, 2004.

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

LIANG, Y.; WONG, J. W. C.; WEI, L. Silicon-mediated enhancement of cadmium tolerance in maize (*Zea mays* L.) grown in cadmium contaminated soil. **Chemosphere**, Oxford, v.58, p. 475-483, 2005.

McGRATH, S. P.; ZHAO, F. Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v.14, p. 277-282, 2003.

MARSCHNER, H. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2. ed. Cambridge: Academic Press, 1995. 902p.

MEAGHER, R. B. Phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v.3, p. 153-162, 2000.

MEERS, E. et al. Enhanced phytoextraction: in search of EDTA alternatives. **International Journal of Phytoremediation**, Philadelphia, v.6, n.2, p. 95-109, 2004

NASCIMENTO, C. W. A.; XING, B. Phytoaccumulations of metals in plants: from soils to shoots – a review. **Scientia Agricola**, 2006. No prelo.

NEUMANN, D.; zur NIEDEN, U. Silicon and heavy metal tolerance of higher plants. **Phytochemistry**, New York, v.56, p. 685-692, 2001.

PLETSCH, M.; CHARLWOOD, B. V.; ARAÚJO, B. S. Fitorremediação de águas e solos poluídos – o uso de culturas de raízes geneticamente transformadas como modelos experimentais. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, DF, v.11, p. 26-29, 1999.

PUNZ, W. F.; SIEGHARDT, H., The response of roots of herbaceous plant species to heavy metals. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v.33, n.1, p.85-98, 1993.

RASKIN, I.; SMITH R. D.; SALT, D. E. Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. **Current Opinion in Biology**, London, v. 8, p. 221-226, 1997.

WU, L. H. et al. EDTA enhanced phytoremediation of heavy metal contaminated soil with indian mustard and associated potential leaching risk. **Agriculture Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v.102, n.3, p. 307-3018, 2004.

CAPÍTULO 1: TOLERÂNCIA E ACUMULAÇÃO DE METAIS EM PLANTAS CULTIVADAS EM SOLO CONTAMINADO

RESUMO

A baixa produção de biomassa observada em plantas hiperacumuladoras de metais despertou a necessidade de buscar alternativas para tornar a fitoextração viável comercialmente. Selecionar espécies produtoras de grande quantidade de biomassa e que possam tolerar concentrações elevadas de metais pesados no solo tem sido uma opção em programas de fitoextração induzida. Este trabalho teve como objetivo avaliar 8 espécies (*Atriplex nummularia*, *Vigna unguiculata*, *Nicotiana tabacum*, *Gliricidia sepium*, *Helianthus annuus*, *Zea mays*, *Mucuna aterrina* e *Sorghum spp*) quanto à tolerância e acumulação de Cd, Cu, Zn e Pb, adicionados ao solo nas concentrações 20, 100, 150 e 150 mg kg⁻¹ respectivamente, visando estimar o potencial das plantas para utilização em fitoextração. Os resultados mostraram que a atriplex apresentou maior tolerância e a mucuna maior acúmulo de metais, sugerindo utilização de ambas em estudos futuros com fitoextração induzida.

SUMMARY

Most of hyperaccumulator species yield small biomass which poses a limitation for phytoextraction. Selecting high biomass plants that tolerate high heavy metal concentration has been an alternative. This study aimed to test heavy metal tolerance and accumulation of 8 species (*Atriplex nummularia*, *Vigna unguiculata*, *Nicotiana tabacum*, *Gliricidia sepium*, *Helianthus annuus*, *Zea mays*, *Mucuna aterrina* and *Sorghum spp*). Cadmium, Cu, Zn and Pb were added on soil at 20, 100, 150 and 150 mg kg⁻¹, respectively. The results showed highest tolerance in *Atriplex nummularia* and highest accumulation in *Mucuna aterrina*. This indicates that future research on chemically-assisted phytoextraction using these species is warranted.

INTRODUÇÃO

A poluição com metais é um problema global e o desenvolvimento de técnicas de fitorremediação de solos contaminados é de grande interesse (KRÄMER, 2005). Plantas podem ser uma alternativa para remediação de solos contaminados porque naturalmente absorvem elementos necessários ao seu desenvolvimento, e, pelas mesmas vias, metais pesados (CUNNINGHAM e OW, 1996). Ao longo da última década, muitos trabalhos têm apontado para a fitorremediação como técnica de recuperação de solos contaminados (CUNNINGHAM et al., 1995; CUNNINGHAM e OW, 1996; CHANEY et al., 1997; MEAGHER, 2000). Esta alternativa apresenta como principais vantagens a redução de custos e a possibilidade de recuperar extensas áreas contaminadas (CHANEY et al., 1997; MEAGHER, 2000). O resíduo gerado no processo de fitoextração (tecido vegetal) pode ser processado com segurança, sendo o volume de material tóxico produzido uma fração do que é gerado por outras técnicas de remediação (RASKIN et al., 1997).

Dentre as possibilidades de utilização de plantas para remoção de metais do solo, muitos pesquisadores se concentraram nas espécies hiperacumuladoras, que naturalmente concentram elevados teores de metais em seus tecidos (CHANEY et al., 1997). Segundo estes autores, para identificar uma espécie hiperacumuladora é necessário considerar algumas características, como a capacidade da planta de tolerar altos níveis do elemento nas células de suas raízes e da parte aérea e sua habilidade de translocar o elemento para a parte aérea em altas taxas, excedendo a concentração do metal na raiz. Estas características poderiam fazer das hiperacumuladoras um veículo eficiente para remoção de metais pesados dos solos. No entanto, algumas limitações apresentadas por estas plantas têm sido um entrave para a utilização prática dessas espécies em programas de fitoextração. A pequena produção de biomassa, a ocorrência específica e a acumulação de um único elemento (CUNNINGHAM et al., 1995) são limitações que precisam ser superadas.

Em termos práticos, a utilização de plantas produtoras de muita biomassa é uma alternativa para fitoextração, mesmo que estas plantas não acumulem altas concentrações de metal em seus tecidos. Garantir a produção de biomassa em solos contaminados é uma etapa necessária para o sucesso da fitoextração (BLAYLOCK et al.,1997). O importante é a remoção do metal, avaliada pelo conteúdo acumulado nos tecidos vegetais. Considerando que a fitoextração pode ser potencializada pela utilização de ácidos orgânicos naturais ou sintéticos, o emprego de espécies não acumuladoras, mas tolerantes e produtoras de grande quantidade de biomassa tornaria a fitoextração viável e eficiente (EBBS e KOCHIAN, 1998; GARBISU e ALKORTA, 2001; SHEN et al., 2002).

Chaney et al. (1997) compararam a remoção de Zn por milho e mostarda indiana (*Brassica juncea*) com a remoção por *Thlaspi caerulescens*, que hiperacumula Zn e Cd. Apesar da *T. caerulescens* produzir biomassa em uma proporção de cerca de 25% da que é produzida pelo milho e pela mostarda, em termos de conteúdo, a primeira removeu mais Zn do que estas últimas. Por este motivo, eles concluíram que, para a fitoextração, a hiperacumulação é mais importante que a produção de biomassa. É importante destacar, no entanto, que a proposta de utilização de plantas não acumuladoras, mas que produzem grande quantidade de biomassa, está associada à idéia de aplicação de agentes quelantes, que comprovadamente aumentam a solubilidade de metais no solo e sua translocação nas plantas (SHEN et al., 2002; NASCIMENTO et al., 2006). Portanto, nessas condições, pode ser viável utilizar plantas que produzam grande quantidade de biomassa e acumulem metais pela aplicação de ácidos orgânicos.

Avaliar a produção de biomassa na presença de metais, assim como a tolerância de plantas a estes elementos, é necessário para selecionar espécies com potencial de uso em programas de fitoextração induzida. Este trabalho teve como objetivo selecionar espécies com base em medidas de crescimento e tolerância a metais pesados visando estimar o potencial das mesmas para utilização em extração de metais.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido em casa de vegetação e nos laboratórios de Química e Fertilidade do Solo da Universidade Federal Rural de Pernambuco. O solo utilizado foi uma amostra de Argissolo Vermelho Amarelo, coletada entre 0,30 e 0,60 m de profundidade no campus da Universidade. A amostra foi seca ao ar, destorroada e passada em peneira de 2 mm. Foi realizada a caracterização física e química do solo de acordo com EMBRAPA (1997) (Quadro 1). O solo foi incubado com Cd (20 mg kg⁻¹), Cu (100 mg kg⁻¹), Pb (150 mg kg⁻¹) e Zn (150 mg kg⁻¹) a partir de solução preparada com cloreto desses metais. A acidez do solo foi corrigida pelo método recomendado para o estado de Pernambuco (CAVALCANTI, 1998). O solo foi mantido em sacos plásticos, com umidade em torno de 80% da capacidade de campo durante 35 dias. Após este período, o solo foi colocado em vasos com capacidade para 2 kg, foi realizada fertilização de plantio e a umidade corrigida para 80% da capacidade de retenção de água do solo no vaso. Esta capacidade foi obtida por meio de um ajuste, no qual o solo foi colocado no vaso que seria utilizado e saturado durante 24 hs. Após este período, permitiu-se o escoamento de água por gravidade durante 2 hs. O teor de umidade encontrado após este intervalo de tempo é equivalente à capacidade de campo no vaso.

Quadro 1. Atributos físicos e químicos do solo utilizado

Areia	Silte	Argila	pH H ₂ O	Ca	Mg	K	Al	H+Al	m	P	C.O.
g kg ⁻¹				cmolc dm ⁻³				%	mg dm ⁻³	g kg ⁻¹	
566	48	387	4,3	0,55	0,50	0,05	0,82	4,95	39,8	11,94	4,55

Foram avaliadas oito espécies quanto à tolerância a metais pesados: atriplex (*Atriplex nummularia*), feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), fumo (*Nicotiana tabacum*), gliricídea (*Gliricidia sepium*), girassol (*Helianthus annuus*), milho (*Zea mays*), mucuna preta (*Mucuna aterrina*) e sorgo (*Sorghum spp*). Com exceção da atriplex, cuja muda foi transplantada, e do milho e do fumo, para os quais foi realizada semeadura direta, sementes das demais espécies foram germinadas em papel toalha e, após uma semana, três plântulas foram transferidas para os vasos.

As plantas foram coletadas aos 38 dias do transplântio. O solo foi seco ao ar e destorroado para determinação dos teores de metais disponíveis, extraídos por CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (NOVOZAMSKY et al., 1993). As raízes e as partes aéreas foram separadas, lavadas com água destilada e secas em estufa até peso constante. Foram obtidas as massas da matéria seca da parte aérea e das raízes. Estes materiais foram moídos em moinho tipo Wiley e, após digestão nitro-perclórica, foram determinados os teores de Cd, Cu, Pb e Zn nos extratos por espectrofotometria de absorção atômica. Foram medidas a produção de matéria seca, calculando-se a redução relativa de biomassa e, a partir dos teores de metais nas plantas e da massa de matéria seca da parte aérea e raízes, a remoção e acumulação dos metais. Para estimar a redução relativa de biomassa de cada espécie, foi utilizada a fórmula:

$$\text{RRB (\%)} = ((\text{MSc} - \text{MSt}) / \text{MSc}) \times 100$$

Onde,

RRB: redução relativa de biomassa;

MSc: matéria seca produzida no tratamento sem metal;

MSt: matéria seca produzida no tratamento com metal.

O experimento foi conduzido em delineamento blocos ao acaso, com 3 repetições, com os tratamentos dispostos em fatorial 8×2 (8 espécies vegetais \times 2 níveis de contaminação – solo sem contaminação e solo contaminado), totalizando 48 unidades experimentais. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de Scott e Knott no programa Sisvar para Windows, versão 4.0, desenvolvido na Universidade Federal de Lavras.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Produção de Matéria Seca

Desde o início do experimento, sintomas de fitotoxicidade foram observados durante a condução do mesmo, como redução de crescimento, clorose e necrose foliares (Figuras 1 e 2), exceto para a mucuna. Esta espécie apresentou clorose e necrose foliares somente no final do experimento (Figura 1). Sintomas semelhantes foram obtidos por Ryser e Sauder (2006) que observaram diminuição no número de folhas e necrose em *Hieracium piloselloides* cultivado em solo contaminado com Ni e Cu.

Algumas espécies, como fumo e girassol, não sobreviveram no solo contaminado por mais de 15 dias após o transplântio. O sorgo sobreviveu durante 21 dias. A atriplex, o feijão-caupi, a gliricídia, o milho e a mucuna sobreviveram até o final do experimento. Por esta razão, somente os dados relativos a estas espécies foram apresentados.

Aos 35 dias

Mucuna



Milho



Figura 1: Detalhe de clorose e necrose foliares em mucuna e milho aos 35 dias após transplântio, em plantas submetidas à presença de metais.

Feijão-caupi

Aos 7 dias



ausência

presença

Aos 35 dias



presença

ausência

Atriplex

Aos 7 dias



ausência

presença

Aos 35 dias



presença

ausência

Figura 2: Sintomas de fitotoxicidade apresentados por feijão-caupi e atriplex aos 7 e 35 dias após transplante, em plantas submetidas a ausência e presença de metais.

A produção de matéria seca de raiz e parte aérea foi reduzida pela presença de metais para todas as espécies, exceção à matéria seca de raiz da atriplex (Quadro 2). A presença de metais pesados provoca mudanças na forma do sistema radicular e reduz sua taxa de crescimento (PUNZ e SIEGHARDT, 1993). Segundo di Troppi e Gabrielli (1999), a redução no crescimento das plantas, quando há absorção de metais pesados, em especial de Cd, ocorre em função do comprometimento irreversível que este elemento provoca no alongamento das células.

Quadro 2. Matéria seca de raiz e parte aérea de espécies vegetais submetidas à ausência ou presença de metais pesados no solo

Espécie Vegetal	Raiz		Parte Aérea	
	Ausência	Presença	Ausência	Presença
	g		g	
Atriplex	0,90a	0,92a	5,44a	2,48b
Caupi	1,45a	0,28b	13,99a	0,54b
Glicíndia	0,90a	0,10b	7,30a	0,22b
Milho	2,41a	0,85b	13,04a	0,46b
Mucuna	1,68a	0,43b	15,62a	1,36b

Médias seguidas pelas mesmas letras nas linhas, dentro das partes da planta, não apresentaram diferença estatística a 5% de significância pelo teste de Scott Knott.

A glicíndia foi a espécie que sofreu maior redução relativa da matéria seca de raiz, seguida pelo feijão-caupi (Quadro 3). Quanto à redução de matéria seca da parte aérea, com exceção da atriplex, todas as espécies sofreram reduções superiores a 90% da matéria seca no solo contaminado. A atriplex sofreu a menor redução de matéria seca da parte aérea, não sofrendo redução na matéria seca de raízes. Os resultados referentes à matéria seca parecem indicar relativa tolerância da atriplex a estes elementos. Esta espécie é conhecida pelo seu potencial de utilização em fitorremediação de solos degradados pela salinidade (PORTO et al., 2001).

Quadro 3. Redução relativa de matéria seca de raiz e parte aérea de diferentes espécies vegetais submetidas à ausência e presença de metais pesados no solo

Espécie Vegetal	Raiz	PA
%		
Atriplex	*	53,46B
Caupi	80,63B	96,10A
Gliricídea	89,41A	96,91A
Milho	64,50D	96,51A
Mucuna	74,04C	91,28A

* : não houve redução de matéria seca. Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não apresentaram diferença estatística a 5% de significância pelo teste de Scott Knott.

Teores de Cd, Cu, Zn e Pb nas plantas

Os teores de Cd na parte aérea não diferiram significativamente entre as espécies (Quadro 4). A mucuna e a atriplex foram as espécies que apresentaram os maiores conteúdos na parte aérea, enquanto a gliricídia apresentou os menores valores. É importante chamar a atenção para a concentração de Cd encontrada na parte aérea da atriplex no tratamento sem adição de metal. Esta concentração baixa parece estar relacionada com o C_{min} da espécie para o Cd (MARSCHNER, 1995) e pode sugerir que a atriplex seja uma planta indicadora da presença do metal.

A mucuna foi a espécie que apresentou os maiores teores de Cd na raiz, seguida pelo feijão-caupi (Quadro 4). A mucuna também foi a espécie que removeu os maiores conteúdos de Cd do solo, enquanto a gliricídia foi a espécie que removeu a menor quantidade. A atriplex não apresentou redução na matéria seca da raiz e foi, juntamente com o milho, a espécie que apresentou a menor quantidade de Cd na raiz. Estes resultados sugerem algum mecanismo de tolerância destas espécies baseado em exclusão. Segundo Punz e Sieghardt (1993), a exclusão de íons metálicos ocorre pela diminuição da atividade da ATPase ou pela redução da capacidade de troca de cátions.

Considerando a razão entre os teores de Cd na parte aérea e na raiz, nenhuma das espécies pôde ser considerada eficiente no que diz respeito à translocação. Todas as espécies apresentaram razão menor que 1 (Quadro 4). De acordo com McGrath e Zhao (2003), a razão entre o teor de metal na parte aérea e na raiz deve ser maior que 1 para que a translocação seja eficiente.

Quadro 4. Teores e conteúdos de Cd na raiz e na parte aérea e razão entre teor de Cd na parte aérea e na raiz, de diferentes espécies vegetais submetidas à ausência (-) e presença (+) e metais pesados no solo

Espécie Vegetal	Cd Raiz		Conteúdo Cd Raiz		Cd PA		Conteúdo Cd PA		Cd PA/Raiz	
	$(\mu\text{g g}^{-1})$		$(\mu\text{g planta}^{-1})$		$(\mu\text{g g}^{-1})$		$(\mu\text{g planta}^{-1})$		Raiz	
	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
Atriplex	<LD	200,1D	<LD	183,2B	1,8A	72,4A	10	179,5A	<LD	0,4B
Caupi	<LD	556,9B	<LD	155,9C	<LD	140,0A	<LD	76,2B	<LD	0,3C
Glicícea	<LD	448,9C	<LD	43,4D	<LD	81,9A	<LD	16,7C	<LD	0,2C
Milho	<LD	233,8D	<LD	198,7B	<LD	110,9A	<LD	50,1B	<LD	0,5A
Mucuna	<LD	978,8A	<LD	417,9A	<LD	123,4A	<LD	168,8A	<LD	0,1C

<LD: abaixo do limite de detecção. Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não apresentaram diferença estatística a 5% de significância pelo teste de Scott Knott.

Os teores de Zn e Cu diferiram significativamente entre as espécies, e as maiores concentrações e conteúdos foram encontrados na mucuna (Quadros 5 e 6). Não foi detectado Pb na parte aérea, apenas nas raízes. Isto se deve à baixa mobilidade deste metal em plantas (BLAYLOCK et al., 1997). A mucuna apresentou as maiores concentrações de Pb em suas raízes, seguida pelo feijão-caupi e pela gliricícea (Quadro 7). Em termos de conteúdo, a mucuna também acumulou maiores quantidades de Pb em suas raízes. A gliricícea apresentou os menores conteúdos, em função da pequena biomassa produzida.

Quadro 5. Teores e conteúdos de Zn na raiz e parte aérea e razão entre teor de Zn na parte aérea e na raiz, de diferentes espécies vegetais submetidas à ausência(-) e presença (+) de metais pesados no solo

Espécie Vegetal	Zn Raiz ($\mu\text{g g}^{-1}$)		Conteúdo Zn Raiz ($\mu\text{g planta}^{-1}$)		Zn PA ($\mu\text{g g}^{-1}$)		Conteúdo Zn PA ($\mu\text{g planta}^{-1}$)		Zn PA/Raiz	
	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
Atriplex	28,5bA	1413,9aC	25,6bA	1294,0aC	94,8bA	391,9aC	513,4bB	969,2aB	3,3aA	0,3bA
Caupi	35,8bA	3671,2aB	51,7bA	1027,3aD	53,8bA	639,6aB	753,2aA	345,6bC	1,5aB	0,2bA
Gliricídea	32,0bA	4196,3aB	29,0bA	388,6aE	25,0bA	447,5aC	183,7aC	92,3aD	0,9aC	0,1bA
Milho	12,5bA	1958,1aC	30,4bA	1656,7aB	20,0bA	637,0aB	256,9aC	291,3aC	1,6aB	0,3bA
Mucuna	69,5bA	4924,6aA	116,2bA	2118,2aA	46,2bA	813,9aA	721,5bA	106,4aA	0,7aC	0,2bA

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas linhas, dentro de cada variável, e maiúsculas nas colunas não apresentaram diferença estatística a 5% de significância pelo teste de Scott Knott.

Quadro 6. Teores e conteúdos de Cu na raiz e parte aérea e razão entre teor de Cu na parte aérea e na raiz, de diferentes espécies vegetais submetidas à ausência (-) e presença (+) de metais pesados no solo

Espécie Vegetal	Cu Raiz ($\mu\text{g g}^{-1}$)		Conteúdo Cu raiz ($\mu\text{g planta}^{-1}$)		Cu PA ($\mu\text{g g}^{-1}$)		Conteúdo Cu PA ($\mu\text{g planta}^{-1}$)		Cu Pa/Raiz	
	-	+a	-	+	-	+	-	+	-	+
Atriplex	<LD	354,9E	<LD	324,1C	2,5b	45,5aB	13,1b	112,9aA	<LD	0,13A
Caupi	27,0b	643,7aC	38,9b	179,7aD	<LD	45,5B	<LD	24,5C	<LD	0,07C
Gliricídea	<LD	990,5B	<LD	94,3E	<LD	60,4A	<LD	13,1D	<LD	0,06D
Milho	<LD	570,4D	<LD	482,6B	<LD	65,6A	<LD	29,6C	<LD	0,11B
Mucuna	<LD	3736,0A	<LD	1607,4A	<LD	65,8A	<LD	89,4B	<LD	0,02E

<LD: abaixo do limite de detecção. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas linhas, dentro de cada variável, e maiúsculas nas colunas não apresentaram diferença estatística a 5% de significância pelo teste de Scott Knott.

Quadro 7. Teores e conteúdos de Pb na raiz de diferentes espécies vegetais submetidas à ausência (-) e presença (+) de metais pesados no solo

Espécie Vegetal	Pb Raiz ($\mu\text{g g}^{-1}$)		Conteúdo Pb Raiz ($\mu\text{g vaso}^{-1}$)	
	-	+	-	+
Atriplex	131,28a	360,1aC	118,0b	331,7aB
Caupi	<LD	655,0B	<LD	183,7C
Gliricídea	<LD	829,6B	<LD	73,2D
Milho	<LD	214,9C	<LD	182,0C
Mucuna	<LD	1624,1A	<LD	700,8A

<LD: abaixo do limite de detecção. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas linhas, dentro de cada variável, e maiúsculas nas colunas não apresentaram diferença estatística a 5% de significância pelo teste de Scott Knott.

Todas as espécies apresentaram valores baixos da razão parte aérea/ raiz (Quadros 4, 5 e 6). Esta é uma variável que indica a habilidade da planta de translocar metais para a parte aérea (AN et al., 2006), e deve ser maior que 1 para que a fitoextração seja eficiente. A retenção de metais nas raízes é um dos mecanismos de tolerância a metais pesados que as plantas podem utilizar e inclui retenção na parede celular e seqüestro nos vacúolos (GARBUSU e ALKORTA, 2001).

Os teores disponíveis de Cu e Pb no solo, extraídos com CaCl_2 se encontraram abaixo do limite de detecção do aparelho utilizado e não houve correlação significativa entre os teores disponíveis de Zn e Cd no solo e os teores destes metais nas plantas (dados não apresentados). A extração química é uma forma de avaliar a disponibilidade dos metais para as plantas e a correlação entre os teores de metais extraídos do solo e os teores absorvidos pelas plantas parece ter relação com o tipo de extrator. Jiang et al. (2004) observaram alta correlação positiva entre os teores extraídos do solo com NH_4NO_3 e NH_4OAc e os teores encontrados em planta, e baixa correlação para teores extraídos com EDTA. Houba et al. (1996) descrevem correlações positivas entre o teor de Cd extraído com CaCl_2 e absorção deste metal por culturas. Gisbert et al. (2006) sugerem que baixas correlações entre teores de metais no solo e na planta se devem também a características específicas de cada espécie vegetal.

De modo geral, nenhuma das espécies estudada deve ser considerada acumuladora de metais nem ser utilizada em programas de fitoextração sem adição de quelantes. De acordo com An et al. (2006), a acumulação de metais combinada com a tolerância são parâmetros que indicam o potencial de uma espécie ser utilizada em fitoextração. Todas as espécies estudadas apresentaram algum tipo de sintoma de fitotoxicidade e translocação muito baixa. Apesar desses resultados, a maior tolerância aos metais, com menor redução de biomassa, qualificam a atriplex para futuros estudos com fitoextração induzida. Devido ao maior acúmulo de metais dentre as espécies estudadas, a mucuna poderia ser escolhida, apesar da redução de crescimento, para solos com menores teores de contaminantes que os estudados neste experimento.

CONCLUSÕES

- As espécies feijão-caupi, fumo, girassol, gliricídia, milho, e sorgo são sensíveis à multicontaminação com Cd, Zn, Cu e Pb, não podendo ser qualificadas para utilização em fitoextração induzida.
- A atriplex foi a espécie que apresentou maior tolerância à contaminação com Cd, Zn, Cu e Pb, enquanto a mucuna acumulou a maior quantidade de metais nas raízes e na parte aérea. Ambas espécies apresentam potencial para estudos em fitoextração induzida.

REFERÊNCIAS

AN, Z. Z. et al. Zinc tolerance and accumulation in *Pteris vittata* L. and its potential for phytoremediation of Zn- and As-contaminated soil. **Chemosphere**, Oxford, v.62, p. 796–802, 2006.

BLAYLOCK, M. J. et al. Enhanced accumulation of Pb in indian mustard by soil applied chelating agents. **Environmental Science Technology**, Washington, v.31, p. 860-865, 1997.

CAVALCANTI, F. J. A. **Adubação para o Estado de Pernambuco**. Recife: IPA, 1998.

CHANEY, R. L. et al. Phytoremediation of soils metals. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v.8, p. 279-284, 1997.

CUNNINGHAM, S. D.; BERTI, W. R.; HUANG, J. W. Phytoremediation of contaminated soils. **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, v.13, p. 393-397, 1995.

CUNNINGHAM, S. D.; OW, D. W. Promises and prospects of phytoremediation. **Plant Physiology**, Mineapolis, v.110, p. 715-719, 1996.

di TROPPI, L. S.; GABBRIELLI, R. Response to cadmium in higher plants. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v.41, p. 105-130, 1999.

EBBS, S. D.; KOCHIAN, L. V. Phytoextraction of zinc by oat (*Avena sativa*), barley (*Hordeum vulgare*), and indian mustard (*Brassica juncea*). **Environmental science and Technology**, Washington, v.32, n.6, p. 802-806, 1998.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. 2.ed. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura e Abastecimento, 1997. 212p.

GARBISU, C.; ALKORTA, I. Phytoextraction: a cost-effective plant based technology for the removal of metals from the environment. **Bioresource Technology**, Essese, v.77, p. 229-236, 2001.

GISBERT, C. et al. Tolerance and accumulation of heavy metals by Brassicaceae species grown in contaminated soils from Mediterranean regions of Spain. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 56, p. 19–27, 2006.

HOUBA, V.J.G. et al. State of the art and future developments in soil analysis for bioavailability assessment. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v.178, p. 21-28, 1996

JIANG, L.Y.; YANG, X.E.; HE, Z.L. Growth response and phytoextraction of copper at different levels in soils by *Elsholtzia splendens*. **Chemosphere**, Oxford, v.55, p. 1179–1187, 2004.

KRÄMER, U. Phytoremediation: novel approaches to cleaning up polluted soils. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v.16, p. 1-9, 2005.

McGRATH, S. P.; ZHAO, F. Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v.14, p. 277-282, 2003.

MARSCHNER, H. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2. ed. Cambridge: Academic Press, 1995. 902p.

MEAGHER, R. B. Phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants. **Current Opinion in Plant Biology**, v.3, p. 153-162, 2000.

NASCIMENTO, C. W. A.; AMARASIRIWARDENA, D; XING, B. Comparison of natural organic acids and syntetic chelates for enhancing phytoextraction of metals from a multi-contaminated soil. **Environmental Pollution**, Essese, v.140, p. 114-123, 2006.

NOVOZAMSKY, I.; LEXMOND, T.M.; HOUBA, V.J.G. A single extraction procedure of soil for evaluation of uptake of some heavy metals by plants. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, New York, v.51, p. 47-58, 1993.

PORTO, E. R.; AMORIM, M. C. C.; SILVA JÚNIOR, L. G. A. Uso do rejeito da dessalinização de água salobra para irrigação da erva-sal (*Atriplex nummularia*). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.5, n.1, p. 111-114, 2001.

PUNZ, W. F.; SIEGHARDT, H., The response of roots of herbaceous plant species to heavy metals. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v.33, n.1, p. 85-98, 1993.

RASKIN, I.; SMITH R. D.; SALT, D. E. Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. **Current Opinion in Biology**, v.8, p. 221-226, 1997.

RYSER, P.; SAUDER, W. R. Effects of heavy-metal-contaminated soil on growth, phenology and biomass turnover of *Hieracium piloselloides*. **Environmental Pollution**, Essese, v.140, p. 52-61, 2006.

SHEN, Z. G. et al. Lead phytoextraction from contaminated soil with high-biomass plant species. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.31, p. 1893-1900, 2002.

CAPÍTULO 2: COMPETIÇÃO DE METAIS NA DISTRIBUIÇÃO DE Cd, Zn E Pb ENTRE FRAÇÕES DO SOLO E NO ACÚMULO EM MUCUNA PRETA (*Mucuna aterrina*)

RESUMO

Diversos estudos têm demonstrado que a presença simultânea de diferentes metais modifica o comportamento destes elementos no solo e na planta. Essa informação é de grande importância para estudos de fitoextração, processo que depende tanto da habilidade das plantas de acumular metais, como da biodisponibilidade destes elementos. Neste trabalho, foi avaliada a competição entre metais em um solo contaminado por Cd (20 mg kg^{-1}), Zn (150 mg kg^{-1}) e Pb (150 mg kg^{-1}) na sua distribuição no solo e na absorção por mucuna preta (*Mucuna aterrina*). A presença simultânea dos metais influenciou a distribuição entre as frações do solo, com predomínio de Cd na fração solúvel em água, de Zn na fração trocável e de Pb na fração matéria orgânica. Efeitos de antagonismo foram observados na absorção e translocação de Cd e Zn, e não ocorreram para o Pb.

SUMMARY

Competition of heavy metals in soils alters their distribution into soil fractions and plant uptake. Such a knowledge is important in phytoextraction studies, since this process depends on metal plant accumulation and bioavailability in soils. This work evaluated the competition among Cd, Zn and Pb and its effect on metal distribution in soil fractions and absorption by *Mucuna aterrina*. The results showed that simultaneous heavy metal addition influenced metal fractionation. Zinc was mainly retained in the exchangeable fraction, while most of Pb adsorbed to organic matter fraction. Most of Cd was detected in water soluble fraction. There was antagonism between Cd and Zn for uptake and translocation. Such antagonism did not take place to Pb.

INTRODUÇÃO

Metais pesados ocorrem naturalmente em solos como produto do intemperismo de rochas que contenham estes elementos na sua constituição mineral (ALLOWAY, 1990). Entretanto, o incremento nas concentrações de elementos tóxicos tem ocorrido nos últimos anos como consequência de diferentes atividades humanas, como mineração, emissões industriais, práticas agrícolas e deposição de resíduos. Muitos contaminantes, como os metais pesados, são acumulados na cadeia trófica e podem atingir o homem, causando danos à saúde e degradação dos ecossistemas.

Os riscos associados a altas concentrações de metais pesados no solo exigem medidas mitigadoras que restabeleçam as condições naturais. Muitas técnicas de remediação de solos contaminados requerem processos complexos e onerosos de engenharia e, em muitas situações, comprometem a reutilização do solo. Neste cenário, a fitorremediação surge como uma alternativa de custo reduzido e de implantação relativamente simples (CUNNINGHAM et al., 1995; MEAGHER, 2000). Esta técnica inclui fitoestabilização, fitoestimulação, fitovolatilização e fitoextração (CHANEY et al., 1997; ACCIOLY e SIQUEIRA, 2000). Fitoextração é o processo pelo qual os elementos tóxicos são absorvidos, translocados e acumulados nos tecidos vegetais (RASKIN et al., 1997), com posterior remoção da parte aérea da área em reabilitação.

Embora a eficiência da fitoextração seja avaliada pela produção de biomassa e pela bioacumulação de metais (McGRATH e ZHAO, 2003), é necessário levar em consideração também a forma como estes elementos se encontram no solo. Para os metais, a absorção pelas raízes ocorre a partir da solução e as ligações com as partículas sólidas do solo tornam estes elementos indisponíveis para as plantas (LASAT, 2002). A baixa mobilidade de metais no solo geralmente implica em baixo acúmulo destes elementos nas plantas, em especial na parte aérea (RASKIN et al., 1997). Portanto, a baixa disponibilidade de metais nos solos é um fator limitante à fitoextração (LASAT, 2002; QUARTACCI et al., 2005).

A determinação dos teores totais de metais no solo não é suficiente para estimar sua mobilidade e, conseqüentemente, sua biodisponibilidade (GUPTA e SINHA, 2005). Métodos de extração química que fracionem o solo e indiquem a forma mais biodisponível dos metais são de grande importância na previsão do comportamento destes elementos no sistema solo-planta (NASCIMENTO et al., 2003). A extração seqüencial permite a determinação das formas químicas em que os metais se encontram no solo, além de fornecer informações detalhadas sobre a origem, mobilidade e biodisponibilidade de metais em diferentes condições ambientais (NYAMANGARA, 1998; GUPTA e SINHA, 2005).

A dinâmica entre as formas em que se encontram os metais é fundamental para o entendimento da biodisponibilidade no meio (ALLEONI et al., 2005). Segundo Abreu et al. (2002), a absorção de metais pelas plantas e a toxicidade depende das espécies químicas do metal e da concentração e atividade do íon na solução. Esta atividade, por sua vez, é função da concentração, do tamanho e da valência do íon, bem como da força iônica da solução que é uma medida do grau de interação entre os íons em solução (SPARKS, 1995).

A maioria dos solos é contaminada por vários metais e sua distribuição, que envolve íons livres, pares iônicos e quelatos, exerce influência sobre a reatividade, mobilidade e disponibilidade dos elementos (ABREU et al., 2002; HAN et al., 2003). É comum encontrar elementos tóxicos em solução misturados com outros íons metálicos (GARDEA-TORRESDEY et al., 1999), e, o comportamento de um metal em particular pode ser afetado pela presença de outros metais (SRIVASTAVA et al., 2005). No entanto, a maior parte das informações sobre ligações de metais no solo envolve soluções contendo um elemento apenas (SERRANO et al., 2005).

Estudos de adsorção de metais pesados, tanto individualmente como em situação de competição, são de grande importância na determinação da capacidade dos solos em responder à introdução de contaminantes em seu sistema (FONTES e GOMES, 2003). Serrano et al. (2005) observaram que a presença simultânea de Cd e Pb resultou na redução de sorção dos elementos, aumentando a biodisponibilidade, toxicidade e lixiviação destes metais. Fontes e Gomes (2003) afirmaram que a competição entre cátions metálicos pelos sítios de adsorção levou a menor retenção de Ni, Zn e Cd e a maior adsorção de Cr, Cu e Pb.

Os estudos de competição entre metais indicam que as afinidades entre os elementos e os componentes do solo respondem também pela dinâmica dos metais no meio. O Pb, por exemplo, tem maior afinidade com a matéria orgânica do que com os minerais de argila (SIPOS et al., 2005). Zinco e Cd são mais fracamente retidos no solo que Cu e Pb (FONTES e GOMES, 2003) e podem competir pelos mesmos sítios de absorção na planta em virtude de sua semelhança química (NASCIMENTO et al., 1998).

Com base no conhecimento sobre competitividade entre metais, e considerando a influência que a dinâmica destes elementos exerce sobre sua biodisponibilidade, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da competição entre Cd, Zn e Pb sobre suas distribuições entre frações do solo e sobre a absorção e translocação destes elementos por mucuna preta.

MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos foram conduzidos em casa de vegetação e nos laboratórios de Química e Fertilidade do Solo da Universidade Federal Rural de Pernambuco. O solo utilizado foi uma amostra de Argissolo Vermelho Amarelo, coletada entre 0,30 e 0,60 m de profundidade no campus da Universidade. A amostra foi seca ao ar, destorroada e passada em peneira de 2 mm. Foi realizada a caracterização física e química do solo de acordo com métodos descritos pela EMBRAPA (1997) (Quadro 1).

Quadro 1. Atributos físicos e químicos do solo estudado

Areia	Silte	Argila	pH H ₂ O	Ca	Mg	K	Al	H+Al	m	P	C.O.
g kg ⁻¹				cmolc dm ⁻³				%	mg dm ⁻³	g kg ⁻¹	
566	48	387	4,3	0,55	0,50	0,05	0,82	4,95	39,8	11,94	4,55

Ao solo foi adicionada solução contendo Cd, Zn e Pb, preparada com cloreto desses metais, atingindo no solo as concentrações 20 mg kg⁻¹, 150 mg kg⁻¹ e 150 mg kg⁻¹, respectivamente. A acidez do solo foi corrigida pelo método recomendado para o estado de Pernambuco (CAVALCANTI, 1998). O solo foi mantido em sacos plásticos, com umidade em torno de 80% da capacidade de campo, com incubação durante 145 dias. Após este período, o solo foi colocado em vasos com capacidade para 1 kg, foi realizada fertilização de plantio e a umidade mantida em 60% da capacidade de retenção de água do solo em vaso. Esta capacidade foi obtida por meio de um ajuste, no qual o solo foi colocado no vaso que seria utilizado e saturado durante 24 hs. Após este período, permitiu-se o escoamento de água por gravidade durante 2 hs. O teor de umidade encontrado após este intervalo de tempo é equivalente à capacidade de campo no vaso.

Sementes de mucuna preta (*Mucuna aterrina*) foram germinadas em papel toalha umedecido e, após uma semana, quatro plântulas foram transplantadas para cada vaso com solo contaminado e controle. Uma semana após o transplante, foi realizado o desbaste, permanecendo duas plantas por vaso.

As plantas foram coletadas aos 35 dias do transplântio. Em seguida, o solo foi seco ao ar e destorroado para extração seqüencial, baseada no método de Shuman (1985), com fração solúvel em água estimada com CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (NOVOZAMSKY et al., 1993) e fração óxido de ferro amorfo e cristalino conforme Chao e Zhou (1983). As raízes e as partes aéreas foram separadas, lavadas com água destilada e secas em estufa até peso constante. Foram obtidas as massas da matéria seca da parte aérea e das raízes. Estes materiais foram moídos em moinho tipo Wiley e após digestão nitro-perclórica, foram determinados os teores de Cd, Pb e Zn nos extratos por espectrofotometria de absorção atômica.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com 3 repetições. Os tratamentos foram 8 combinações de metais: Cd, Zn e Pb isolados, combinados 2 a 2 (Cd+Zn, Cd+Pb, Zn+Pb), aplicados conjuntamente (Cd+Zn+Pb) e controle (sem metal), totalizando 24 unidades experimentais. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de Scott Knott utilizando o programa de análises estatísticas Sisvar para Windows, versão 4.0, desenvolvido na Universidade Federal de Lavras.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Teores de Metais no Solo

As formas de Cd, Zn e Pb no solo diferiram significativamente em função dos tratamentos (Quadro 2). O maior teor de Cd solúvel em água foi encontrado no tratamento Cd+Pb e o menor no tratamento com Cd apenas (Quadro 2). De acordo com Ribeiro-Filho et al. (1999), a biodisponibilidade do Cd pode estar relacionada com a inibição de sua adsorção provocada por outros íons, por exemplo, por Pb, que apresenta maior afinidade com os sítios de troca.

Nos demais tratamentos com Cd, onde este elemento encontra-se combinado com Zn e, ou Pb, foram encontrados teores menores de Cd nas frações trocável e matéria orgânica. Este comportamento pode ser explicado pela forte influência que a sorção de Cd sofre com a presença simultânea de metais competidores como o Pb (SERRANO et al., 2005). Estes autores observaram que a co-existência de Pb e Cd reduziu a tendência de sorção principalmente para o Cd. Este elemento possui baixa tendência de hidrolisar, competindo fracamente com o Pb, que hidrolisa mais rapidamente (SRIVASTAVA et al., 2005).

O Zn e o Pb competiram com o Cd pelos sítios de adsorção nas frações trocável e matéria orgânica, principalmente o Pb com relação à matéria orgânica e o Zn na fração trocável (Quadro 2). Na fração trocável, não foi detectado Cd nos tratamentos em que este elemento encontra-se combinado com Pb. Em função da mudança na distribuição entre as frações, nos tratamentos em que o Cd está combinado com os outros metais, foram encontrados maiores teores solúveis em água. Não foram detectados teores de Cd nas frações óxido de ferro amorfo e óxido de ferro cristalino.

O papel da concentração dos elementos não deve deixar de ser considerado para explicar a seletividade nas ligações. A adsorção de metais pesados é proporcional a sua concentração na solução (FONTES e GOMES, 2003). Neste estudo, a concentração de Zn e Pb é cerca de 8 vezes maior que a do Cd, o que também explica a preferência destes elementos em lugar do Cd para formar ligações na fração trocável e matéria orgânica.

Quadro 2. Distribuição de Cd, Zn e Pb entre as frações do solo nos diferentes tratamentos

Tratamentos	Sol (mg kg ⁻¹)	Troc (mg kg ⁻¹)	MO (mg kg ⁻¹)	OFA (mg kg ⁻¹)	OFC (mg kg ⁻¹)
Cd					
Cd	6,11D	2,57A	7,62A	<LD	<LD
Zn	<LD	<LD	3,09C	<LD	<LD
Pb	<LD	<LD	2,87C	<LD	<LD
Cd+Zn	6,67B	0,43B	6,14B	<LD	<LD
Cd+Pb	7,30A	<LD	6,16B	<LD	<LD
Zn+Pb	<LD	<LD	3,00C	<LD	<LD
Cd+Zn+Pb	6,36C	<LD	5,82B	<LD	<LD
Controle	<LD	<LD	3,09C	<LD	<LD
Zn					
Cd	0,14E	<LD	4,02C	<LD	0,71B
Zn	70,39A	24,62A	30,60B	0,17A	1,32A
Pb	0,66E	<LD	3,14C	<LD	0,57B
Cd+Zn	44,24C	22,45A	36,43A	<LD	1,17A
Cd+Pb	0,43E	<LD	2,84C	<LD	0,74B
Zn+Pb	54,39B	22,45A	32,36B	0,19A	1,22A
Cd+Zn+Pb	33,82D	20,86A	32,40B	<LD	1,16A
Controle	0,36E	<LD	2,72C	<LD	0,94B
Pb					
Cd	<LD	<LD	5,77C	<LD	<LD
Zn	<LD	<LD	4,77C	<LD	<LD
Pb	<LD	4,34A	69,93B	<LD	3,35A
Cd+Zn	<LD	<LD	5,02C	<LD	<LD
Cd+Pb	<LD	4,51A	76,85A	<LD	3,35A
Zn+Pb	<LD	2,81B	77,55A	<LD	1,40B
Cd+Zn+Pb	<LD	1,04C	78,96A	<LD	0,42C
Controle	<LD	<LD	4,87C	<LD	<LD

Sol: solúvel em água, Troc: fração trocável, MO: fração matéria orgânica, OFA: fração óxido de ferro amorfo, OFC: fração óxido de ferro cristalino, <LD: abaixo do limite de detecção. Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não apresentaram diferença estatística a 5% de significância pelo teste de Scott Knott.

No tratamento com Zn apenas, foram encontrados os maiores teores solúveis em água deste elemento (Quadro 2). Para a fração trocável, não houve diferença significativa entre os tratamentos, indicando que a presença de Cd e Pb não alterou a adsorção de Zn aos sítios menos específicos. O mesmo não aconteceu na fração matéria orgânica, nos tratamentos onde o Zn compete com o Pb. Este elemento apresenta maior afinidade que o Zn com ligantes carboxílicos e por esta razão tenderá a formar ligações com estes grupos (GARDEA-TORRESDEY et al., 1999).

Os teores de Zn ligado às frações óxido de ferro amorfo e óxido de ferro cristalino foram menores do que os encontrados nas demais frações. A preferência de retenção pode ser explicada pela eletronegatividade e pela hidrólise (AGBENIN e OLOJO, 2004). Srivastava et al. (2005) sugerem que o Zn apresenta baixa tendência de hidrolisar, semelhantemente ao Cd, e sua adsorção envolve apenas troca iônica. Por outro lado, a adsorção de Pb envolve principalmente hidrólise. Estas diferenças resultam em competição fraca entre Zn e Pb.

Os maiores teores de Pb foram encontrados na fração matéria orgânica, em virtude da sua alta afinidade com esta fração. Resultados semelhantes foram encontrados por Barona et al. (2001). Estes autores observaram que a maior parte do Pb se encontrava ligada à matéria orgânica. As maiores concentrações nas frações trocável e óxido de ferro cristalino foram encontradas nos tratamentos com Pb apenas e Cd+Pb. Este resultado reflete a tendência do Pb de formar ligações com óxidos (McBRIDE, 1994) e a prevalência deste elemento sobre o Cd.

Produção de Matéria Seca

Os tratamentos exerceram influência significativa na produção de matéria seca da parte aérea e de raízes (Quadro 3). A produção de matéria seca da parte aérea no controle não diferiu da produção nos tratamentos Cd, Cd+Zn e Cd+Pb. O tratamento com Pb apresentou a maior produção de matéria seca da parte aérea. Este resultado, provavelmente, se deve ao fato do Pb ter sido pouco translocado para a parte aérea, minimizando seus efeitos fitotóxicos. As menores produções de matéria seca da parte aérea foram observadas nos tratamentos com Zn (Zn, Zn+Pb e Cd+Zn+Pb). Este metal é um micronutriente e certamente por esta razão a mucuna não ofereceu resistência à absorção e translocação do elemento. Por se encontrar numa concentração elevada, provocou os efeitos fitotóxicos.

Houve redução na produção de matéria seca das raízes apenas nos tratamentos com Zn (Quadro 3). Nos demais tratamentos, os teores de Cd e Pb não foram impedimento para o crescimento radicular. Além disso, o Pb é um elemento pouco móvel nos solos, e apenas uma parte do teor total do metal se encontra disponível para absorção pelas plantas (BLAYLOCK et al., 1997).

Quadro 3. Produção de matéria seca de mucuna preta nos tratamentos com diferentes combinações de metais

Tratamento	PA	Raiz
	g	
Cd	4,93B	1,083A
Zn	4,21C	0,83B
Pb	6,74A	1,13A
Cd+Zn	5,14B	0,90B
Cd+Pb	5,16B	1,13A
Zn+Pb	4,40C	0,76B
Cd+Zn+Pb	4,60C	0,99B
Controle	4,97B	1,23A

MS: matéria seca, PA: parte aérea. Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não apresentaram diferença estatística a 5% de significância pelo teste de Scott Knott.

A correlação entre os teores de Zn solúvel em água, trocável e ligado à matéria orgânica com a produção de matéria seca da parte aérea e das raízes indica o efeito fitotóxico deste metal sobre a mucuna (Quadro 4). Todos os teores de Cd, Zn e Pb ligados às frações apresentaram correlação significativa com os teores dos metais na planta, exceto Cd trocável, Zn ligado à matéria orgânica e Pb ligado a óxido de ferro amorfo.

Quadro 4. Correlação de Pearson entre teores de Cd, Zn e Pb nas frações com produção de matéria seca da parte aérea e das raízes e teores dos metais nos tecidos vegetais

	MS PA	MS raiz	Cd PA	Cd raiz	Zn PA	Zn raiz	Pb PA	Pb raiz
Cd								
Sol	NS	NS	0,89**	0,94**	NS	NS	NS	NS
Troc	NS	NS	NS	0,51**	NS	NS	NS	NS
MO	NS	NS	0,78**	0,94**	NS	NS	NS	NS
Zn								
Sol	-0,59**	-0,82**	NS	NS	0,83**	0,61**	NS	NS
Troc	-0,57**	-0,80**	NS	NS	0,71**	0,43*	NS	NS
MO	-0,53**	-0,77**	NS	NS	0,63**	NS	NS	NS
OFA	-0,47*	-0,55**	NS	NS	0,78**	0,41*	NS	NS
OFC	-0,65**	-0,60**	NS	NS	0,64**	0,43*	NS	NS
Pb								
Troc	0,49**	NS	NS	NS	NS	NS	0,90**	0,93**
MO	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0,79**	0,93**
OFA	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0,43**
OFC	0,58**	NS	NS	NS	NS	NS	0,84**	0,85**

*P<0,05, **P<0,01, NS: não significativo, MS: matéria seca, PA: parte aérea, Sol: solúvel em água, Troc: trocável, MO: matéria orgânica, OFA: óxido de ferro amorfo, OFC: óxido de ferro cristalino.

Acúmulo de Metais nas Plantas

Os teores e conteúdos dos metais nas plantas diferiram significativamente entre os tratamentos no solo (Quadro 5). Os maiores teores de Cd na parte aérea foram observados nos tratamentos Cd+Zn e Cd+Zn+Pb. Nestes tratamentos, foram encontrados os maiores teores de Cd solúvel em água (Quadro 2) e ocorreu menor translocação de Zn. Esta diferença indica competição entre os elementos pelos sítios de absorção e foi observada também no acúmulo de Zn nas raízes, cujos maiores valores foram encontrados no tratamento com Zn apenas (Quadro 5). Resultado semelhante foi obtido por Nascimento et al. (1998), que observou antagonismo entre estes dois metais e sugeriu que este comportamento antagônico se devia a semelhanças químicas entre Cd e Zn. Foi observada também alta correlação positiva e significativa entre os teores de Cd solúvel e os teores deste metal na parte aérea (Quadro 4).

Entre os tratamentos com Cd, o que apresentou maior teor e acúmulo deste elemento nas raízes foi o Cd+Pb (Quadro 5). Este acúmulo pode estar relacionado com a competição pelos sítios de absorção entre o Cd e o Zn em outros tratamentos. Como o Pb é menos móvel que o Cd, provavelmente não houve competição entre estes elementos. Isto pode ser comprovado pela correlação encontrada entre os teores de Cd solúvel e na raiz (Quadro 4), que indica que quanto maior a disponibilidade do metal, maior a acumulação nas raízes. No tratamento somente com Cd, onde este elemento não competiu com outros metais, e no qual se esperaria uma maior absorção deste elemento, houve um acúmulo menor de Cd do que no tratamento Cd+Pb. Foi encontrada correlação alta entre os teores de Cd ligado à matéria orgânica e os teores na raiz (Quadro 4). Esta correlação pode ser explicada pelo fato de o Cd ligado à matéria orgânica estar potencialmente disponível.

Na parte aérea, os maiores teores de Zn foram encontrados no tratamento Zn+Pb (Quadro 5). Neste tratamento houve grande acumulação de Pb nas raízes, indicando competição entre os elementos. A maior mobilidade do Zn, e o fato de ser um micronutriente, podem explicar a mais alta translocação para a parte aérea. Estes resultados podem ser confirmados pela correlação entre os teores de Zn solúvel e acumulado na parte aérea, que foi alta e significativa (Quadro 4).

Quadro 5. Teores e conteúdos de metais nos tecidos vegetais e razão entre os teores na parte aérea e na raiz

Tratamento	PA ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Raiz ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Conteúdo Pa ($\mu\text{g vaso}^{-1}$)	Conteúdo raiz ($\mu\text{g vaso}^{-1}$)	PA/ raiz
Cd					
Cd	33,00B	883,74B	162,45D	957,05B	0,04C
Zn	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Pb	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Cd+Zn	72,64A	551,61C	373,35A	493,11C	0,13A
Cd+Pb	36,27B	1000,28A	187,13C	1125,28A	0,04C
Zn+Pb	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Cd+Zn+Pb	66,29A	565,54C	303,47B	552,03C	0,12B
Controle	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Zn					
Cd	27,75D	78,73B	136,62D	85,11B	0,35C
Zn	1040,29B	4419,56A	4383,78B	3640,69A	0,24C
Pb	47,42D	75,62B	318,54D	85,48B	0,63C
Cd+Zn	122,97D	59,83B	632,06D	53,52B	2,05C
Cd+Pb	49,97D	75,02B	257,74D	84,36B	0,67C
Zn+Pb	1280,91A	50,12B	5618,50A	38,07B	25,53A
Cd+Zn+Pb	336,35C	42,00B	1556,42C	41,35B	8,03B
Controle	43,33D	48,79B	215,16D	59,80B	0,89C
Pb					
Cd	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Zn	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Pb	43,22A	1572,81A	289,75 ^a	1782,31A	0,03B
Cd+Zn	8,39D	36,09C	43,14D	32,47C	0,24A
Cd+Pb	32,73B	1592,69A	168,80B	1789,11A	0,02B
Zn+Pb	20,40C	1079,46B	90,07C	821,31B	0,02B
Cd+Zn+Pb	18,22C	985,62B	83,987C	967,96B	0,02B
Controle	11,24D	44,01C	55,78D	54,26C	0,26A

<LD: abaixo do limite de detecção. Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas não apresentaram diferença estatística a 5% de significância pelo teste de Scott Knott.

As maiores concentrações de Pb na planta foram encontradas nos tratamentos com Pb apenas e Cd+Pb (Quadro 5), o que indica mais uma vez que esses elementos não competem pela absorção. Nestes tratamentos foram encontrados os maiores teores de Pb ligado à fração trocável (Quadro 2), e há uma correlação positiva entre o Pb ligado a essa fração e os teores nos tecidos vegetais (Quadro 4). Também foi observada correlação positiva entre os teores de Pb ligado à matéria orgânica e os teores na planta. Estas duas frações seriam a fonte de Pb biodisponível. Parece não haver competição entre Cd e Pb pelo acúmulo na raiz, já que no tratamento Cd+Pb foi encontrada também a maior concentração de Cd nesta parte da planta. A maior parte do Pb ficou retida nas raízes, sendo pouco translocado para a parte aérea, como mostra a razão parte aérea/ raiz (Quadro 5). Provavelmente por isso, efeitos fitotóxicos de Pb não foram observados no experimento.

Nos tratamentos Cd+Zn, Zn+Pb e Cd+Zn+Pb foram encontrados valores maiores que a unidade para o Zn (Quadro 5). Nestes tratamentos houve maior concentração do metal na parte aérea, o que pode ser explicado em parte pela menor produção de biomassa.

CONCLUSÕES

- Nas concentrações utilizadas, o Zn foi o elemento que apresentou maior efeito fitotóxico, evidenciado pela redução na produção de biomassa.
- Houve influência da competição entre Cd, Zn e Pb sobre a distribuição destes metais nas frações do solo, prevalecendo o Pb na fração matéria orgânica, o Zn na fração trocável e o Cd na fração solúvel em água.
- O efeito do antagonismo entre Cd e Zn influenciou a absorção e a translocação de Zn pela mucuna.
- A presença de Pb não exerceu influência na distribuição de Cd na mucuna, mas exerceu na de Zn, favorecendo a translocação deste último.

REFERÊNCIAS

- ABREU, C. A.; ABREU, M. F.; BERTON, R. S. Análise química de solo para metais pesados. **Tópicos em Ciência do Solo**, Viçosa, v.2, p. 645-692, 2002.
- ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. **Tópicos de Ciência do Solo**, Viçosa, v.1, p. 299-351, 2000.
- AGBENIN, J. O.; OLOJO, L. A. Competitive adsorption of copper and zinc by a Bt horizon of a savanna Alfisol as affected by pH and selective removal of hydrous oxides and organic matter. **Geoderma**, Amsterdam, v.119, p. 85–95, 2004.
- ALLEONI, L. R. F.; BORBA, R. P.; CAMARGO, O. A. Metais pesados: da cosmogênese aos solos brasileiros. **Tópicos em Ciência do Solo**, Viçosa, v.4, p. 1-42, 2005.
- ALLOWAY, B. J. Heavy metals in soils. Glasgow: Blackie Academic and Professional, 1990. 339p.
- BARONA, A.; ARANGUIZ, I.; ELIÁS, A. Metal associations in soils before and after EDTA extractive decontamination: implications for effectiveness of further clean-up procedures. **Environmental Pollution**, Essese, v.113, p. 79-85, 2001.
- BLAYLOCK, M. J. et al. Enhanced accumulation of Pb in indian mustard by soil applied chelating agents. **Environmental Science Technology**, Washington, v.31, p. 860-865, 1997.
- CAVALCANTI, F. J. A. **Adubação para o Estado de Pernambuco**. Recife: IPA, 1998.
- CHAO, T.T.; ZHOU, L. Extraction techniques for selective dissolution of amorphous iron oxides from soils and sediments. **Journal of Soil Science Society of America**, Madison, v.47, p. 224-232, 1983.

CHANEY, R. L. et al. Phytoremediation of soils metals. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v.8, p. 279-284, 1997.

CUNNINGHAM, S. D.; BERTI, W. R.; HUANG, J. W. Phytoremediation of contaminated soils. **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, v.13, p. 393-397, 1995.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. 2.ed. Rio de Janeiro, 1997. 212p.

FONTES, M. P. F.; GOMES P. C. Simultaneous competitive adsorption of heavy metals by the mineral matrix of tropical soils. **Applied Geochemistry**, Oxford, v.18, p. 795–804, 2003.

GARDEA-TORRESDEY, J. L. et al. Effects of chemical competition for multi-metal binding by *Medicago sativa* (alfalfa). **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. B69, p. 41–51, 1999

GUPTA, A. K.; SINHA, S. Chemical fractionation and heavy metal accumulation in the plant of *Sesamum indicum* (L.) var. T55 grown on soil amended with tannery sludge: selection of single extractants. **Chemosphere**, Oxford, 2005. No prelo.

HAN, F. X. et al. New approach to studies of heavy metals redistribution in soil. **Advances in Environmental Research**, v.8, p. 113-120, 2003.

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

McBBRIDE, M. B. Environmental chemistry of soils. New York: Oxford University Press, 1994. 406p.

McGRATH, S. P.; ZHAO, F. Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v.14, p. 277-282, 2003.

MEAGHER, R. B. Phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants. **Current Opinion in Plant Biology**, v.3, p. 153-162, 2000.

NASCIMENTO, C. W. A.; FONTES, R. L. F.; NEVES, J. C. L. Mineral composition of two brazilian corn cultivars as a function of cadmium in the nutrient solution. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.21, n.11, p. 2369-2379, 1998.

NASCIMENTO, C. W. A.; FONTES, R. L. F.; MELICIO, A. C. F. D. Copper availability as related to soil copper fractions in oxisols under liming. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.60, n.1, p. 167-173, 2003.

NOVOZAMSKY, I.; LEXMOND, T.M.; HOUBA, V.J.G. A single extraction procedure of soil for evaluation of uptake of some heavy metals by plants. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, New York, v.51, p. 47-58, 1993.

NYAMANGARA, J. Use of sequential extraction to evaluate zinc and copper in a soil amended with sewage sludge and inorganic metal salts. **Agriculture Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v.69, p. 135-141, 1998.

QUARTACCI, M. F. et al. Phytoextraction of metals from a multiply contaminated soil by Indian mustard. **Chemosphere**, Oxford, 2005. No prelo.

RASKIN, I.; SMITH R. D.; SALT, D. E. Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. **Current Opinion in Biology**, v.8, p. 221-226, 1997.

RIBEIRO-FILHO, M. R. et al. Metais pesados em solos de área de rejeitos de indústria de processamento de zinco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.23, p. 453-464, 1999.

SERRANO, S. et al. Competitive sorption of cadmium and lead in acid soils of Central Spain. **Geoderma**, Amsterdam, v.124, p. 91–104, 2005.

SHUMAN, L.M. Fractionation method for soil microelements. **Soil Science**, Baltimore, v.140, p. 11-22, 1985.

SIPOS, P. et al. Effect of soil composition on adsorption of lead as reflected by a study on a natural forest soil profile. **Geoderma**, Amsterdam, v.124, p. 363-374, 2005.

SPARKS, D. L. **Environmental soil chemistry**. California: Academic Press, 1995. 267p.

SRIVASTAVA, P.; SINGH, B.; ANGOVE, M. Competitive adsorption behavior of heavy metals on kaolinite. **Journal of Colloid and Interface Science**, New York, v.290, p. 28–38, 2005.

CAPÍTULO 3: TOLERÂNCIA E ACUMULAÇÃO DE Pb E Zn EM MUCUNA APÓS APLICAÇÃO DE SILICATO E ÁCIDO CÍTRICO

RESUMO

Garantir a produção de biomassa e acumulação de metais pesados em plantas são premissas para fitoextração eficiente. Para atingir estes objetivos, algumas estratégias podem ser utilizadas, como o uso de amenizantes para garantir o crescimento das plantas e a aplicação de agentes quelantes para aumentar a mobilidade e acumulação de metais. Visando minimizar os efeitos fitotóxicos sobre mucuna cultivada em solo contaminado por Zn (200 mg kg^{-1}) e Pb (300 mg kg^{-1}), foram adicionadas doses crescentes de Si (50-100-200-400-500 mg kg^{-1}) na forma de silicato de cálcio. Foram também adicionados 15 mmol kg^{-1} de ácido cítrico, em 3 doses de 5 mmol kg^{-1} com o objetivo de induzir a fitoextração. Os resultados demonstraram que o Si reduziu efeitos fitotóxicos de Zn e Pb, garantindo o crescimento da planta, mas a concentração de ácido cítrico utilizada não foi eficiente para induzir a fitoextração.

SUMMARY

High biomass yield and heavy metal accumulation are necessary for efficient phytoextraction. Some soil amendements could reduce metal availability and chelating agents can enhance metal uptake. This study tested Si concentrations (50-100-200-400-500 mg kg^{-1}) aiming at reducing metal toxicity in Velvet bean (*Mucuna aterrina*) cultivated in a soil contaminated by Zn (200 mg kg^{-1}) and Pb (300 mg kg^{-1}). Citric acid (15 mmol kg^{-1}) was also applied to soil for enhancing metal phytoextraction. Silicon appeared to reduce toxicity of Zn and Pb, but citric acid did not enhance substantially phytoextraction.

INTRODUÇÃO

A fitoextração é um processo no qual as plantas absorvem e concentram contaminantes na parte aérea, sendo considerada a estratégia de fitorremediação mais eficiente para descontaminação, mas também tecnicamente a mais difícil (KRÄMER, 2005). É uma tecnologia que apresenta como vantagens não somente os baixos custos envolvidos na sua implantação, mas também o volume reduzido de resíduos gerados que podem ser processados em segurança (GARBUSU e ALKORTA, 2001) e que é bem menor do que aqueles produzidos por outras alternativas de remediação mais invasivas (RASKIN et al., 1997).

Segundo McGrath e Zhao (2003), tanto uma boa produção de biomassa quanto a acumulação de metais nos tecidos vegetais são necessárias para que a fitoextração seja eficiente. As plantas hiperacumuladoras são espécies que naturalmente acumulam grandes concentrações de metais em seus tecidos, cerca de 10 a 500 vezes mais do que é acumulado por plantas não acumuladoras (CHANEY et al., 1997). No entanto, as hiperacumuladoras apresentam desvantagens que limitam sua utilização em programas de fitoextração, como pequena produção de biomassa, acumulação de um elemento específico e crescimento endêmico (CUNNINGHAM et al., 1995). Estas limitações desqualificam as hiperacumuladoras para fitorremediação comercial em solos contaminados por metais (NASCIMENTO et al., 2006).

Uma alternativa seria o cultivo de plantas produtoras de grande quantidade de biomassa associado à aplicação de agentes quelantes. Estas substâncias formam complexos com os íons metálicos, aumentando sua disponibilidade no solo e a habilidade das plantas para acumular estes elementos (RASKIN et al., 1997; NASCIMENTO et al., 2006). Esta é uma prática conhecida como fitoextração induzida (GARBUSU e ALKORTA, 2001) e que pode tornar-se comercialmente viável (KRÄMER, 2005).

Blaylock et al. (1997), cultivando mostarda indiana em solos contaminados com Cd, Cu, Ni, Zn e Pb, observaram aumento da acumulação dos metais na parte aérea após aplicação de EDTA e outros quelantes sintéticos. Shen et al. (2002) observaram aumentos significativos das concentrações de Pb na parte aérea de repolho após aplicação de EDTA. Entretanto, quelantes sintéticos como o EDTA, aumentam o risco, associado à baixa degradabilidade desses quelatos, de lixiviação dos metais no perfil do solo (WU et al., 2004; JIANG et al., 2003; MEERS et al., 2004). Uma alternativa seria a utilização de ácidos orgânicos de baixo peso molecular que são degradados mais rapidamente no solo (MEERS et al., 2004). Estes ácidos são provavelmente os exudatos mais importantes nos sistemas naturais de fitoextração (NASCIMENTO e XING, 2006). Dentre os ácidos orgânicos naturais, pode-se destacar o ácido cítrico. Vários trabalhos referem-se à eficiência deste ácido para aumentar a mobilidade dos metais no solo e a absorção pelas plantas (KRISHNAMURTI et al., 1997; CHEN et al., 2003; NASCIMENTO et al., 2006).

Como a habilidade de cultivar plantas produtoras de elevada biomassa em solos contaminados por metais pesados é determinante para o sucesso da fitoremediação (BLAYLOCK et al., 1997), aumentar a disponibilidade de metais sem diminuir a produção de biomassa é uma estratégia para desenvolver esta tecnologia. A utilização de plantas para remediação pode ser melhorada pelo emprego de práticas agrônômicas e pelo uso de amenizantes, que contribuem para o maior desenvolvimento das plantas (CUNNINGHAM e OW, 1996) e que podem tornar a fitorremediação viável comercialmente (CHANEY et al., 1997).

Diferentes trabalhos têm avaliado os efeitos amenizantes do Si em condições de estresse biótico e abiótico. A adição de Si reduziu a incidência de doenças na cultura de arroz, provavelmente por meio da formação de uma camada silicatada na parede celular (DATNOFF et al., 1997). Esta camada silicatada também evita perdas de água por transpiração (MARSCHNER, 1995). Romero-Aranda et al. (2005), observaram que a adição de Si aliviou os efeitos da salinidade sobre tomate.

Accioly (2001), trabalhando com mudas de eucalipto, observou que o aparecimento dos sintomas de toxidez foram retardados com a aplicação de silicato de cálcio. Adição de Si aumentou a produção de biomassa de milho e o acúmulo de Cd nos tecidos vegetais, sugerindo que o Si reduziu efeitos tóxicos do metal (LIANG et al., 2005). Neumann e Nieden (2001) observaram a formação de compostos de silicato de Zn em vários compartimentos de *Cardaminopsis halleri*, sugerindo um mecanismo biológico de tolerância a metais pesados.

Em plantas de *Cucumis sativus* tratadas com Si foi observada redução de Mn no simplasto e aumento das ligações deste metal com a parede celular, reduzindo a disponibilidade e o efeito tóxico do elemento (ROGALLA e RÖMHELD, 2002). Resultados semelhantes foram obtidos por Iwasaki et al. (2002) que trabalharam com feijão-de-corda e observaram redução de efeitos tóxicos de Mn. Dados como estes sugerem que a ação amenizante do Si ocorre nos tecidos vegetais. Entretanto, é importante destacar que estes trabalhos foram conduzidos em solução nutritiva, não sendo avaliados os efeitos do Si sobre a mobilidade dos metais no solo.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito amenizante do silicato de cálcio em mucuna preta cultivada em solo contaminado por Zn e Pb, considerando a ação do Si no solo. Além disso, objetivou-se também avaliar a ação do ácido cítrico no aumento da absorção e translocação de Zn e Pb por mucuna preta (*Mucuna aterrina*) tratada com silicato, como forma de indução da fitoextração.

MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos foram conduzidos em casa de vegetação e nos laboratórios de Química e Fertilidade do Solo da Universidade Federal Rural de Pernambuco. O solo utilizado foi uma amostra de Argissolo Vermelho Amarelo, coletada entre 0,30 e 0,60 m de profundidade no campus da universidade. A amostra foi seca ao ar, destorroada e passada em peneira de 2 mm. Foi realizada a caracterização física e química do solo de acordo com EMBRAPA (1997), cujos resultados encontram-se no Quadro 1.

Quadro 1. Atributos físicos e químicos do solo estudado

Areia	Silte	Argila	pH H ₂ O	Ca	Mg	K	Al	H+Al	m	P	C.O.
g kg ⁻¹				cmolc dm ⁻³					%	mg dm ⁻³	g kg ⁻¹
566	48	387	4,3	0,55	0,50	0,05	0,82	4,95	39,8	11,94	4,55

O solo foi incubado com Zn (200 mg kg⁻¹) e Pb (300 mg kg⁻¹) cujas fontes foram carbonato desses metais e doses de silicato de cálcio (50 – 100 - 200 – 400 – 500 mg kg⁻¹). Não foi necessário corrigir a acidez do solo porque os tratamentos com silicato de cálcio elevaram o pH (Quadro 2). O solo foi mantido em sacos plásticos, com umidade em torno de 80% da capacidade de campo durante 35 dias. Após este período, o solo foi colocado em vasos com capacidade para 1 kg. Foi realizada fertilização de plantio com 250 mg kg⁻¹ de N, 150 de K, 240 de P, 100 de S, 1 de B, 4 de Mn, 2 de Fe, 0,2 de Mo (NASCIMENTO et al., 2006) e a umidade corrigida para 60% da capacidade de retenção de água do solo no vaso utilizado no experimento. Esta capacidade foi obtida por meio de um ajuste, no qual o solo foi colocado no vaso que seria utilizado e saturado durante 24 hs. Após este período, permitiu-se o escoamento de água por gravidade durante 2 hs. O teor de umidade encontrado após este intervalo de tempo é equivalente à capacidade de campo no vaso.

Quadro 2. Valores médios de pH do solo antes do plantio e após 20 dias de incubação

Si (mg kg ⁻¹)	pH
0	5,88
50	6,25
100	6,08
200	6,29
400	6,41
500	6,40

Antes do plantio, sub-amostras do solo foram coletadas para realização de extração seqüencial, baseada no método de Shuman (1985), com fração solúvel em água estimada com CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ (NOVOZAMSKY et al., 1993) e fração óxidos conforme Chao e Zhou (1983). Sementes de mucuna preta (*Mucuna aterrina*) foram germinadas em papel toalha umedecido e após uma semana, foram transplantadas quatro plântulas para os vasos com o solo. Após uma semana de transplantio, foi realizado o desbaste, permanecendo duas plantas por vaso.

No 23° dia após o transplantio, foi aplicada uma dose de 5 mmol kg⁻¹ de ácido cítrico em metade dos tratamentos. A aplicação de ácido foi repetida no 26° e 29° dia. As plantas foram coletadas após 30 dias do transplantio. O solo foi novamente seco ao ar e destorroado para determinação dos teores de Si solúvel de acordo com a metodologia descrita por Raij e Camargo (1973). As raízes e as partes aéreas foram separadas, lavadas com água destilada e secas em estufa até peso constante. Foram obtidas as massas da matéria seca da parte aérea e das raízes. Estes materiais foram moídos em moinho tipo Wiley e após digestão nitro-perclórica, foram determinados os teores de Zn e Pb nos extratos por espectrofotometria de absorção atômica. Também foi realizada digestão da parte aérea em mufla para determinação de Si pelo método do azul de molibdênio segundo Furlani e Gallo (1978).

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com 3 repetições, compondo um arranjo fatorial de 6 doses de Si (0, 50, 100, 200, 400 e 500 mg kg⁻¹ de Si no solo) x 2 doses de ácidos cítrico (com e sem aplicação), totalizando 36 unidades experimentais. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, ajustando-se equações de regressão entre as variáveis analisadas e as doses de Si, e estabelecendo correlações entre as variáveis. Foi utilizado o programa de análises estatísticas Sisvar para Windows, versão 4.0, desenvolvido na Universidade Federal de Lavras.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Teores de Si, Zn e Pb no Solo

Os teores de Si solúvel aumentaram linearmente em função das doses de silicato de cálcio adicionadas ao solo (Figura 1). Nos tratamentos com aplicação de ácido cítrico, os teores de Si foram menores do que nos tratamentos sem aplicação. Os resultados sugerem que o ácido cítrico reduz a solubilidade de Si no solo, provavelmente porque este elemento encontra-se mais solúvel em pH mais elevado (KORNDÖRFER et al., 2005).

A adição de silicato de cálcio reduziu de maneira significativa os teores de Zn solúvel em água e trocáveis, sendo o efeito de redução mais evidenciado para os teores solúveis em água (Figura 2). A redução da disponibilidade pode estar relacionada com o aumento de pH provocado pelo silicato de cálcio (Quadro 2). Liang et al. (2005) observaram redução de teores disponíveis de Cd associada ao aumento de pH em solo com adição de metassilicato de sódio. Accioly (2001) não observou alteração nos teores de Zn, Cu e Cd em solo tratado com silicato de cálcio e extraídos pelo Mehlich-1.

Com aplicação de silicato, houve aumento acentuado dos teores de Zn ligados à matéria orgânica (Figura 2). Este efeito pode também estar relacionado com o aumento do pH provocado pelo silicato, em virtude da CTC pH-dependente da matéria orgânica (BAYER e BERTIOL, 1999). Nascimento et al. (2002) observaram efeito semelhante para Zn em solo submetido à calagem, ocorrendo maior retenção desse elemento pela matéria orgânica com o aumento do pH.

A adição do silicato de cálcio provocou redução dos teores trocáveis de Pb e aumento dos teores ligados à matéria orgânica, porém de forma menos acentuada do que a provocada nos teores de Zn (Figura 2). Os teores de Pb ligado aos óxidos de ferro amorfo e cristalino diminuíram com o aumento das doses de silicato, sendo este efeito maior para o Pb do que para o Zn.

As correlações entre os teores de Si solúvel e os teores de Zn e Pb nas frações foram altas e significativas para as frações mais biodisponíveis desses metais (Quadro 3). As baixas correlações com as frações oxídicas sugerem que o silicato não alterou a adsorção de Zn e Pb aos óxidos de ferro. Provavelmente, esse comportamento se justifica pelo valor de PIE dos óxidos, maiores que 7 (SPARKS, 1995). A faixa de pH obtida no experimento com a adição de silicato (Quadro 2) pode não ter provocado modificações significativas na superfície dos óxidos, não alterando fortemente as ligações destes com os metais.

Quadro 3. Correlações de Pearson entre teores de Si solúvel e os teores de Zn e Pb solúvel em água (S) e nas frações trocável (T), matéria orgânica (MO), óxido de ferro amorfo (OFA) e óxido de ferro cristalino (OFC)

	S	T	MO	OFA	OFC
Zn					
Si solúvel	-0,90*	-0,82*	0,86*	NS	-0,41*
Pb					
Si solúvel	<LD	-0,89*	0,78*	-0,51*	-0,52*

*P<0,05, NS: não significativo.

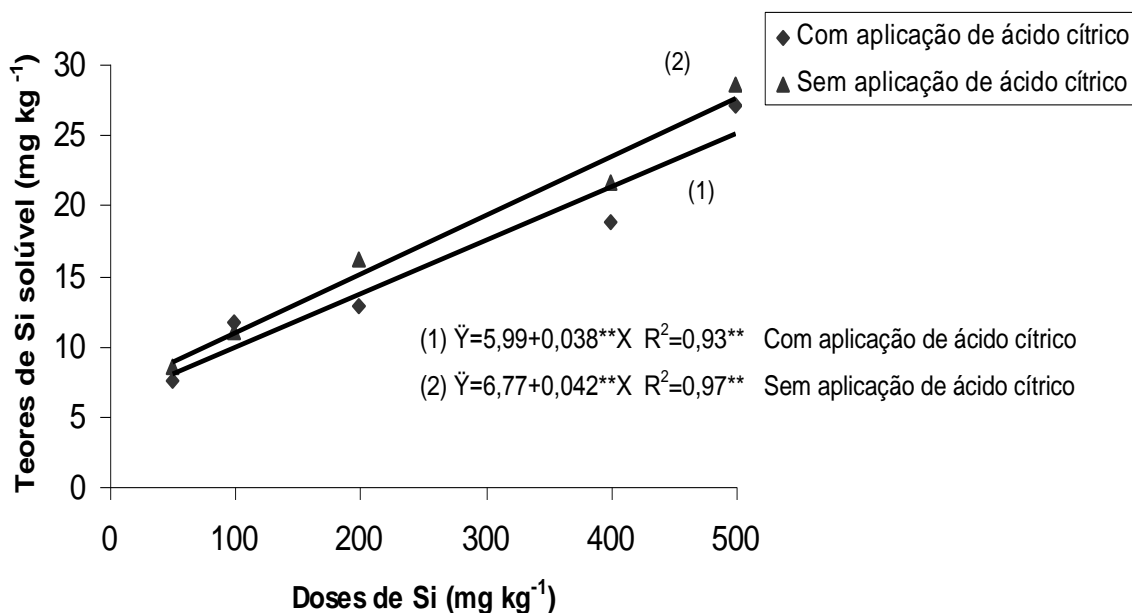


Figura 1: Teores de Si solúvel em solo em função das doses de Si aplicadas.

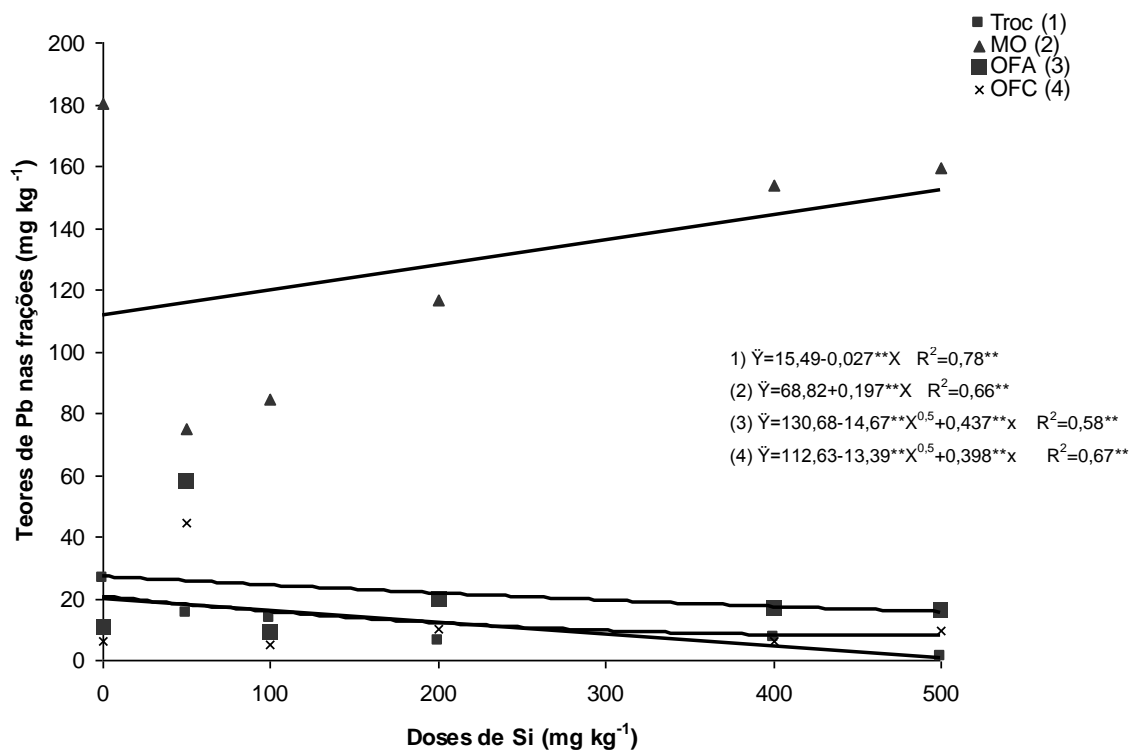
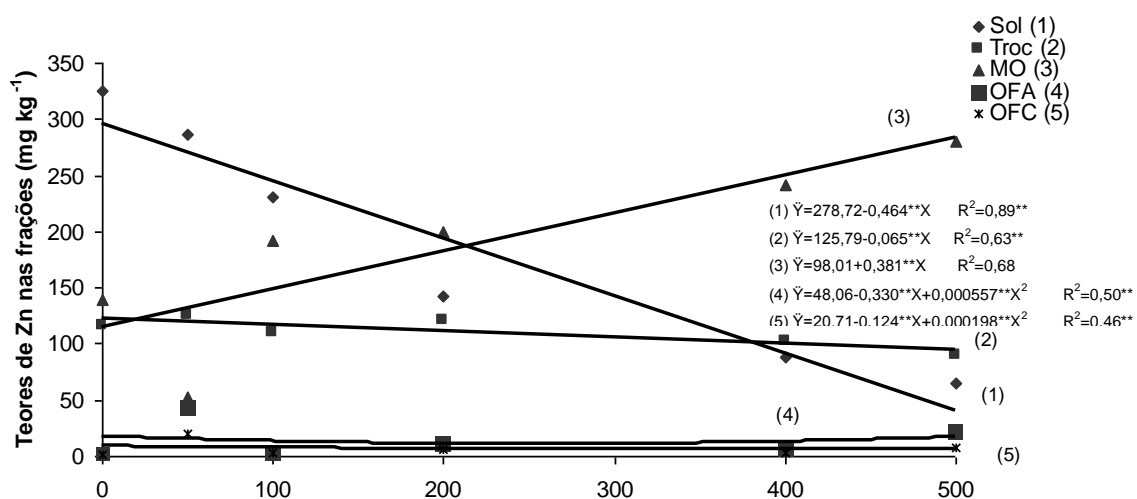


Figura 2: Teores de Zn e Pb nas frações em função das doses de Si aplicadas.

Produção de Matéria Seca

Com relação à produção de matéria seca da parte aérea, foi observado comportamento quadrático (Figura 3). Accioly (2001) verificou aumento do crescimento de mudas de eucalipto em solo contaminado tratado com silicato de cálcio. Os dados obtidos neste trabalho sugerem redução dos efeitos tóxicos dos metais devido ao efeito amenizante do silicato de cálcio. Não houve diferença significativa na produção de matéria seca da parte aérea quanto à aplicação de ácido cítrico.

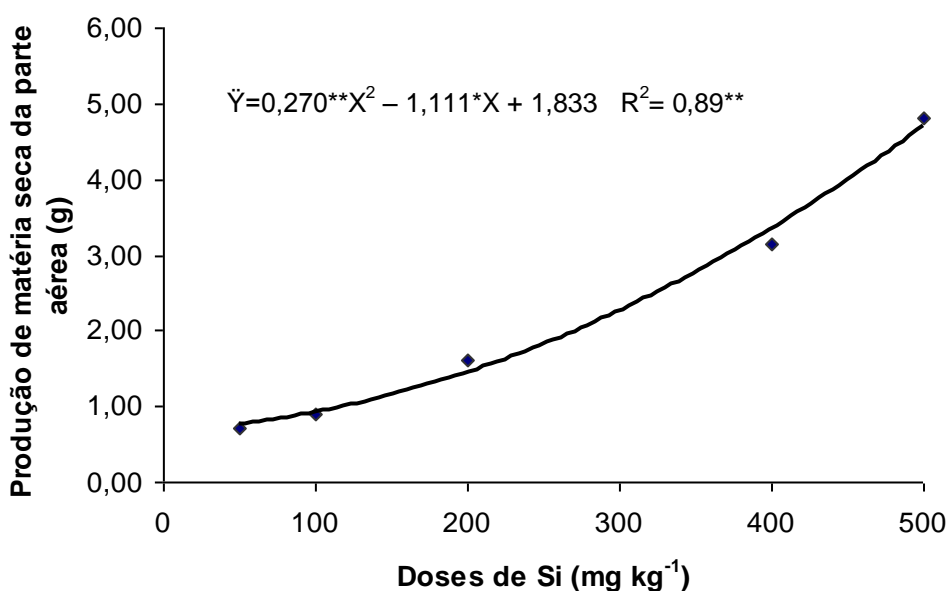


Figura 3: Produção de matéria seca da parte aérea de mucuna preta em função das doses de Si aplicadas.

As plantas no tratamento sem Si começaram a apresentar sintomas de fitotoxicidade, necrosando e morrendo no 7º dia após o transplântio (Figura 5). Nos demais tratamentos as plantas cresceram durante toda a condução do experimento, apresentando necrose das folhas após as aplicações sucessivas de ácido cítrico, em particular nos tratamentos com menores doses de Si (Figuras 5 e 6)

Teores de Si, Zn e Pb nos Tecidos Vegetais

A translocação de Si para a parte aérea foi significativa e proporcional ao aumento das doses de silicato (Figura 4). Nos tratamentos com adição de ácido cítrico foram observados teores menores de Si na planta, em particular nas doses mais altas. A correlação entre os teores de Si na parte aérea e os teores de Si solúvel (0,97*) indica biodisponibilidade deste elemento para a planta.

Os maiores teores de Zn na parte aérea foram encontrados nos tratamentos com menores doses de Si. Estes teores diminuíram linearmente com o aumento das doses (Figura 4). Este resultado deve-se à redução da disponibilidade do Zn no solo, em especial nas frações solúvel em água e trocável (Figura 2), provavelmente em consequência do aumento de pH provocado pelo silicato de cálcio (Quadro 2). Os resultados referentes aos teores nos tecidos vegetais foram semelhantes aos encontrados por Accioly (2001) que observou redução das concentrações de Zn e Cd com as doses crescentes de silicato de cálcio aplicadas.

Embora seja observada uma tendência de redução dos teores de Zn na raiz com o aumento das doses de Si, nenhum modelo de regressão pôde ser ajustado aos dados.

Nos tratamentos com aplicação de ácido cítrico foram observados teores mais altos de Zn para a parte aérea (Figura 4). Em nenhum dos tratamentos, mesmo com aplicação de ácido, os teores de Zn na parte aérea foram maiores do que na raiz. Este resultado sugere que para as doses de silicato adicionadas neste trabalho houve maior efeito amenizante do Si do que de mobilização dos metais promovida pela aplicação de ácido cítrico.

Assim como para os teores de Zn na raiz, não foi encontrada equação de regressão significativa para teores de Pb na raiz ou na parte aérea. Isto é evidenciado pela baixa correlação observada entre as concentrações de Si em solo e as concentrações de Pb (-0,57*).

Embora o ácido cítrico na concentração adicionada, tenha favorecido a absorção de Zn e Pb, a dose não foi suficiente para vencer a imobilização promovida pelo Si e aumentar o acúmulo dos metais na mucuna, ou seja, para as doses de silicato de cálcio estudadas, prevaleceu o efeito amenizante do Si.

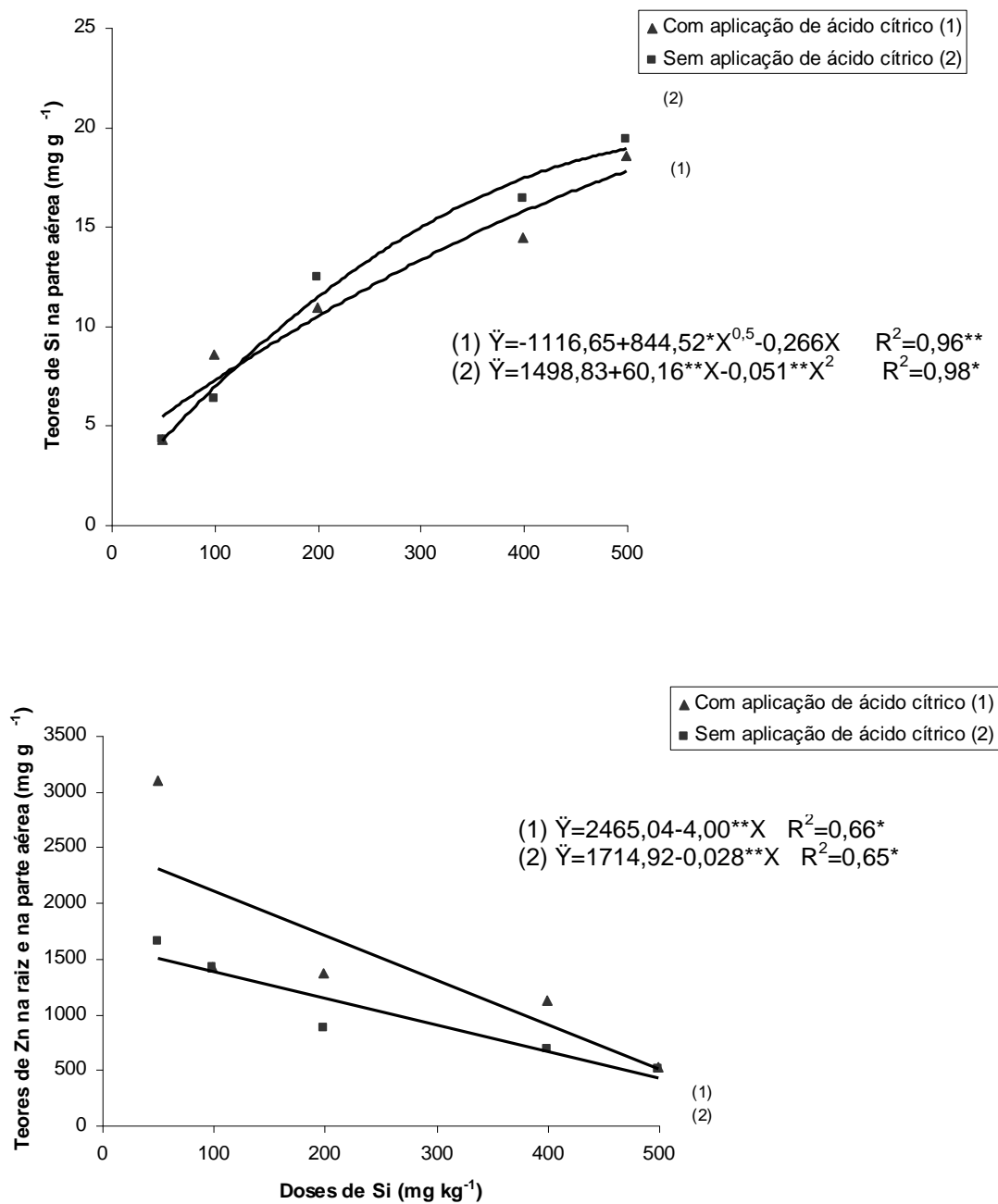


Figura 4: Teores de Si e Zn na parte aérea de mucuna preta em função das doses de Si adicionadas ao solo.

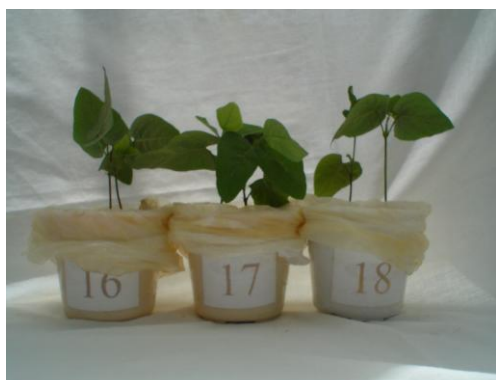
Tratamento sem Si**Tratamento com Si****100 mg kg⁻¹****400 mg kg⁻¹**

Figura 5: Imagens das plantas durante a condução do experimento. Necrose das plantas nos tratamentos sem Si. Diferença no crescimento entre os tratamentos com 100 mg kg⁻¹ e 400 mg kg⁻¹.

Após aplicação de ácido cítrico

200 mg kg⁻¹



500 mg kg⁻¹



Figura 6: Necrose das plantas após as aplicações sucessivas de ácido cítrico no tratamento com 200 mg kg⁻¹ e 500 mg kg⁻¹.

CONCLUSÕES

- A adição de silicato de cálcio alterou a distribuição de Zn e Pb entre as frações do solo, reduzindo os teores biodisponíveis e aumentando os teores ligados à matéria orgânica.
- O silicato de cálcio, aplicado nas doses utilizadas neste trabalho, teve efeito amenizante, aumentando a tolerância da mucuna preta à contaminação por Zn e Pb e reduzindo a acumulação destes metais pela planta.
- A dose aplicada de ácido cítrico não foi eficiente para induzir a fitoextração de Zn e Pb pela mucuna preta após a redução da disponibilidade destes metais promovida pela adição de silicato de cálcio.

REFERÊNCIAS

ACCIOLY, A. M. A. **Amenizantes e estratégias para estabelecimento de vegetação em solos de áreas contaminadas por metais pesados**. 2001. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

BAYER, C.; BERTIOL, I. Características químicas de um Cambissolo Húmico afetadas por sistemas de preparo, com ênfase à matéria orgânica. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.23, p. 687-694, 1999.

BLAYLOCK, M. J. et al. Enhanced accumulation of Pb in indian mustard by soil applied chelating agents. **Environmental Science Technology**, Washington, v.31, p. 860-865, 1997.

CHANEY, R. L. et al. Phytoremediation of soils metals. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v.8, p. 279-284, 1997.

CHAO, T.T.; ZHOU, L. Extraction techniques for selective dissolution of amorphous iron oxides from soils and sediments. **Journal of Soil Science Society of America**, v.47, p. 224-232, 1983.

CHEN, Y. X. et al. The role of citric acid on the phytoremediation of heavy metals contaminated soil. **Chemosfere**, Oxford, v.50, p. 807-811, 2003.

CUNNINGHAM, S. D.; BERTI, W. R.; HUANG, J. W. Phytoremediation of contaminated soils. **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, v.13, p. 393-397, 1995.

CUNNINGHAM, S. D.; OW, D. W. Promises and prospects of phytoremediation. **Plant Physiology**, Mineapolis, v.110, p. 715-719, 1996.

DATNOFF, L. E.; DEREN, C. W.; SNYDER, G. H. Silicon fertilization for disease management of rice in Florida. **Crop Protection**, Guildford, v.16, n.6, p. 525-531. 1997.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. 2.ed. Rio de Janeiro, 1997. 212p.

FURLANI, P.R.; GALLO, J.R. Determinação de Silício em material vegetal pelo método colorimétrico do azul-de-molibdênio. **Bragantia**, Campinas, v.37, p.V-XI, 1978.

GARBISU, C.; ALKORTA, I. Phytoextraction: a cost-effective plant based technology for the removal of metals from the environment. **Bioresource Technology**, Essese, v.77, p. 229-236, 2001.

JIANG, X. J. et al. Soil Cd availability to indian mustard and environmental risk following EDTA addition to Cd-contaminated soil. **Chemosphere**, Oxford, v.50, p. 813-818, 2003.

KORNDÖRFER, G. H.; NOLLA, A.; RAMOS, L. A. Available silicon in tropical soils and crop yield. In: SILICON AGRO CULTURE CONFERENCE, 2., 2005, Uberlândia. **Anais**, Uberlândia : 2005. p. 77-84.

KRÄMER, U. Phytoremediation: novel approaches to cleaning up polluted soils. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v.16, p. 1-9, 2005.

KRISHNAMURTI, G. S. R. et al. Kinetics of cadmium from soils as influenced by organic acids: implication in cadmium availability. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.26, p. 271-277, 1997.

IWASAKI, K. et al. Effects of silicon supply on apoplastic manganese concentrations in leaves and their relation to manganese tolerance in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). **Plant and Soil**, The Hague, v.238, p. 281-288, 2002.

LIANG, Y.; WONG, J. W. C.; WEI, L. Silicon-mediated enhancement of cadmium tolerance in maize (*Zea mays* L.) grown in cadmium contaminated soil. **Chemosphere**, Oxford, v.58, p. 475-483, 2005.

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

McGRATH, S. P.; ZHAO, F. Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v.14, p.277-282, 2003.

MEERS, E. et al. Enhanced phytoextraction: in search of EDTA alternatives. **International Journal of Phytoremediation**, Philadelphia, v.6, n.2, p. 95-109, 2004

NASCIMENTO, C. W. A.; XING, B. Phytoaccumulations of metals in plants: from soils to shoots – A Review. **Scientia Agricola**, 2006. No prelo.

NASCIMENTO, C. W. A.; AMARASIRIWARDENA, D.; XING, B. Comparison of natural organic acids and syntetic chelates for enhancing phytoextraction of metals from a multi-contaminated soil. **Environmental Pollution**, Essese, v.140, p. 114-123, 2006.

NASCIMENTO, C. W. A. et al. Fracionamento, dessorção e extração química de zinco em Latossolos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.26, p. 599-606, 2002.

NEUMANN, D.; NIEDEN, U. Silicon and heavy metal tolerance of higher plants. **Phytochemistry**, Elmsford, v.56, p. 685-692, 2001.

NOVOZAMSKY, I.; LEXMOND, T.M.; HOUBA, V.J.G. A single extraction procedure of soil for evaluation of uptake of some heavy metals by plants. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, New York, v.51, p. 47-58, 1993.

RAIJ, B. Van; CAMARGO, O.A. Sílica solúvel em solos. **Bragantia**, Campinas, v.32, n.11, p. 223-236, 1973.

RASKIN, I.; SMITH R. D.; SALT, D. E. Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. *Current Opinion in Biology*, London, v.8, p. 221-226, 1997.

RIBEIRO-FILHO, M. R. et al. Metais pesados em solos de área de rejeitos de indústria de processamento de zinco. **Revista Brasileira de Ciência**, Campinas, v.23, p. 453-464, 1999.

RICHMOND K. E.; SUSSMAN M. Got silicon? The non-essential beneficial plant nutrient. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v.6, p. 268–272. 2003

ROGALLA, H.; RÖMHELD, V. Role of lead apoplast in silicon-mediated manganese tolerance of *Cucumis sativus* L. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v.25, p. 549-555, 2002.

ROMERO-ARANDA, M. R.; JURADO, O.; CUARTERO, J. Silicon alleviates the deleterious salt effect on tomato plant growth by improving plant water status. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, 2005. No prelo.

SHEN, Z. G. et al. Lead phytoextraction from contaminated soil with high-biomass plants species. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.31, p. 1893-1900, 2002.

SHUMAN, L.M. Fractionation method for soil microelements. **Soil Science**, v.140, p. 11-22, 1985.

SPARKS, D. L. **Environmental soil chemistry**. California: Academic Press, 1995. 267p.

TEMMINGHOFF, E. J. M.; VAN der ZEE, S. M.; DE HAAN, F. A. M., Copper mobility in a copper-contaminated sand soil as affected by pH and solid and dissolved organic matter. **Environmental Science Technology**, Washington, v.31, p. 1109-1115, 1997.

WU, L. H. et al. EDTA enhanced phytoremediation of heavy metal contaminated soil with indian mustard and associated potential leaching risk. **Agriculture Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v.102, n.3, p. 307-3018, 2004.