

# LEGUMINOSAS COM POTENCIAL PARA REMEDIAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO POR METAIS PESADOS E BORO, SOB INFLUÊNCIA DE MICORRIZA ARBUSCULAR

ANA M. HONMA <sup>(1)</sup>; ADRIANA P. D. SILVEIRA <sup>(2)</sup>

Nº 0800001

## Resumo

Metais pesados (MPs), que são persistentes e tóxicos, causam perda da produtividade agrícola e alteração na diversidade microbiana, inibem a comunidade e alteram os processos biológicos do solo e podem se acumular nos alimentos. Na remediação de solo contaminado pode-se utilizar a fitorremediação com plantas micorrizadas. O projeto teve como objetivo avaliar o efeito do estabelecimento da micorriza arbuscular no crescimento e em alguns aspectos fisiológicos da planta em condições de excesso de MPs e B. As leguminosas empregadas foram feijão de porco e feijão maravilha. O solo apresenta altos níveis de Zinco, Cobre, Pb e Boro e foi coletado na região de Piracicaba, SP, em uma área que recebeu resíduo de sucata automobilística. O experimento, em esquema fatorial 2x4, utilizou 2 espécies de leguminosas, com potencial para uso em remediação de solo, e duas espécies de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) – *Glomus etunicatum* e *Acaulospora scrobiculata*, um controle (sem inoculação de FMA, mas com FMAs nativos) e um controle com solo esterilizado (sem FMA), em delineamento inteiramente casualizado com 8 repetições. Foram analisados: matéria seca da parte aérea; teores de pigmentos fotossintetizantes - clorofilas e carotenóides nas folhas - atividade de fosfatase ácida e redutase do nitrato nas folhas e colonização micorrízica. A concentração de pigmentos fotossintetizantes variou com a leguminosa e o FMA associado. As leguminosas colonizadas por *A. scrobiculata* e por FMAs nativos apresentaram menor atividade da fosfatase ácida nas folhas. A inoculação de *A. scrobiculata* promoveu maior crescimento do feijão maravilha, enquanto que para o feijão de porco os próprios FMAs nativos do solo contaminado foram eficientes em manter maior crescimento da planta.

(1) Bolsista CNPq: Graduação em Ciências Biológicas, PUC Campinas, Campinas-SP, e-mail: ana\_mayumi@hotmail.com

(2) Orientador: Pesquisadora científica do Instituto Agrônomo- IAC, Centro de Solos e Recursos Ambientais, CP-28, CEP-13010-970, Campinas, SP. E-mail: apdsil@iac.sp.gov.br

Palavras chave: fitorremediação, fungos micorrízicos arbusculares, fosfatase ácida e redutase do nitrato.

### **Abstract**

Heavy metals (HM), that are persistent and toxic, may cause decrease in agricultural productivity and changes in microbial diversity, inhibit the community and affect soil biological processes and can accumulate in food. In order to remediate contaminated soil, phytoremediation is a viable method. The objective was to assess the effect of the establishment of arbuscular mycorrhizae on plant growth and some physiological aspects under HM and B excessive concentrations in soil. The legumes used were jackbeans and “maravilha” beans. The soil showed high levels of zinc, copper, Pb and Boron, and was sampled in Piracicaba, SP, in an area that received automobilist residue. The experiment, in factorial scheme 2x4, used 2 species of legumes and two species of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) - *Glomus etunicatum* and *Acaulospora scrobiculata*, a control (without inoculation of FMA) and a control with sterilized soil in a completely randomized design with 8 repetitions. It was analyzed: shoot dry weight, concentration of photosynthetic pigments - chlorophylls and carotenoids in leaves; activity of acid phosphatase and nitrate reductase in leaves and mycorrhizal colonization. Pigments concentrations varied according to plant- AMF association. Both legumes colonized by *A. scrobiculata* and native AMF showed less activity of acid phosphatase. The inoculation of *A. scrobiculata* promoted higher “maravilha” beans growth, while to jackbeans better growth was achieved by native AMF colonization.

Key words: Phytoremediation, arbuscular mycorrhizal fungi, acid phosphatase and nitrate reductase.

### **Introdução**

Hoje em dia a contaminação dos solos por MPs, causada por processos naturais ou pela atividade humana, é um dos mais sérios problemas ambientais, devido sua persistência e alto poder de toxicidade. A preocupação ambiental em relação às áreas onde esses elementos se acumulam tem aumentado, pois o problema é agravado quando os MPs são absorvidos pelas plantas e passam a fazer parte da cadeia alimentar. Níveis excessivos de MPs podem influenciar seriamente processos biológicos de grande importância no meio edáfico. Portanto, é importante aprofundar os conhecimentos sobre os efeitos de níveis excessivos de metais na

microbiota edáfica assim como nas simbioses que envolvem microorganismos do solo, como os fungos micorrízicos e bactérias fixadoras de nitrogênio.

O projeto tem como objetivo avaliar o efeito do estabelecimento da micorriza arbuscular no crescimento e alguns aspectos fisiológicos da planta em solo com excesso de MPs e B, usando as leguminosas feijão maravilha e feijão de porco. O solo com resíduo, que apresenta altos níveis de Zn, Cu, Pb e B, foi coletado na região de Piracicaba, SP, em uma área que recebeu resíduo de sucata automobilística, pretensamente como fonte de micronutrientes para cana-de-açúcar.

### **Material e métodos**

O solo com resíduo, que apresenta altos níveis de Zn, Cu, Pb e B, foi coletado em uma área que recebeu resíduo de sucata automobilística, pretensamente como fonte de micronutrientes para cana-de-açúcar. A área está localizada no Sítio São Luiz, no Bairro Santa Terezinha, no município de Piracicaba SP. O solo é um Cambissolo háplico distrófico, textura argilosa, cultivado tradicionalmente com cana-de-açúcar. O solo foi coletado na camada de 0–20 cm e peneirado para a montagem do experimento.

O experimento, em esquema fatorial 2x4, utilizou 2 espécies de leguminosas - feijão de porco e feijão maravilha, visando avaliar seu potencial como plantas remediadoras de solos contaminados, e duas espécies de FMA – *Glomus etunicatum* e *Acaulospora scrobiculata*, inoculadas em solo não desinfestado, um controle (sem inoculação de FMA, mas com somente FMAs nativos) e um controle com solo desinfestado (para medir a eficiência dos FMAs nativos), em delineamento inteiramente casualizado com 8 repetições. O solo foi acondicionado em vasos de plástico de 1,5 L. As sementes foram desinfestadas superficialmente com hipoclorito de sódio 2,5% e semeadas nos vasos após a inoculação do FMA. As plantas foram irrigadas com água destilada de acordo com a necessidade. As plantas foram colhidas 60 dias após semeadura.

### **Análises realizadas**

1- Crescimento das plantas: A parte aérea foi cortada na altura do colo, seca em estufa a 60 °C. O sistema radicular foi separado, lavado e acondicionado em álcool 50% para posterior determinação da colonização micorrízica.

2- Colonização das raízes por fungos micorrízicos arbusculares. Utilizou-se o método da placa quadriculada sob microscópio estereoscópico (Giovanetti e Mosse, 1980), após a

despigmentação da raiz com KOH (25 g L<sup>-1</sup>) e coloração com azul tripano (Phyllips e Hayman, 1970).

3- Determinação do teor de pigmentos fotossintetizantes, clorofilas. Utilizou-se dimetilsulfóxido. Os resultados foram expressos em µg mL<sup>-1</sup> de extrato.

4- A atividade da fosfatase ácida foi determinada segundo Besford (1980). Os resultados foram expressos em µg de p-nitrofenolfosfato g<sup>-1</sup>.

5- Determinação da atividade da redutase do nitrato nas folhas. Utilizou-se substrato tamponado. Os resultados foram expressos em µmoles NO<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>.

### Análise estatística:

Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey para comparação de médias pelo SANEST.

### Resultados e Discussão

A concentração de pigmentos fotossintetizantes variou com a leguminosa e o FMA associado (Tabela 1). No geral, as plantas colonizadas por fungos nativos apresentaram maiores concentrações de pigmentos.

**TABELA 1.** Teor de Clorofila a, Clorofila b, Clorofila a+b e carotenóides nas folhas de leguminosas não colonizadas (SE) ou colonizadas por fungos micorrízicos arbusculares.

Leguminosas/tratamentos	Clorofila a	Clorofila b	Clorofila a+b	Carotenóides
<b>Feijão maravilha FN</b>	1,991Bb	12,249Aa	14,240Aa	570,783Aa
<b>GE</b>	3,394Aa	6,675Ca	10,069Aa	383,289Ca
<b>SE</b>	3,405Aa	9,423Ba	12,828Aa	517,424Aa
<b>AS</b>	2,451Ba	8,586Ba	11,037Aa	441,186Ba
<b>Feijão de porco FN</b>	3,151Aa	9,054Ab	12,205Aa	499,377Ab
<b>GE</b>	1,280Bb	6,416Ba	7,696Cb	321,915Ba
<b>SE</b>	3,658Aa	5,745Bb	9,403Bb	345,876Bb
<b>AS</b>	1,491Bb	9,081Aa	10,572Aa	420,054Aa

Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Letras minúsculas comparam entre leguminosas, enquanto as maiúsculas, entre fungos micorrízicos. NM – não micorrizado, FN – fungos nativos, GE – *Glomus etunicatum*, AS – *Acaulospora scrobiculata*.

O feijão de porco foi a leguminosa que apresentou maior atividade da enzima fosfatase ácida na

folha, o que pode indicar que as plantas estavam deficientes em P (Tabela 2). As leguminosas colonizadas por *Acaulospora scrobiculata* e por FMAs nativos apresentaram menor atividade da fosfatase ácida, indicando que estavam melhor supridas em P. Maior atividade da redutase do nitrato foi observada nas plantas do feijão maravilha crescidas no solo esterilizado e nas plantas de feijão de porco colonizadas por *G. etunicatum* (Tabela 2). Maior atividade desta enzima pode indicar que a planta absorveu maior quantidade de N- nítrico do solo. Entretanto, também pode ser indicativo de estresse metabólico causado por excesso de MP no solo.

**TABELA 2.** Atividade de fosfatase ácida e redutase do nitrato nas folhas de leguminosas não colonizadas (SE) ou colonizadas por fungos micorrízicos arbusculares.

Leguminosas	FN	GE	SE	AS
$\mu\text{g de p-nitrofenolfosfato g}^{-1} \text{ h}^{-1}$				
<b>Feijão Maravilha</b>	0,480Db	2,400Cb	4,320Bb	6,240Ab
<b>Feijão de porco</b>	8,160Ba	9,360ABa	10,560Aa	11,760Aa
$\mu\text{mol NO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$				
<b>Feijão Maravilha</b>	0,538Ba	0,563Bb	0,625Aa	0,467BCa
<b>Feijão de porco</b>	0,483Ba	0,846Aa	0,467Bb	0,467Ba

Médias seguidas por letra igual não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Letras minúsculas comparam entre leguminosas, enquanto as maiúsculas, entre fungos micorrízicos. NM – não micorrizado, FN – fungos nativos, GE – *Glomus etunicatum*, AS – *Acaulospora scrobiculata*.

O feijão maravilha apresentou maior produção de matéria seca que o feijão de porco (Tabela 3). O feijão maravilha colonizado por *A. scrobiculata* superou os demais tratamentos, enquanto que a colonização do feijão de porco pelos FMAs nativos promoveu maior produção de matéria seca de parte aérea. Ambas as leguminosas colonizadas por *G. etunicatum* apresentaram menor crescimento que as plantas não micorrizadas, indicando efeito deletério deste FMA nas condições do experimento.

**TABELA 3.** Matéria seca da parte aérea de leguminosas colonizadas ou não (SE) por fungos micorrízicos arbusculares.

Leguminosas	FN	GE	SE	AS
$\text{g}$				
<b>Feijão Maravilha</b>	18,319ABa	16,029Ba	18,389ABa	20,834Aa
<b>Feijão de porco</b>	10,846Ab	3,460Cb	6,618Bb	5,466Bb

Médias seguidas por letra igual não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Letras minúsculas comparam entre leguminosas, enquanto as maiúsculas, entre fungos micorrízicos. NM – não micorrizado, FN – fungos nativos, GE – *Glomus etunicatum*, AS – *Acaulospora scrobiculata*.

Maior colonização micorrízica ocorreu no feijão maravilha na presença de *G. etunicatum* (Tabela 4), que justamente causou menor crescimento da planta (Tabela 3), indicando que, apesar do estabelecimento da associação micorrízica, esta não causou benefício à planta. As plantas de feijão de porco foram mais extensamente colonizadas por *G. etunicatum* e pelos FMAs nativos, sendo que o primeiro também causou diminuição no crescimento da planta. Entretanto, os fungos nativos estabeleceram uma simbiose eficiente, principalmente quando comparado às plantas não micorrizadas.

**TABELA 4.** Colonização micorrízica nas raízes de leguminosas não colonizadas (SE) ou colonizadas por fungos micorrízicos arbusculares.

Leguminosas/tratamento		Colonização
		micorrízica
		%
Feijão Maravilha	FN	35,185Bb
	SE	4,027Cb
	GE	65,986Ab
	AS	34,932Ba
Feijão de porco	FN	95,833Aa
	SE	21,965Ca
	GE	89,610Aa
	AS	38,793Ba

Médias seguidas por letra igual não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Letras minúsculas comparam entre leguminosas, enquanto as maiúsculas, entre fungos micorrízicos. NM – não micorrizado, FN – fungos nativos, GE – *Glomus etunicatum*, AS – *Acaulospora scrobiculata*.

### Conclusões

A inoculação de *A. scrobiculata* promoveu maior crescimento do feijão maravilha, enquanto que para o feijão de porco os próprios FMAs nativos do solo contaminado foram eficientes em manter maior crescimento da planta.

### Refências Bibliográficas

Diaz, G. & Honrubia, M. (1995) Effect of native and introduced arbuscular mycorrhizal fungi and nutrient uptake of *Ligneum spartum* and *Anhyllis cytisoides*. *Biologia Plantarum*, 37: 121-129.

Phillips, J.M.; Hayman, D.S. (1970) Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assesment of infection. *Trans. Brit. Mycol. Society*, 55: 158-161.