

SEÇÃO IX - POLUIÇÃO DO SOLO E QUALIDADE AMBIENTAL

DISPONIBILIDADE, ACÚMULO E TOXIDEZ DE CÁDMIO E ZINCO EM MILHO CULTIVADO EM SOLO CONTAMINADO⁽¹⁾

Karina Patrícia Vieira da Cunha⁽²⁾, Clístenes Williams Araújo do Nascimento⁽³⁾, Rejane Magalhães de Mendonça Pimentel⁽³⁾, Adriana Maria de Aguiar Accioly⁽⁴⁾ & Airon José da Silva⁽⁵⁾

RESUMO

O crescente acúmulo de metais pesados em solos, como consequência de atividades antrópicas, tem causado grande interesse nos estudos de extratores destes elementos, bem como no estabelecimento de seus níveis tóxicos críticos em solos. Um experimento foi realizado em casa de vegetação com os objetivos de: (a) estudar a eficiência de diferentes extratores (DTPA, EDTA, Mehlich-1 e Mehlich-3) na avaliação da disponibilidade de Cd e Zn para plantas de milho cultivadas em solo corrigido e não corrigido com calcário; (b) avaliar o efeito da aplicação de Cd e Zn no crescimento e acúmulo desses metais em plantas de milho, e (c) identificar sintomas visuais de toxidez e alterações anatômicas em folhas e raízes de milho expostas a esses metais. Para tanto, plantas de milho foram cultivadas durante 30 dias em um Argissolo Vermelho-Amarelo que recebeu doses crescentes de Cd (0, 1, 3, 5, 10 e 20 mg kg⁻¹) ou de Zn (0, 10, 30, 50, 100 e 150 mg kg⁻¹) com ou sem uma dose de calcário necessária à elevação do pH a 6,0. Ao final do período de cultivo, as plantas foram analisadas quanto aos teores de Cd e Zn, os quais foram correlacionados com os teores desses no solo por ocasião do plantio. Correlações altamente significativas foram encontradas entre todos os extratores testados e os teores de metais absorvidos pelas plantas. O aumento das doses de metais promoveu redução da produção de biomassa, além de aumentar o conteúdo destes metais nas plantas. Os níveis críticos tóxicos de Cd para o Argissolo variaram de 8,7 a 13,1 mg kg⁻¹, enquanto para Zn esses valores situaram-se entre 74,1 e 110,7 mg kg⁻¹, respectivamente, para solos com e sem calagem, dependendo do extrator considerado. Os sintomas visuais de toxidez de Cd foram clorose, encarquilhamento e enrolamento de folhas. Para Zn, os sintomas tóxicos mais

⁽¹⁾ Trabalho recebido em dezembro de 2006 e aprovado para publicação em dezembro de 2007.

⁽²⁾ Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE. CEP 52171-900 Recife (PE). E-mail: cunhakpv@yahoo.com.br

⁽³⁾ Professor do Departamento de Agronomia, UFRPE. Bolsista do CNPq. E-mail: clistenes@depa-ufrpe.br

⁽⁴⁾ Pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. Caixa Postal 7, CEP 44380-000 Cruz das Almas (BA). E-mail: adriana@cnpmf.embrapa.br

⁽⁵⁾ Graduando da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE. Bolsista PET/CAPES. E-mail: cumaru@hotmail.com

comuns foram clorose internerval e marginal, associada à necrose no ápice e margens das folhas. O aumento da lignificação das paredes celulares da epiderme e colênquima, do tecido vascular e da endoderme foi associado a níveis críticos tóxicos de Cd e de Zn no solo.

Termos de indexação: metais pesados, extratores químicos, lignificação, elementos-traços.

SUMMARY: *CADMIUM AND ZINC AVAILABILITY, ACCUMULATION AND TOXICITY IN MAIZE GROWN IN A CONTAMINATED SOIL*

A greenhouse experiment was carried out to evaluate: (a) the soil Cd and Zn availability to maize plants with and without liming, using the DTPA, EDTA, Mehlich-1, and Mehlich-3 extractants; (b) The effect of Cd and Zn doses on plant growth and metal accumulation in maize; and (c) toxicity symptoms and anatomical changes in leaves and roots exposed to Cd and zinc. Maize was grown for 30 days in soil contaminated with either Cd (0, 1, 3, 5, 10, 20 mg kg⁻¹) or Zn (0, 10, 30, 50, 100, 150 mg kg⁻¹). Highly significant correlations were found between all extractants tested and metal plant contents. The metal addition to soil reduced biomass production and increased Cd and Zn plant contents. The critical toxicity value for Cd in soil varied from 8.7 to 13.1 mg kg⁻¹, whereas for Zn this value lied between 74.1 to 110.7 mg kg⁻¹, depending on liming and extractant type. Interveinal and marginal chlorosis together with necrosis in the leaf apex and along the margins were observed for Zn treatments. On the other hand, leaf chlorosis, shriveling and curling were the most common symptoms in cadmium-damaged plants. Increased cell wall lignification in vascular tissues, epidermis, collenchyma, and endoderm cells were associated to critical toxicity values of Cd and Zn in soil.

Index terms: heavy metals, chemical extractants, lignification, trace elements.

INTRODUÇÃO

O incremento nos teores de metais pesados no solo tem ocorrido nas últimas décadas principalmente como consequência de atividades humanas, com destaque para mineração, emissões industriais, uso de lodo de esgoto ou fertilizantes e pesticidas na agricultura, além da disposição de resíduos no solo.

Um dos principais fatores que afeta a disponibilidade dos metais pesados às plantas é o pH do solo, o qual apresenta, em geral, relação inversa com a disponibilidade desses elementos (Wu et al., 2006). O efeito negativo da calagem na fitodisponibilidade dos metais é devido, principalmente, ao aumento da capacidade de troca catiônica e à formação de hidróxidos e carbonatos de baixa solubilidade, como: por exemplo: Cd(OH)₂ K_{ps} = 2,5 x 10⁻¹⁴; Zn(OH)₂ K_{ps} = 3,0 x 10⁻¹⁶; CdCO₃ K_{ps} = 1,8 x 10⁻¹⁴; ZnCO₃ K_{ps} = 1,0 x 10⁻¹⁰ (Alloway, 1990).

Para avaliar a disponibilidade de Cd e Zn em solos contaminados, métodos de extração simples, que usam sais neutros (CaCl₂), extratores ácidos (Mehlich-1; Mehlich-3) e agentes quelantes ou complexantes (DTPA; EDTA), têm sido muito utilizados. No entanto,

como o teor do elemento varia com o extrator, essas extrações têm apresentado graus variados de sucesso, para diagnose de deficiência ou toxidez desses elementos para as plantas (Nascimento et al., 2002). Vale salientar, ainda, que a maioria desses extratores foi desenvolvida para avaliar a disponibilidade de micronutrientes em solos agrícolas, onde os teores de metais são relativamente baixos. Esse fato pode ser uma das razões para a dificuldade em selecionar um extrator disponível adequado para solos nos quais os metais encontram-se em níveis tóxicos às plantas.

Sintomas de toxidez de metais pesados têm sido bastante estudados em várias espécies e sob diferentes condições (Sanità di Toppi & Gabrielli, 1999). Os efeitos visíveis da exposição a altas doses de metais pesados são, em geral, descritos como redução severa do crescimento, clorose e atrofia foliar. Além desses, relata-se, ainda, para o caso do Cd, o enrolamento das folhas (Benavides et al., 2005). A necrose e a clorose foliar são descritas como sintomas de toxidez de Zn e Cd e, freqüentemente, indicam distúrbios na nutrição mineral, como deficiência de Fe e redução da absorção e transporte de água e de vários elementos (Ca, Mg, K e Mn) pelas plantas (Siedlecka & Krupa, 1996; Benavides et al., 2005).

A capacidade de tolerar o estresse de metais pesados depende da natureza do tecido vegetal. Células epidérmicas, tricomas ou glândulas podem desintoxicar mais Cd que o mesófilo (Benavides et al., 2005). Tecidos de suporte dos feixes vasculares podem também estar envolvidos na acumulação de metais pesados (Vollenweider et al., 2005). De fato, esses tecidos são ricos em sítios de ligação de metais. A microlocalização de Cd, por exemplo, tem sido relacionada com a maior produção de pectinas, ligninas, polifenóis e taninos, compostos que disponibilizam sítios de ligação na parede celular (Sanita di Toppi & Gabbrielli, 1999; Vollenweider et al., 2005). O acúmulo de polifenóis insolúveis, como a lignina na parede celular secundária, tem sido reportado em plantas expostas a metais pesados. Porém, essa lignificação das paredes tem sido associada ao estresse oxidativo celular, tido como efeito indireto da toxidez dos metais (Pandolfini et al., 1992; Schutzenhubel et al., 2001; Díaz et al., 2001; Chaoui & Ferjani, 2005).

O presente trabalho teve por objetivo estudar a disponibilidade de Cd e Zn para plantas de milho com e sem calagem, utilizando diferentes extratores; avaliar o efeito de doses crescentes de Cd e Zn no crescimento e acúmulo desses metais em plantas de milho e identificar sintomas visuais de toxidez e alterações anatômicas em folhas e raízes de milho expostas a esses metais.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido em casa de vegetação na Universidade Federal Rural de Pernambuco, utilizando amostras superficiais (0–20 cm) de um Argissolo Vermelho-Amarelo, cujas características são: pH em água = 4,9; H + Al = 2,40 cmol_c dm⁻³; Al³⁺ = 0,92 cmol_c dm⁻³; Na⁺ = 0,17 cmol_c dm⁻³; K⁺ = 0,08 cmol_c dm⁻³; Ca²⁺ = 0,97 cmol_c dm⁻³; Mg²⁺ = 0,08 cmol_c dm⁻³; P = 9 mg dm⁻³; CO = 3,45 g kg⁻¹; argila = 340 g kg⁻¹; silte = 32 g kg⁻¹; e areia = 628 g kg⁻¹ (Embrapa, 1999).

Previamente ao cultivo do milho (*Zea mays* L.), cultivar AG 1051, o solo com ou sem calcário suficiente para elevar o pH a 6,0 recebeu doses crescentes de Cd (0, 1, 3, 5, 10 e 20 mg kg⁻¹) e Zn (0, 10, 30, 50, 100 e 150 mg kg⁻¹) a partir de soluções preparadas com seus respectivos cloretos. Em seguida, amostras de solo de 2 kg com a sem calagem foram acondicionadas em vasos e incubadas por um período de 30 dias com a umidade mantida em torno de 80 % da capacidade de retenção de água do solo. Após este período, amostras foram retiradas de cada vaso para determinação de pH e teores disponíveis de Cd e Zn por diferentes extratores. Durante o ensaio, os vasos foram mantidos com 80 % da capacidade de retenção de água, mediante pesagem e irrigação diárias para complementação da água perdida por evapotranspiração. Após o desbaste, duas plantas de milho por vaso foram cultivadas por

30 dias. Em seguida, as raízes e a parte aérea das plantas foram separadas, lavadas em água destilada e secas em estufa para obtenção da matéria seca. Estes materiais foram moídos em moinho tipo Willey e, após digestão nitro-perclórica (Embrapa, 1999), foram determinados os teores de Cd e Zn nos extratos por espectrofotometria de absorção atômica. Os teores de Cd e Zn no solo imediatamente antes do plantio foram também analisados por espectrofotometria de absorção atômica nas soluções obtidas com os extratores Mehlich-1 (De Filippo & Ribeiro, 1997), Mehlich-3 (Mehlich, 1984), DTPA (Lindsay & Norvell, 1978) e EDTA (Lantmann & Meurer, 1982).

O ensaio foi efetuado em blocos ao acaso em arranjo fatorial 6 x 2 x 2 (seis doses de metais, dois metais, com ou sem calagem) com três repetições, totalizando 72 unidades experimentais. Os resultados experimentais foram analisados com a aplicação do teste F à análise de variância e por meio de análises de correlação e de regressão, utilizando o software *Statistical Analysis System* (SAS, 1999).

Para estudar as alterações anatômicas, foram coletadas em cada planta amostras de folhas maduras e raízes, as quais foram imediatamente fixadas em solução de FAA 50 (formol, ácido acético e álcool a 50 %) por um período mínimo de 24–48 h, até à confecção de lâminas histológicas semipermanentes (Johansen, 1940).

Foram realizadas secções transversais da região mediana das folhas (nervura e mesófilo) e raízes. As secções foram clarificadas em solução comercial de hipoclorito de sódio a 30 %, neutralizadas em água acética a 1:500, lavadas em água destilada e coradas com azul de astra e safranina (Bukatsch, 1972). Em seguida, as lâminas foram montadas em glicerina aquosa a 50 % (Strasburger, 1924), selando-se as bordas da lamínula com esmalte incolor.

Imagens foram obtidas por meio de câmera digital acoplada a um microscópio óptico, com posterior observação dos caracteres anatômicos. De cada planta foram selecionadas as seis melhores imagens para comparar o grau de deposição de lignina por meio da intensidade de coloração nas paredes destas células. As comparações foram feitas em seis repetições por tratamento, considerando a intensidade de coloração nas paredes das células de metaxilema nos feixes vasculares, nas fibras intra e extravasculares, no colênquima, na epiderme e na endoderme. A deposição de lignina foi avaliada considerando proporções visuais subjetivas para a intensidade de vermelho causada pelo resultado da interação das substâncias na parede celular e a concentração de corante na solução utilizada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produção de matéria seca da parte aérea e das raízes de milho foi influenciada significativamente pela

adição das doses de Cd e Zn ao solo (Figura 1). Para o Zn, o comportamento quadrático da produção de matéria seca da parte aérea demonstra sua função na fisiologia do milho como um micronutriente (Figura 1). Verifica-se que a produção de matéria seca da parte aérea aumentou até 27,79 % com relação à testemunha, quando adicionado até 30 mg kg⁻¹ de Zn. Com base na redução de 21,74 % da produção, a dose de 100 mg kg⁻¹ de Zn provocou a maior declividade da curva de produção de biomassa. Isto equivale a teores de Zn disponível no solo variando de 74,1 a 110,7 mg kg⁻¹ para solos com e sem calagem, respectivamente (Quadro 1). Na Europa, em geral, considera-se como tóxico o teor de metal que causa a redução de 25 % no crescimento de planta (SAEFL, 1998). A Agência de Proteção Ambiental dos EUA (USEPA), por outro lado, considera nível tóxico o teor de metal que provoca redução de 50 % do crescimento da planta (King, 1996).

Para o Cd, o aumento das doses foi acompanhado de redução quadrática significativa na produção de matéria seca da parte aérea (Figura 1), o que qualifica um elemento não-essencial e de potencial fitotóxico elevado. A redução no crescimento e desenvolvimento vegetal causada pelo Cd deve-se à inibição de processos fisiológicos importantes, tais como a fotossíntese e a respiração (Benavides et al., 2005; Vollenweider et al., 2005). Para o Cd, a dose de 10 mg kg⁻¹ causou redução de cerca de 30 % da produção. Essa redução esteve

associada a teores de Cd disponível no solo entre 8,7 e 13,1 mg kg⁻¹ (Quadro 2).

Os teores de metais recuperados do solo, independentemente do extrator, foram maiores para os tratamentos sem calagem (Quadros 1 e 2). Os teores médios de Zn disponível, na ausência de calagem, foram maiores com os extratores ácidos (Mehlich-1 e Mehlich-3) seguidos pelos agentes quelantes EDTA e DTPA (Quadro 1). Resultados semelhantes foram observados em outros trabalhos (Nascimento et al., 2002; Araújo & Nascimento, 2005) e relacionam-se com o mecanismo de atuação dos extratores, com maior recuperação de Zn pelos extratores que atacam os colóides por dissolução ácida. O mesmo comportamento não foi observado para os tratamentos com calagem, possivelmente em razão do aumento da afinidade do Zn pelos sítios de adsorção específica no solo, o que diminuiu a capacidade extratora das soluções. Nos tratamentos com calagem, os teores de Zn determinados por DTPA e Mehlich-3 foram maiores (Quadro 1). Resultado diferente foi observado por Martins et al. (2003), que relataram a redução do Zn extraído por DTPA com a calagem, mostrando sua maior sensibilidade à mudança de pH, quando comparado a outros extratores. Tais autores, porém, trabalharam com baixos teores de Zn, refletindo essa discordância de resultados o comportamento diferenciado desses extratores em solos com teores altos de metais.

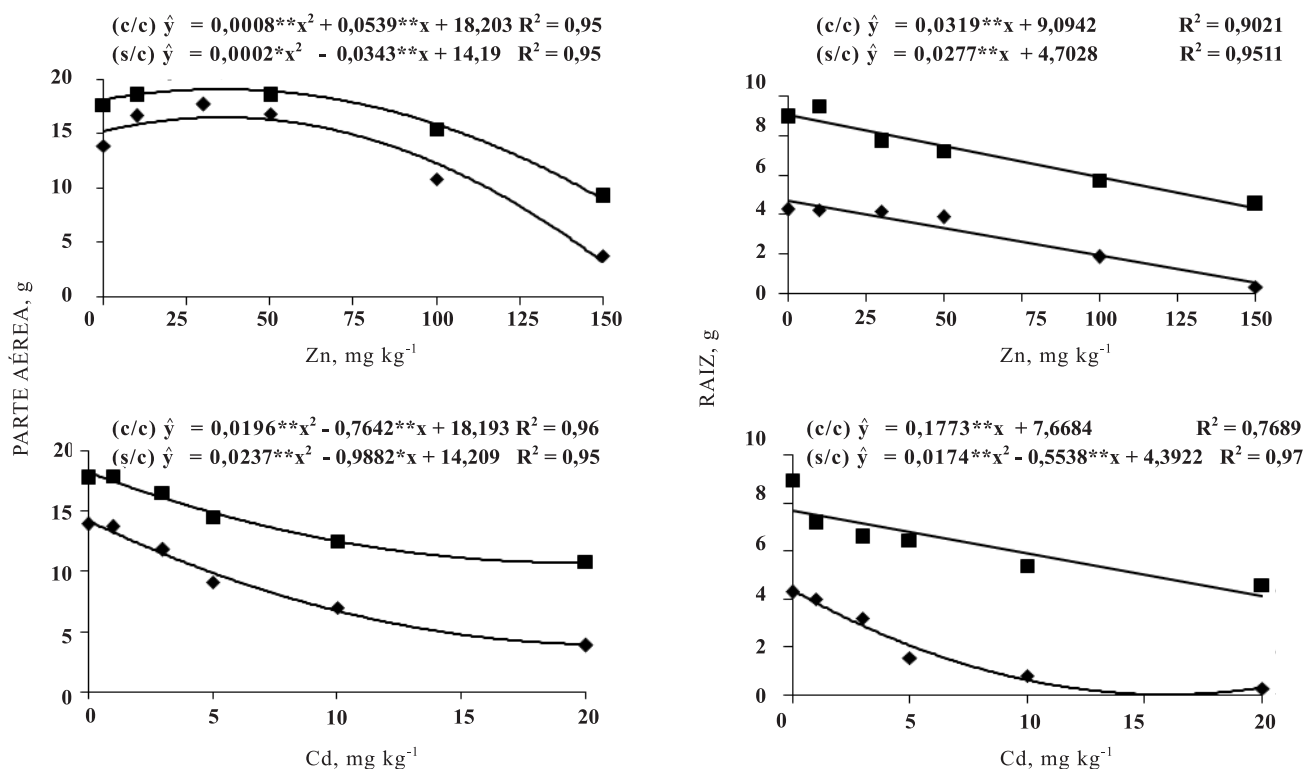


Figura 1. Produção de matéria seca da parte aérea e raiz de milho submetido a doses crescentes e Cd e Zn no solo com (■) e sem (◆) calagem.

Quadro 1. Teores de Zn pelos extratores DTPA, EDTA, Mehlich-1 (M-1) e Mehlich-3 (M-3) em solo com doses crescentes de Zn com ou sem calagem

Dose	DTPA	EDTA	M-1	M-3
mg kg ⁻¹	mg dm ⁻³			
Solo sem calagem				
0	1,82	2,69	3,79	4,20
10	9,92	12,14	14,47	15,16
30	26,17	27,87	38,05	36,96
50	44,81	43,33	50,91	52,15
100	101,47	96,48	110,75	106,83
150	151,69	146,15	154,52	151,85
Média	55,98	54,77	62,08	61,19
CV (%)	1,48	3,33	4,95	2,46
Solo com calagem				
0	1,20	1,54	2,15	3,52
10	7,92	9,70	12,78	12,20
30	23,57	21,57	30,22	25,98
50	39,70	40,45	46,83	47,61
100	95,63	78,95	74,15	97,00
150	147,93	123,45	125,75	138,48
Média	52,66	45,94	48,65	54,13
CV (%)	1,44	4,48	5,53	2,82

A recuperação do Cd pelos extratores ácidos foi maior que pelos agentes quelantes, independentemente da calagem (Quadro 2). É conhecida a importância do pH em controlar a adsorção de Cd (Krishnamurti & Naidu, 2003). Todavia, a diferença em magnitude do Cd disponível em tratamento com ou sem calagem não é tão grande quando comparado ao Zn (Quadros 1 e 2). Segundo Lindsay (1979), para Pb, Cu e Zn, decréscimos de uma unidade de pH (na faixa de 4,0 a 8,0) provocam aumento de 100 vezes em suas atividades, ao passo que a atividade de Cd é pouco influenciada pelo pH, para valores de pH inferiores a 8,0.

As correlações altamente significativas ($p < 0,01$) entre os teores de Cd e Zn nas plantas e os obtidos pelos diferentes extratores (Quadro 3) indicam a eficiência semelhante dos métodos químicos em avaliar a disponibilidade de Cd e de Zn para as plantas em solos contaminados.

Para ambos os metais, o aumento das doses foi acompanhado pelo aumento do teor do elemento na parte aérea (Figura 2), sendo a relação quadrática para o Cd e linear para o Zn, nos tratamentos sem calagem.

Isto se deve ao grande potencial fitotóxico do Cd mesmo nas mais baixas doses, enquanto o Zn passa de teores adequados a fitotóxicos apenas com elevadas doses. Os teores de Cd e Zn na parte aérea diferiram significativamente de acordo com a calagem, sendo sempre maiores no solo sem calagem (Figura 2). Isto demonstra o efeito da maior disponibilidade desses metais quando o pH do solo é mais baixo, efeito mais pronunciado para o Zn, o que indica a maior afinidade do Zn pelos sítios de adsorção específicos do solo. Isso pode ser explicado pelo fato de ser o Cd um elemento altamente móvel no solo, encontrado em maior parte na fase trocável.

Os sintomas visuais de toxidez observados para o Zn foram clorose internerval e marginal seguida por necrose no ápice e margens das folhas (Figura 3). Os sintomas de toxidez de Cd mais comumente observados nas plantas durante o ensaio foram clorose, encarquilhamento e enrolamento das folhas, inclusive com secamento destas ao final do ensaio na dose mais alta de Cd, além de severa restrição no crescimento das raízes, que atingiu 94 % na dose 20 mg kg⁻¹ (Figura 4).

Quadro 2. Teores de Cd pelos extratores DTPA, EDTA, Mehlich-1 (M-1) e Mehlich-3 (M-3) em solo com doses crescentes de Cd com ou sem calagem

Dose	DTPA	EDTA	M-1	M-3
mg kg ⁻¹	mg dm ⁻³			
Solo sem calagem				
0	0,01	0,12	0,65	0,89
1	0,98	1,35	1,78	1,81
3	3,03	3,12	4,29	4,36
5	4,68	4,96	6,15	6,36
10	9,69	10,00	11,83	13,09
20	19,01	20,15	23,11	22,93
Médias	6,23	6,62	7,97	8,24
CV (%)	7,37	4,84	5,73	6,18
Solo com calagem				
0	0,00	0,09	0,37	0,45
1	0,78	0,90	1,38	1,39
3	2,30	2,34	3,59	4,12
5	4,04	4,21	5,88	6,07
10	8,68	8,87	10,83	11,93
20	16,95	17,58	21,05	21,54
Médias	5,46	5,66	7,18	7,58
CV (%)	11,32	8,86	5,85	12,54

Quadro 3. Coeficientes de correlação linear simples entre os teores de Zn e Cd obtidos por extratores químicos e os teores na parte aérea e raiz de milho cultivados em solo com ou sem calagem e com doses crescentes de Zn e Cd

Parte da planta	M-1	M-3	EDTA	DTPA
Zn				
Solo com calagem				
Parte Aérea	0,93**	0,92**	0,92**	0,90**
Raiz	0,99**	0,98**	0,99**	0,99**
Solo sem calagem				
Parte Aérea	0,99**	0,99**	0,99**	0,99**
Raiz	0,51*	0,50*	0,48*	0,48*
Cd				
Solo com calagem				
Parte Aérea	0,91**	0,92**	0,91**	0,91**
Raiz	0,91**	0,91**	0,91**	0,15 ^{ns}
Solo sem calagem				
Parte Aérea	0,82**	0,83**	0,79**	0,81**
Raiz	0,79**	0,81**	0,81**	0,10 ^{ns}

*, ** e ^{ns}: significativos a 5 e < 0,1 %, respectivamente, e não significativo.

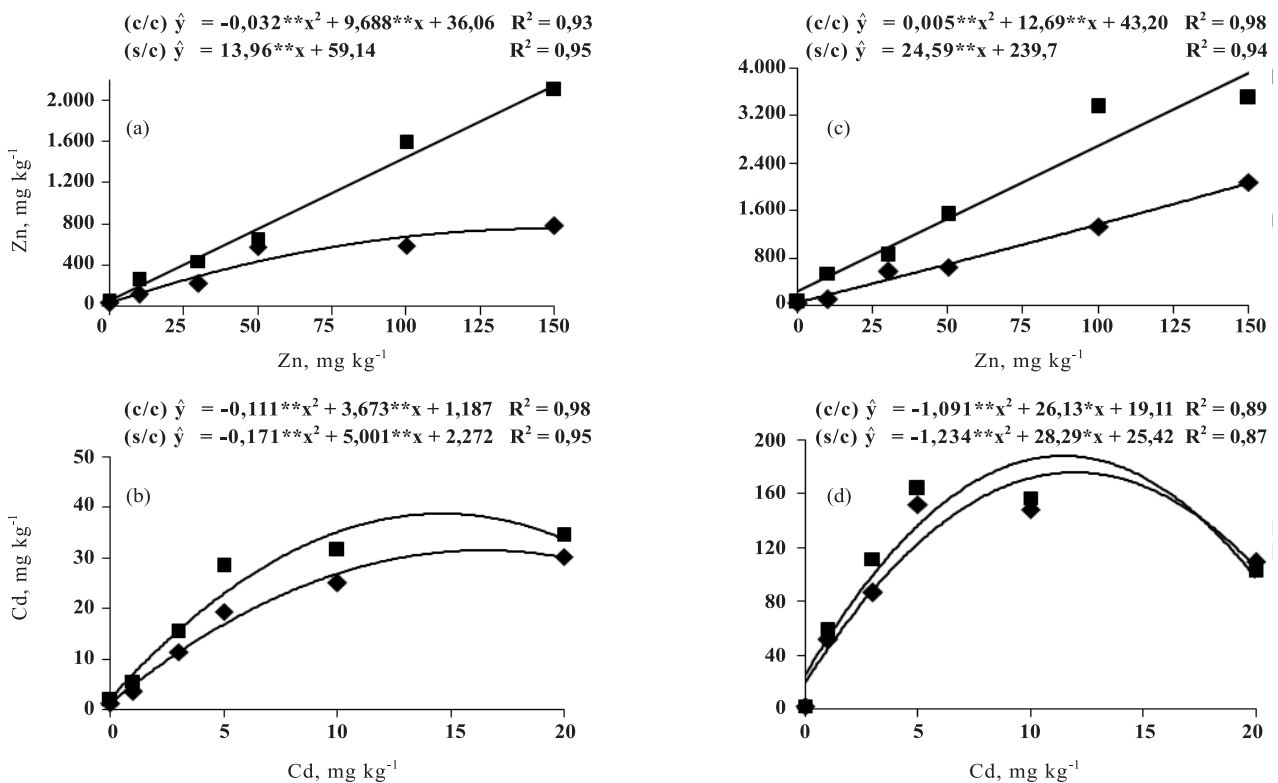


Figura 2. Teores de Zn e Cd na parte aérea (a) e (b) e raiz (c) e (d) de milho submetido a doses crescentes de metais no solo com (■) e (◆) sem calagem.

Alterações anatômicas na célula, como lignificação das paredes celulares, foram associadas ao aumento da exposição aos metais (Figuras 4a e 4c e 5d e 5c). A desintoxicação de metais em plantas pode ser atribuída ao acúmulo de compostos polifenólicos, como taninos e ligninas (Vollenweider et al., 2005). Polifenóis solúveis aumentaram em folhas de trigo em consequência da toxidez de Ni (Pandolfini et al., 1992) e em feijão exposto a Cd (Fuhrer, 1982). Acúmulo de lignina foi observado após tratamento com Cd e Cu em folhas de ervilha (Chaoui & Ferjani, 2005) e em folhas de pimenta como resposta ao estresse de Cu (Díaz et al., 2001).

A lignificação da parede celular foi mais pronunciada nos tratamentos com Cd, quando comparada à dos tratamentos com Zn (Figuras 4a e 4c vs 5d e 5c). As folhas de milho tratadas com Cd, mesmo nas doses mais baixas do elemento, apresentaram aumento na lignificação das paredes celulares. Nas folhas dos tratamentos com Zn, no entanto, expressivo aumento de lignificação foi observado apenas na dose mais alta (Figura 5a vs 5d). Resultado semelhante foi encontrado por Chaoui & Ferjani (2005) que, usando concentrações de 20 e 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cd ou Cu, observaram que somente o Cd causou aumento da lignificação em folhas de ervilha. A não-essencialidade do Cd às plantas faz com que pequenas doses desse elemento sejam suficientes para o desencadeamento de mecanismos celulares de defesa. Dessa forma, o efeito do Zn sobre

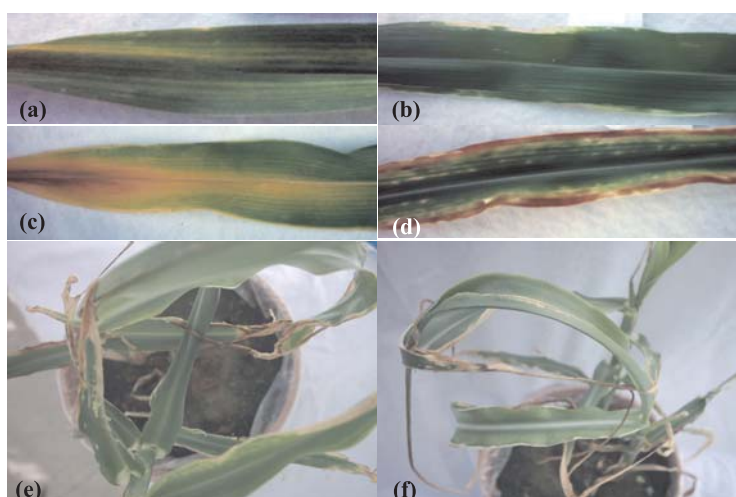


Figura 3. Sintomas visuais da toxidez de Zn e Cd em plantas de milho cultivadas em solo com 50 mg kg^{-1} de Zn (a) e (b); 100 mg kg^{-1} de Zn (c) e (d); e com 20 mg kg^{-1} de Cd (e) e (f)

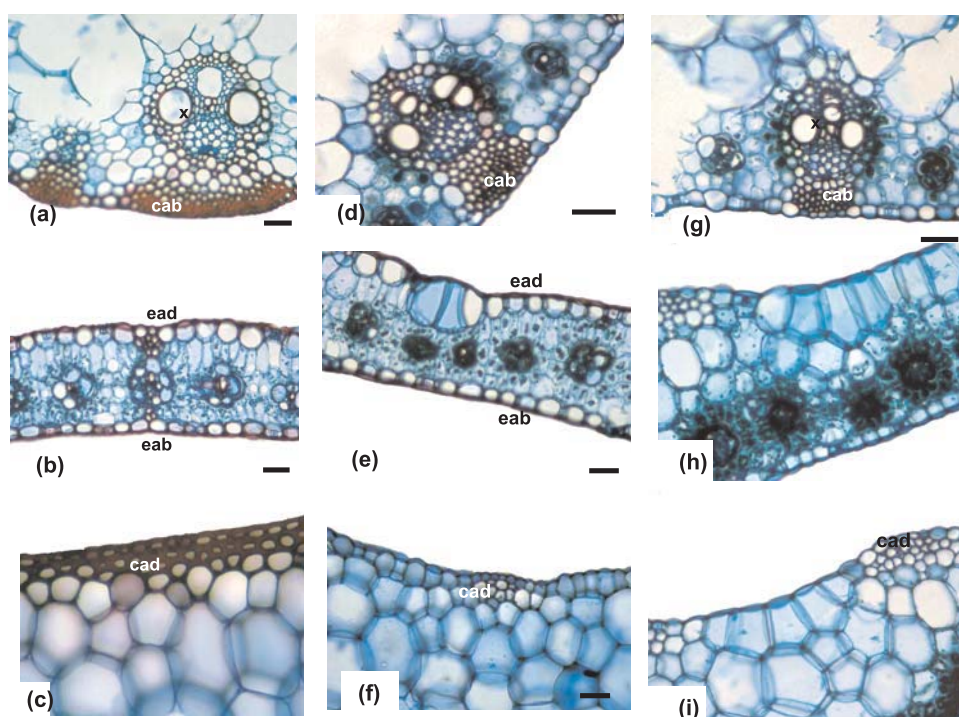


Figura 4. Alterações estruturais no tecido vascular, células epidérmicas e colenquimáticas de folhas de milho cultivadas em solo com doses crescentes de Cd. Folhas expostas a 20 mg kg^{-1} de Cd, (a-c) tratamento com calagem e (g-i) tratamento sem calagem; (d-f) tratamento-controle. x: xilema; cab: colênquima abaxial; cad: colênquima adaxial; eab: epiderme abaxial; ead: epiderme adaxial. Barras: $50 \mu\text{m}$.

a lignificação assemelha-se ao do Cd apenas quando em altas doses (Figura 4a e 5a).

Nos tratamentos sem calagem, o aumento das doses de metais não foi acompanhado por aumento de lignificação (Figura 4g e 5g). Isto pode ser resultado

da maior absorção dos metais nos tratamentos sem calagem (Figura 2), o que leva a uma desordem maior do metabolismo dessas plantas, causando, possivelmente, a inibição da síntese de lignina nas plantas mais estressadas.

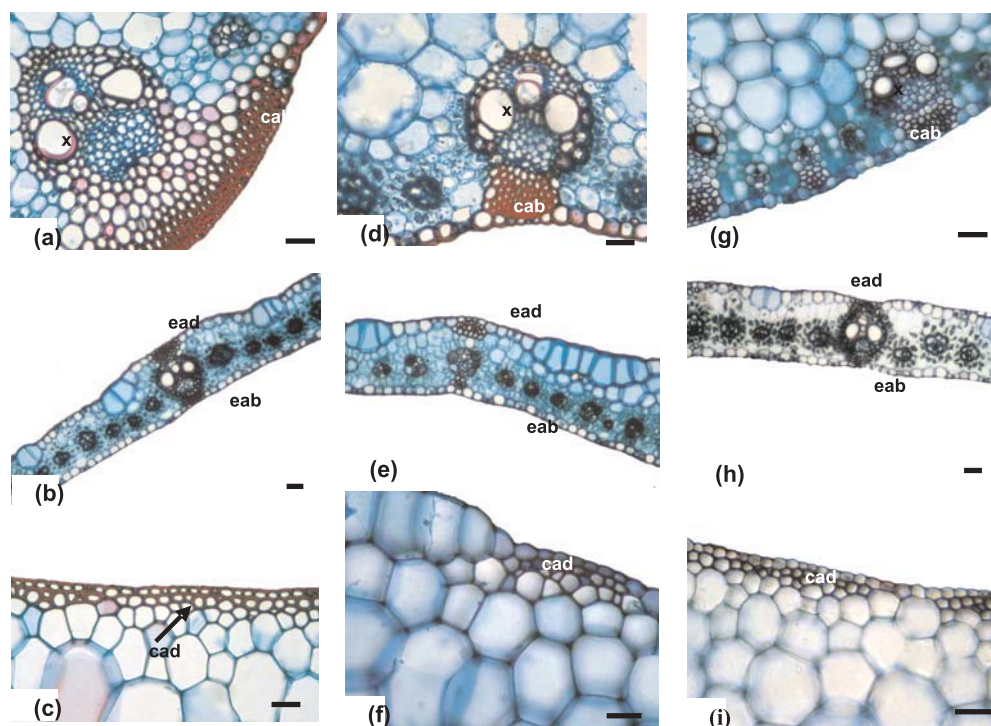


Figura 5. Alterações estruturais no tecido vascular, células epidérmicas e colênquimáticas de folhas de milho cultivadas em solo com doses crescentes de Zn. Folhas expostas a 150 mg kg^{-1} de Zn, (a) a (c) tratamento com calagem e (g) a (i) tratamento sem calagem; (d), folha exposta a 30 mg kg^{-1} ; (e) a (f) tratamento-controle. x: xilema; cab: colênquima abaxial; cad: colênquima adaxial; eab: epiderme abaxial; ead: epiderme adaxial. Barras: $50 \mu\text{m}$.

A indução do metabolismo de polifenóis pelas plantas tem sido atribuída ao desbalanço oxidativo celular resultante de estresses bióticos e abióticos, dentre eles metais pesados (Schutzendubel et al., 2001; Chaoui & Ferjani, 2005). De acordo com Vollenweider et al. (2005), a indução do metabolismo de polifenóis parece ser uma estratégia da planta em aumentar sítios de ligação na parede celular capazes de complexar o Cd, antes mesmo de o metal provocar danos oxidativos.

O principal tecido a fornecer sítios de ligações ao Cd e Zn em folhas não foi o mesófilo (Figuras 4b e 5b), mas o tecido vascular, as células epidérmicas e células de colênquima com elevado grau de lignificação (Figuras 4a, 4c, 5d e 5c). Certamente, os sítios do mesófilo são altamente sensíveis aos metais (Vollenweider et al., 2005). Não se observam, dessa maneira, alterações marcantes na estrutura do mesófilo entre o tratamento-controle e os com metais (Figuras 4b e 4e, 5b e 5e).

Depósitos de ligninas também foram visíveis nas paredes celulares do xilema de raízes tratadas com Cd e Zn (Figura 6d-f). Algumas variações podem ser verificadas quando comparados tratamentos com e sem calagem, sendo a lignificação das paredes celulares do xilema das raízes menor nos tratamentos sem calagem (Figura 6b e 6c). Este fato pode indicar que

a maior disponibilidade de metais em solo com menor pH restringiu o crescimento da parede celular secundária e crescimento radicular nesses tratamentos. A restrição ao crescimento radicular é um sintoma frequentemente encontrado em resposta à toxidez de metais (Sanità di Toppi & Gabbriellini, 1999; Benavides et al., 2005). É possível observar ainda a lignificação mais acentuada das estrias de Caspary nos tratamentos com calagem (Figura 6e e 6f). Essa estrutura presente na endoderme limita o movimento apoplástico do metal, restringindo sua absorção seletiva à via simplástica.

CONCLUSÕES

1. Correlações altamente significativas foram encontradas entre os extratores testados e os teores de metais absorvidos pelas plantas, indicando eficiência semelhante para avaliação da disponibilidade desses metais em solos contaminados.

2. Os níveis críticos tóxicos de Cd no solo variaram de $8,7$ a $13,1 \text{ mg kg}^{-1}$, enquanto, para Zn, esses valores situaram-se entre $74,1$ e $110,7 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente, para solos com ou sem calagem, dependendo do extrator.

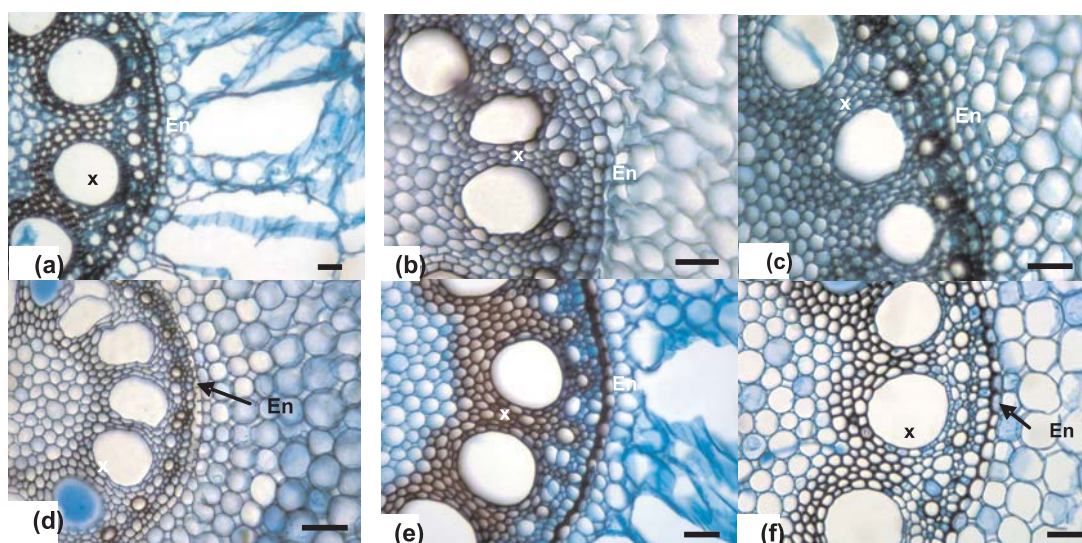


Figura 6. Alterações estruturais na raiz de milho cultivada em solo com Cd e Zn, sem calagem (a) a (c) e com calagem (d) a (f). Raízes do tratamento-controle (a) e (d), (b) e (e) raízes expostas a 20 mg kg^{-1} de Cd e (c) e (f) a 150 mg kg^{-1} de Zn. x: xilema; En: endoderme. Barras: $50 \mu\text{m}$.

3. Os sintomas visuais de toxidez de Cd foram clorose, encarquilhamento e enrolamento de folhas. Para Zn, os sintomas tóxicos mais comuns foram clorose internerval e marginal, associada à necrose no ápice e margens das folhas.

4. O aumento da lignificação das paredes celulares da epiderme e colênquima, do tecido vascular e da endoderme foi associado a níveis críticos tóxicos de Cd e de Zn no solo.

LITERATURA CITADA

- ALLOWAY, B.J. Heavy metals in soils. Glasgow, Blackie Academic and Professional, 1990. 339p.
- ARAÚJO, J.C.T. & NASCIMENTO, C.W.A. Fracionamento e disponibilidade de zinco por diferentes extratores em solos incubados com lodo de esgoto. R. Bras. Ci. Solo, 29:977-985, 2005.
- BENAVIDES, M.P.; GALLEGO, S.M. & TOMARO, M.L. Cadmium toxicity in plants. Braz. J. Plant Physiol., 17:21-34, 2005.
- BUKATSCH, F. Bemerkungen zur doppelfärbung astrablau-safranin. Mikrokosmos, 6:255, 1972.
- CHAOUI, A. & FERJANI, E.E. Effects of cadmium and copper on antioxidant capacities, lignification and auxin degradation in leaves of pea (*Pisum sativum* L.) seedlings. C. R. Biol., 328:23-31, 2005.
- DE FILIPPO, B.V. & RIBEIRO, A.C. Análise química do solo. Metodologia. 2.ed. Viçosa, MG, Universidade Federal de Viçosa, 1997. 26p.
- DÍAZ, J.; BERNAL, A.; POMAR, F. & MERINO, F. Induction of shikimate dehydrogenase and peroxidase in pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings in response to copper stress and its relation to lignification. Plant Sci., 161:179-188, 2001.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Manual de análise química dos solos, plantas e fertilizantes. Rio de Janeiro, 1999. 370p.
- FUHRER, J. Early effects of excess cadmium uptake in *Phaseolus vulgaris*. Plant Cell Environ., 5:263-270, 1982.
- JOHANSEN, D.A. Plant microtechnique. New York, Mc Graw Hill, 1940. 523p.
- KING, L.D. Soil heavy metals. In: ALVAREZ V., V.H.; FONTES, L.E. & FONTES, M.P. O solo nos grandes domínios morfoclimáticos do Brasil e o desenvolvimento sustentado. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo/ Universidade Federal de Viçosa, 1996. p.823-836.
- KRISHNAMURTI, G.S.R. & NAIDU, R. Solid-solution equilibria of cadmium in soils. Geoderma, 113:17-30, 2003.
- LANTMANN, A.F. & MEURER, E.J. Estudos da eficiência de extratores para avaliação do zinco disponível do solo para o milho. R. Bras. Ci. Solo, 6:131-135, 1982.
- LINDSAY, W.L. Chemical equilibria in soil. New York, John Wiley, 1979. 439p.
- LINDSAY, W.L. & NORVELL, W.A. Development of DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. Soil Sci. Soc. Am. J., 42:421-428, 1978.
- MARTINS, A.L.C.; BATAGLIA, O.C.; CAMARGO, O.A. & CANTARELLA, H. Produção de grãos e absorção de Cu, Fe, Mn e Zn pelo milho em solo adubado com lodo de esgoto, com e sem calcário. R. Bras. Ci. Solo, 27:563-574, 2003.

- MEHLICH, A. MEHLICH-3 Soil test extractant: A modification of Mehlich-2 extractant. *Comm. Soil Sci. Plant. Anal.*, 15:1409-1416, 1984.
- NASCIMENTO, C.W.A.; FONTES, R.L.F.; NEVES, J.C.L. & MELÍCIO, A.C.F.D. Fracionamento, dessorção e extração química de zinco em Latossolos. *R. Bras Ci Solo*, 26:599-606, 2002.
- PANDOLFINI, T.; GABBRIELLI, R. & COMPARINI, C. Nickel toxicity and peroxidase activity in seedlings of *Triticum aestivum* L. *Plant Cell Environ.*, 15:719-725, 1992.
- SANITÀ di TOPPI, L. & GABBRIELLI, R. Response to cadmium in higher plants. *Environ. Exper. Bot.*, 41:105-130, 1999.
- SAS Institute. Statistical analysis system. Procedure guide for personal computer. Cary, 1999.
- SCHÜTZENDÜBEL, A.; SCHWANZ, P.; TEICHMANN, T.; GROSS, K.; LANGENFELD-HEYSER, R.; GODBOLD, O.L.E. & POLE, A. Cadmium-induced changes in antioxidative systems, H₂O₂ content and differentiation in pine (*Pinus sylvestris*) roots. *Plant Physiol.*, 127:887-892, 2001.
- SIEDLECKA, A. & KRUPA, Z. Interaction between cadmium and iron and its effects on photo-synthetic capacity of primary leaves of *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiol. Biochem.*, 34:833-841, 1996.
- STRASBURGER, E. Handbook of practical botany. New York, MacMillan, 1924. 532p.
- SWISS AGENCY FOR THE ENVIRONMENT, FORESTS AND LANDSCAPE - SAEFL. Critical loads of acidity for forest soils – Regional-ized PROFILE model. Bern, 1998.102p. (Environmental Documentation Air/Forest, 88)
- VOLLENWEIDER, P.; COSIO, C.; GUNTARDT-GOERG, M.S. & KELLER, C. Localization and effects of cadmium in leaves of a cadmium-tolerant willow (*Salix viminalis* L.) Part II Microlocalization and cellular effects of cadmium. *Environ. Exper. Bot.*, 58:1-16, 2005.
- WU, J.; NORVELL, W.A. & WELCH, R.M. Kriging on highly skewed data for DTPA-extractable soil Zn with auxiliary information for pH and organic carbon. *Geoderma*, 134:187-199, 2006.