

Crescimento e teores de arsênio em plântulas de *Leucaena leucocephala* e *Sesbania grandiflora*

Rafaella Teles Arantes Felipe¹
Gabriela Alves Leão¹
Juraci Alves de Oliveira²

RESUMO

A revegetação de áreas contaminadas com arsênio (As) requer a seleção de espécies tolerantes a esse elemento, uma vez que muitas espécies não conseguem sobreviver na presença do As, tornando inviável a utilização dessas espécies para esse fim. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar algumas variáveis relacionadas ao crescimento e acúmulo de As nas espécies leguminosas arbustivas: *Leucaena leucocephala* e *Sesbania grandiflora*, quando expostas a esse elemento. Após a obtenção das plântulas a partir de sementes, essas foram expostas a solução nutritiva contendo As nas concentrações 0,0; 1,5; 2,5; 5,0; e 7,5 mg L⁻¹ na forma química Na₂HAsO₄·7H₂O. Após sete dias de exposição, foram determinados o comprimento da raiz principal e da parte aérea, o número de folhas, a taxa de crescimento relativo (TCR) e o teor de As nas plantas. O aumento da concentração de As na solução nutritiva resultou em significativa redução no comprimento da raiz e da parte aérea, assim como na TCR de *L. leucocephala* e *S. grandiflora*. Apenas *L. leucocephala* apresentou redução no número de folhas. Embora a TCR tenha se reduzido nas duas espécies, isso ocorreu de forma mais intensa em *L. leucocephala* e, em ambas as espécies, os teores de As, tanto nas raízes quanto na parte aérea, aumentaram com o acréscimo do elemento em solução. Conclui-se que *S. grandiflora* aparenta maior potencial para ser utilizada em programas de revegetação, pois, além de acumular apreciáveis quantidades de As, este teve menor efeito tóxico sobre o ganho de biomassa.

Palavras-chave: Toxicidade, fitorremediação, fitoestabilização.

ABSTRACT

Growth and arsenic content in seedlings of *Leucaena leucocephala* and *Sesbania grandiflora*

Selection of tolerant species is a prerequisite for revegetation of arsenic-contaminated soils, since a large number of plant species do not survive in its making them unsuitable for this purpose. This work evaluated some growth variables and As accumulation by the legume shrub species *Leucaena leucocephala* and *Sesbania grandiflora* in the presence of this metalloid. Seedlings were exposed to different As concentrations (0.0; 1.5; 2.5; 5.0 and 7.5 mg L⁻¹), supplied as Na₂HAsO₄·7H₂O, in Clark's nutrient solution. After seven days of treatment, main root and shoot lengths, leaf number, relative growth rate (RGR) and As content in plants were determined. The increase in As concentration of the nutrient solution resulted in significant reduction in root and shoot lengths, as well as in RGR of *L. leucocephala* and *S. grandiflora*. *L. leucocephala* showed reduction in leaf number. Although the two species had RGR reduced, this

Recebido para publicação em julho de 2007 e aprovado em abril de 2009

¹ Departamento de Biologia Vegetal. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG. E-mail: rafaella@vicosa.ufv.br (autor para correspondência)

² Departamento de Biologia Geral. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG

reduction was greater in *L. leucocephala*. Both species had As contents increased in the roots and in the shoot, with increased As concentration in the solution. The results showed that *S. grandiflora* has potential to be used in revegetation programs, as it accumulated significant As amounts and the metalloid had lower toxic effect on biomass production.

Key words: Toxicity, phytoremediation, phytostabilization

INTRODUÇÃO

O arsênio (As) é um dos elementos de maior risco para os ecossistemas, com potencial para ocasionar sérios danos à saúde humana (Tapio & Grosche, 2006). As atividades de mineração tem sido responsáveis pela maior disponibilização desse elemento ao ambiente, aumentando o risco de contaminação de solos vizinhos e de águas superficiais e subterrâneas (Wong, 2003; Izquierdo *et al.*, 2005; Li, 2006; Boularbah *et al.*, 2006). No Brasil, o quadrilátero ferrífero, além de ter parte de suas áreas intensamente degradadas ao longo do tempo, foi alvo de graves contaminações com As, devido às atividades de mineração aurífera (Ramos, 2005).

A revegetação dessas áreas, além de permitir a reabilitação do ambiente degradado, diminui o risco de contaminação. Dessa forma, a seleção de espécies para utilização em programas de revegetação é de grande importância, uma vez que apenas espécies tolerantes conseguem sobreviver na presença de elementos tóxicos, como o As. Essas espécies, geralmente, são fitorremediadoras, pois conseguem absorver e acumular o contaminante (fitoextratoras) ou estabilizá-lo na rizosfera (fitoestabilizadoras) (Wong, 2003; Díaz *et al.*, 2007).

Espécies vegetais fixadoras de nitrogênio, como as leguminosas *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. e *Sesbania grandiflora* (L.), tem sido indicadas para utilização em programas de revegetação de áreas degradadas (Zhang *et al.*, 2001; Lins *et al.*, 2006). Em parte, essa indicação se deve à capacidade destas espécies sobreviverem em solos que apresentam deficiência nutricional e altas concentrações de poluentes (Wong, 2003; Song *et al.*, 2006).

A presença de As em solos degradados em áreas de mineração pode limitar o crescimento normal de plantas e levar ao aparecimento de sintomas de toxidez como murcha, clorose e necrose (Gardea-Torresdey *et al.*, 2005), o que pode limitar a utilização de algumas espécies vegetais. Por isso, crescimento normal, mesmo em condições de acúmulo ou estabilização do contaminante, é aspecto importantes na seleção de espécies vegetais para a utilização em revegetação de áreas contaminadas com As.

Verifica-se, no entanto, que poucos estudos tem sido feitos com as espécies vegetais leguminosas *Leucaena leucocephala* e *Sesbania grandiflora* na presença de As. Dessa forma, objetiva-se, com este trabalho, avaliar algumas características de crescimento das plantas expostas ao As e o acúmulo desse elemento nas espécies *Leucaena leucocephala* e *Sesbania grandiflora*.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção das plantas

Para a condução deste experimento foram utilizadas sementes de *Leucaena leucocephala* e *Sesbania grandiflora*, fornecidas pelo Laboratório de Sementes do Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa/MG.

As sementes foram imersas em ácido sulfúrico concentrado, por 40 minutos, para quebra de dormência. Em seguida, desinfectadas em hipoclorito de sódio 10 g L⁻¹ durante um minuto e, então, enxaguadas em água desionizada corrente por um minuto. Vinte e cinco sementes de cada espécie foram colocadas para geminar em rolos de papel germitest, parcialmente imersas em recipientes contendo 1,5 L de água desionizada, em sala de crescimento, à temperatura de 25 ± 2 °C, no escuro, durante quatro dias. A partir do quarto dia, as plântulas foram expostas à luz sob irradiância de 230 μmol m⁻² s⁻¹ e fotoperíodo luminoso de 16 horas, por oito dias.

Aplicação dos tratamentos

As plantas obtidas foram transferidas para vasos (quatro plantas/vaso) contendo 1,8 L da solução nutritiva de Clark (1975), pH 6,5 (aferido diariamente), adequadamente aerada, contendo ou não As na forma de Na₂HAsO₄ · 7H₂O, nas concentrações de 0,0; 1,5; 2,5; 5,0; e 7,5 mg L⁻¹, em sala de crescimento de plantas à temperatura de 25 ± 2 °C, sob irradiância de 230 μmol m⁻² s⁻¹ e fotoperíodo luminoso de 16 horas, durante sete dias. Ao final do experimento, as plantas foram lavadas por 30 s em água desionizada e separadas em parte aérea e raízes.

Determinação das características de crescimento

Ao final do período de exposição ao As foi feita a contagem do número de folhas e as medições do comprimento da raiz (do colo da planta até o ápice da raiz mais longa) e da parte aérea (do colo da planta até o ápice caulinar). Os valores obtidos foram expressos em comparação com os respectivos controles.

As taxas de crescimento relativo (TCR) das plantas foram calculadas utilizando-se a equação: $TCR = (\ln w_1 - \ln w_0) \times 1000 / (t_1 - t_0)$, em que TCR é expresso em termos de ganho de massa seca no período experimental ($\text{mg g}^{-1} \text{ dia}^{-1}$), $\ln w_1$ e $\ln w_0$ é o logaritmo neperiano da massa seca no final e no início do experimento, respectivamente, e $t_1 - t_0$ é a duração do experimento, em dias (Hunt, 1978).

Durante a montagem do experimento, a partir da massa de matéria fresca, foram estimadas a massa de matéria seca inicial das raízes e da parte aérea. Essa estimativa foi feita a partir de amostras de plantas do mesmo lote daquelas utilizadas no experimento. Essas plantas, após determinação da massa de matéria fresca, foram colocadas para secar em estufa convencional à temperatura de 80 °C, até obtenção de massa de matéria seca constante. Assim, foi obtida uma relação entre massa de matéria fresca e massa de matéria seca para cada uma das espécies.

A obtenção da massa de matéria seca de raiz e da parte aérea, ao final do experimento, seguiu o mesmo procedimento de secagem descrito anteriormente.

Determinação da concentração de As nas plantas

Para a determinação dos teores de arsênio nas raízes e na parte aérea, 100 mg de massa de matéria seca foram submetidas à mineralização úmida, com 2 mL de mistura nítrico-perclórica 2:1, à temperatura de 90-100 °C, para evitar a volatilização do As até a completa oxidação da matéria orgânica. Amostras mineralizadas foram filtradas e diluídas em 25 mL de água desionizada e, então, analisadas por Espectrofotometria de Emissão em Plasma Indutivamente Acoplado.

Análise estatística

O experimento foi montado em blocos casualizados no esquema fatorial 2 x 5 (espécie x concentração), com três repetições. Os resultados das variáveis quantitativas foram submetidos a análise de variância e de regressão (Ferreira, 2000).

RESULTADOS

Sintomas de toxidez relacionados ao As, como murcha, clorose e necrose foliar, não foram observados na

parte aérea de *L. leucocephala* e *S. grandiflora*. No entanto, o sistema radicular de *L. leucocephala* apresentou escurecimento, quando em presença de As, em todas as concentrações, fato que não foi observado nas plântulas de *S. grandiflora*.

O comprimento da raiz principal das plântulas de *L. leucocephala* foi mais afetado que o de *S. grandiflora* com a exposição às concentrações de 1,5 e 2,5 mg L^{-1} de As. Na maior concentração, entretanto, as duas espécies tiveram respostas semelhantes, com redução de 28% nessa característica, quando comparadas com as plântulas controle (Tabela 1).

O comprimento da parte aérea de *L. leucocephala* não apresentou danos expressivos nas concentrações de 1,5 e 2,5 mg L^{-1} de As, com pequena redução apenas nas concentrações mais elevadas. Em *S. grandiflora*, o comprimento da parte aérea sofreu redução de 12% em relação ao do controle na concentração de 2,5 mg L^{-1} de As, aumentando para 34% na maior concentração. Apenas *L. leucocephala* teve redução no número de folhas a partir da concentração de 2,5 mg L^{-1} de As (Tabela 1).

O cultivo das duas espécies, *L. leucocephala* e *S. grandiflora*, em solução nutritiva, sem adição de As, revelou que essas espécies não diferiram entre si quanto à TCR. Quando expostas a crescentes concentrações de As, elas apresentaram significativas reduções na TCR, em que, *L. leucocephala* teve os maiores decréscimos. A maior

Tabela 1. Comprimento relativo da raiz e da parte aérea e número de folhas relativo de *L. leucocephala* e *S. grandiflora* submetidas a diferentes concentrações de As em solução nutritiva durante sete dias

Concentração de As —mg L ⁻¹ —	<i>L. leucocephala</i>	<i>S. grandiflora</i>
	Comprimento da raiz	
0,0	100 (26,5)	100 (20,7)
1,5	83 (22,1)	90 (18,8)
2,5	76 (20,2)	86 (17,8)
5,0	77 (20,5)	78 (16,2)
7,5	72 (19,1)	72 (14,5)
	Comprimento da parte aérea	
0,0	100 (6,2)	100 (8,9)
1,5	105 (6,5)	103 (9,2)
2,5	111 (6,9)	88 (7,9)
5,0	92 (5,7)	75 (6,7)
7,5	85 (5,3)	66 (5,9)
	Número de folhas	
0,0	100 (6)	100 (3)
1,5	100 (6)	100 (3)
2,5	83 (5)	100 (3)
5,0	83 (5)	100 (3)
7,5	83 (5)	100 (3)

Os valores entre parênteses correspondem aos valores absolutos, expressos em cm para comprimento da raiz e da parte aérea.

sensibilidade dessa espécie ao As pode ser constatada observando-se a concentração deste elemento em solução capaz de reduzir em 50% sua TCR. Enquanto *S. grandiflora* apresentou essa redução em sua TCR quando cultivada em 7,5 mg L⁻¹ de As, *L. leucocephala* demonstrou a mesma redução quando cultivada em 4,2 mg L⁻¹ de As (Figura 1).

Quando se relaciona a redução na TCR com os teores de As nas plantas, verifica-se que a espécie *S. grandiflora* realmente apresenta maior tolerância, requerendo 727,27 µg g⁻¹ de matéria seca de As para redução de 50% em sua TCR, enquanto *L. leucocephala* requereu apenas 482,28 µg g⁻¹ matéria seca de As.

A interação espécie x dose foi significativa ($p < 0,01$) para concentração de As nas raízes e na parte aérea das plantas. As espécies *L. leucocephala* e *S. grandiflora* expostas ao As diferiram entre si quanto ao teor de As nas raízes e na parte aérea em todas as doses. Embora os efei-

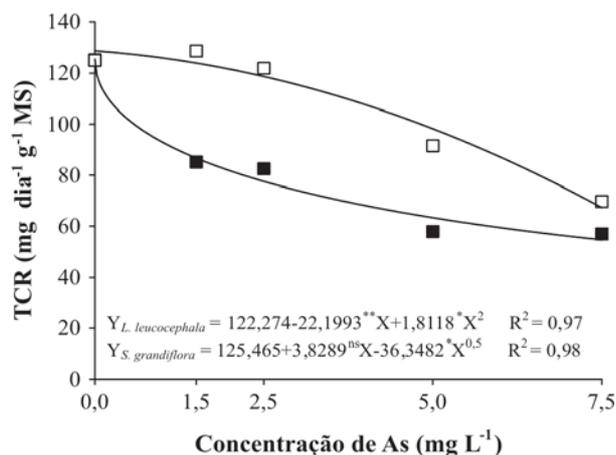
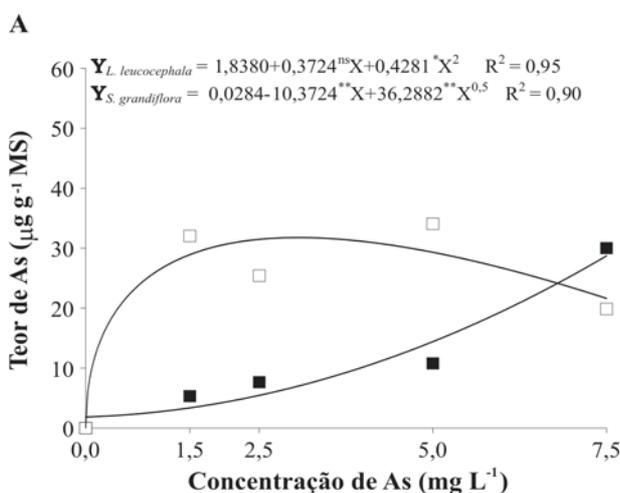


Figura 1. Taxa de crescimento relativo de *L. leucocephala* (■) e *S. grandiflora* (□) submetidas a diferentes concentrações de As em solução nutritiva durante sete dias.



tos tóxicos do As tenham sido mais evidentes em *L. leucocephala*, com maior redução em sua TCR, os maiores teores desse elemento, tanto em raízes como na parte aérea, ocorreram em *S. grandiflora* (Figura 2).

A maior concentração do As absorvido pelas plantas foi acumulada nas raízes, quando comparada à parte aérea. Em *L. leucocephala* e *S. grandiflora* os teores de As em raízes aumentaram com o incremento da concentração de As em solução, alcançando os valores de 1028,87 e 1467,73 µg g⁻¹ matéria seca, respectivamente, na maior concentração avaliada (Figura 2).

A concentração de As na parte aérea de *L. leucocephala* aumentou com o incremento da concentração de As em solução, enquanto em *S. grandiflora* houve redução na concentração desse elemento na parte aérea nas maiores concentrações.

Observa-se na Figura 2a que a derivada parcial de primeira ordem do modelo ajustado para *S. grandiflora* apresentou o ponto de máximo na concentração correspondente a 3,06 mg L⁻¹ de As, obtendo-se o teor máximo de As de 31,78 µg g⁻¹ de massa de matéria seca da parte aérea. Por outro lado, as concentrações de As utilizadas no experimento não permitiram obter o máximo teor de As na parte aérea para *L. leucocephala*, sem previsão possível de inflexão da curva de resposta, quando relacionada com o aumento da concentração de As, que induziu aumento quase linear.

Para as raízes de *S. grandiflora* não foi obtido o ponto de máximo, sendo o maior teor de As (1454,6 µg g⁻¹ de matéria seca) observado na concentração de 7,5 mg L⁻¹, indicando uma possível inflexão da curva de resposta acima dessa dose (Figura 1b). Contrariamente ao observado na parte aérea, nas raízes de *L. leucocephala*, o máximo teor de As (1075,12 µg g⁻¹ matéria seca) ocorreu na concentração de 6,22 mg L⁻¹ de As (Figura 2b).

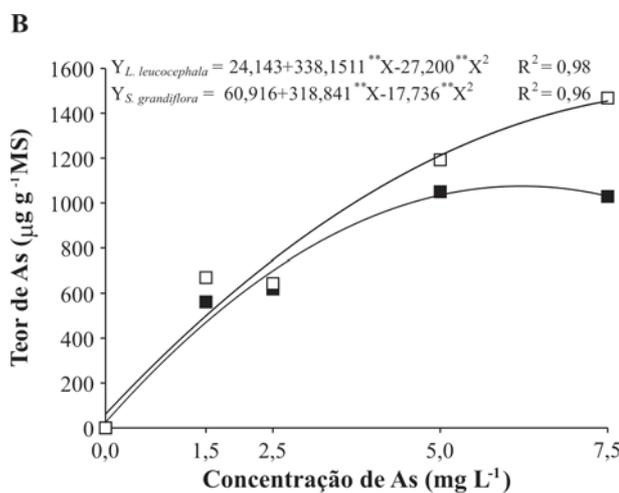


Figura 2. Teor de As na parte aérea (A) e em raízes (B) de *L. leucocephala* (■) e *S. grandiflora* (□) em função de diferentes concentrações de As na solução nutritiva, durante sete dias de cultivo.

Com base nos dados obtidos no experimento, foi possível fazer uma estimativa do potencial de imobilização de As em áreas contaminadas, embora possam, com as diferenças inerentes aos ambientes em estudo, surgir resultados que não condizem com a realidade. Em plantas adultas de *L. leucocephala* (5.000 plantas/ha), considerando a produção de 25 e 7,5 t/ha de parte aérea e raízes, respectivamente, foi estimada a imobilização de 0,718 kg ha⁻¹ de As na parte aérea e 8,063 kg ha⁻¹ de As nas raízes. Em plantas adultas de *S. grandiflora* (10000 plantas ha⁻¹), considerando a produção de 20 e 6 t ha⁻¹ de parte aérea e raízes, respectivamente, foi estimada a imobilização de 0,636 kg ha⁻¹ de As na parte aérea e 8,728 kg ha⁻¹ de As nas raízes.

DISCUSSÃO

O aumento na concentração de As foi observado com maior intensidade nas raízes quando comparado à parte aérea. Esses resultados revelam a grande capacidade dessas espécies em reter o As absorvido, nas raízes, o que está relacionado aos danos observados no sistema radicular. A maior capacidade de retenção do As no sistema radicular é uma característica favorável para a utilização de espécies vegetais em programas de revegetação de áreas contaminadas com esse elemento (Wong, 2003). *Sesbania drummondii*, espécie utilizada em programas de revegetação, quando submetida a diferentes concentrações de Pb (Ruley *et al.*, 2006), Hg (Israr *et al.*, 2006) e Cu (Sahi *et al.*, 2007), também tem apresentado baixo potencial de translocar esses elementos para a parte aérea. Melo (2006), trabalhando com *L. leucocephala* e *S. virgata*, cultivadas em solo contendo As, também observou maior teor de As nas raízes dessas plantas. A capacidade de retenção do As nas raízes é importante, por permitir a estabilização do elemento tóxico, impedindo-o de dispersar-se no ambiente (Wong, 2003; Ernest, 2005; Gardea-Torresdey *et al.*, 2005), e dificultando a sua entrada na cadeia alimentar (Francesconi *et al.*, 2002; French *et al.*, 2006).

Os resultados demonstraram que o comprimento radicular foi seriamente afetado nas duas espécies, quando na presença de arsênio, o que ocorre também com outras espécies, conforme estudos de Carbonell-Barrachina *et al.* (1997) com plantas de tomate e feijão.

L. leucocephala e *S. virgata* não apresentaram clorose e necrose foliar neste estudo. Melo (2006) também não verificou lesão da parte aérea de *L. leucocephala* e *S. virgata* cultivadas em solo contendo As. Entretanto, os dados de comprimento de parte aérea mostram que *L. leucocephala* apresentou redução dessa característica na dose de 7,5 mg L⁻¹, porém, em *S. grandiflora* essa redução ocorreu a partir da dose de 2,5 mg L⁻¹ de As. Esse resultado sugere que, mesmo com o maior teor de As retido nas raízes, esse elemento é capaz de acarretar efeitos

diretos e indiretos na estrutura e/ou no metabolismo da planta, conforme observado também, em feijão (Carbonell-Barrachina *et al.*, 1997) e *Spartina alterniflora* (Carbonell *et al.*, 1998). Isso ocorreu, possivelmente, devido à limitação no transporte hídrico quando essas plantas foram submetidas ao As, o que seria consequência de danos fisiológicos como alteração da condutância estomática, da transpiração, do potencial hídrico e da resistência radicular ao fluxo hídrico.

Embora tenham sido observadas alterações em algumas características de crescimento, o número de folhas foi afetado apenas na espécie *L. leucocephala*, o que indica menor tolerância dessa espécie ao As.

O incremento da concentração de As levou à redução na TCR nas duas espécies, porém, de forma mais intensa em *L. leucocephala*. O arsenato, sendo análogo ao fosfato, pode interferir em processos celulares essenciais como fosforilação oxidativa, levando à diminuição da síntese de ATP e ao incremento na formação de espécies reativas de oxigênio (Tripathi *et al.*, 2007), eventos capazes de prejudicar o crescimento de espécies vegetais (Caille *et al.*, 2005). Diminuição do crescimento tem sido observada em *Holcus lanatus* após exposição ao As (Hartley-Whitaker *et al.*, 2001), assim como em outras espécies do gênero *Sesbania* quando expostas a altas concentrações de metais tóxicos (Israr *et al.*, 2006; Sahi *et al.*, 2007).

S. grandiflora, mesmo apresentando maior teor de As nas raízes e na parte aérea, quando comparada a *L. leucocephala*, parece possuir maior potencial para ser utilizada em programas de revegetação de ambientes contaminados, pois apresentou maior capacidade de absorção e retenção do As em suas raízes. Além disso, apresentou redução em 50% da sua TCR na maior concentração de As, enquanto *L. leucocephala* teve redução de 50% na concentração 4,2 mg L⁻¹ de As. Investigações futuras poderão confirmar a existência de estratégias de tolerância ao As, fazendo com que *S. grandiflora* possa ser utilizada na revegetação de áreas contaminadas com esse elemento.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e à CAPES, pelas bolsas de pesquisa, e à FAPEMIG, pelo financiamento do projeto.

REFERÊNCIAS

- Boularbah A, Schuartz C, Bitton G, Aboudrar W, Ouhammou A & Movel JL (2006) Heavy metal contamination from mining sites in South Morocco: 2. Assessment of metal accumulation and toxicity in plants. *Chemosphere*, 63:811-817.
- Caille N, Zhao FJ & McGrath SP (2005) Comparison of root absorption, translocation and tolerance of arsenic in the hyperaccumulator *Pteris vittata* and hyperaccumulator *Pteris tremula*. *New Phytologist*, 165:755-761.

- Carbonell AA, Aarabi MA, DeLaune, Gambrell RP & Patrick Jr. WH (1998) Arsenic in wetland vegetation: Availability, phytotoxicity, uptake and effects on plant growth and nutrition. *The Science of the Total Environment*, 217:189-199.
- Carbonell-Barrachina AA, Burló F, Burgos-Hernández A, López E & Mataix J (1997) The influence of arsenite concentration on arsenic accumulation in tomato and bean plants. *Scientia Horticulturae*, 71:167-176.
- Clark RB (1975) Characterization of phosphatase of intact maize roots. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 23:458-460.
- Díaz MJ, García MM, Eugenio ME, Tapias R, Fernández M & López F (2007) Variations in fiber length and some pulp chemical properties of *Leucaena* varieties. *Industrial Crops and Products*, 26:142-150.
- Ernest WHO (2005) Phytoextraction of mine wastes – Options and impossibilities. *Chemie der Erde*, 65:29-42.
- Ferreira DF (2000) Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: 45a Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade internacional de Biometria. São Carlos, Universidade Federal de São Carlos. p.255-258.
- Francesconi K, Visoottiviset P, Sridokchan W & Goessler W (2002) Arsenic species in an arsenic hyperaccumulating fern, *Pityrogramma calomelanos*: a potential phytoremediator of arsenic-contaminated soils. *The Science of the Total Environment*, 284:27-35.
- French CJ, Dickinson NM & Putwain PD (2006) Woody biomass phytoremediation of contaminated brownfield land. *Environmental Pollution*, 141:387-395.
- Gardea-Torresdey JL, Peralta-Videa JR, Rosa G de la & Parsons JG (2005) Phytoremediation of heavy metals and study of the metal coordination by X-ray absorption spectroscopy. *Coordination Chemistry Reviews*, 249:1797-1810.
- Hartley-Whitaker J, Ainsworth G, Vooijs R, Bookum WT, Schat H & Meharg AA (2001) Phytochelatin are involved in Differential Arsenate Tolerance in *Holcus lanatus*. *Plant Physiology*, 126:299-306.
- Hunt R (1978) Plant growth analysis. London, Edward Arnold Limited, 67p.
- Israr M, Sahi S, Datta R & Sakar D (2006) Bioaccumulation and physiological effects of mercury in *Sesbania drummondii*. *Chemosphere*, 65:591-598.
- Izquierdo I, Caravaca F, Alguacil MM, Hernández G & Roldán A (2005) Use of microbiological indicators for evaluating success in soil restoration after revegetation of mining area under subtropical conditions. *Applied Soil Ecology*, 30:3-10.
- Li MS (2006) Ecological restoration of mineland with particular reference to the metalliferous mine wasteland in China: A review of research and practice. *Science of The Total Environment*, 357:38-53.
- Lins CEL, Cavalcante UMT, Sampaio EVSB, Messias AS & Maia LC (2006) Growth of mycorrhized seedlings of *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. in a copper contaminated soil. *Applied Soil Ecology*, 31: 181-185.
- Melo RF (2006) Potencial de espécies vegetais para fitorremediação de um solo contaminado por arsênio. Tese de doutorado. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. 107p.
- Ramos WES (2005) Contaminação por mercúrio e arsênio em ribeirões do quadrilátero ferrífero-MG, em áreas de mineração e atividades garimpeiras. Dissertação de mestrado. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. 99p.
- Ruley AT, Sharma NC, Sahi S, Singh SR & Sajwan KS (2006) Effects of lead and chelators on growth, photosynthetic activity and Pb uptake in *Sesbania drummondii* grow in soil. *Environmental Pollution*, 144:11-18.
- Sahi SV, Israr M, Srivastava AK, Gardea-Torresdey JL & Parsons JG (2007) Accumulation, speciation and cellular localization of copper in *Sesbania drummondii*. *Chemosphere*, 67:2257-2266.
- Song SQ, Zhou X, Wu H & Zhou YZ (2004) Application of municipal garbage compost on revegetation of tin tailings dams. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2:59-76.
- Tapio S & Grosche B (2006) Arsenic in the aetiology of cancer. *Mutation Research*, 612:215-246.
- Tripathi RD, Srivastava S, Mishra S, Singh N, Tuli R, Gupta DK & Maathuis FJM (2007) Arsenic hazards: strategies for tolerance and remediation by plants. *TRENDS in Biotechnology*, 25:158-164.
- Wong MH (2003) Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere*, 50: 775-780.
- Zhang ZQ, Shu WS, Lan CY & Wong MH (2001) Soil seed bank as an input of seed source in revegetation of lead/zinc mine tailings. *Restoration Ecology*, 9:378-385.