

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA GOIANO – IF GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E
CONSERVAÇÃO**

**POTENCIAL FITORREMEIADOR DE *Lonchocarpus
cultratus* AOS METAIS MANGANÊS E CHUMBO**

Autora: Dayane Gomes de Oliveira
Orientador: Lucas Anjos de Souza

RIO VERDE - GO
Agosto – 2018

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA GOIANO – IF GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E
CONSERVAÇÃO**

**POTENCIAL FITORREMEIADOR DE *Lonchocarpus
cultratus* AOS METAIS MANGANÊS E CHUMBO**

Autor: Dayane Gomes de Oliveira
Orientador: Lucas Anjos de Souza

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO, no Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde - Área de concentração Conservação dos recursos naturais.

RIO VERDE - GO
Agosto – 2018

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

OOL48p Oliveira, Dayane Gomes de
POTENCIAL FITORREMEIADOR DE Lonchocarpus
cultratus AOS METAIS MANGANÊS E CHUMBO / Dayane Gomes
de Oliveira; orientador Lucas Anjos Souza; co-
orientador Alan Carlos Costa. -- Rio Verde, 2018.
58 p.

Dissertação (Mestrado em Mestrado em Biodiversidade e
Conservação) -- Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, 2018.

1. fitorremediação. 2. metais tóxicos. 3. técnicas de recuperação. 4.
solos contaminados. 5. ecotoxicologia. I. Souza, Lucas Anjos, orient.
II. Costa, Alan Carlos, co-orient. III. Título.

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO, PESQUISA E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E
CONSERVAÇÃO**

**POTENCIAL FITORREMEDIADOR DE *LONCHOCARPUS
CULTRATUS* AOS METAIS CHUMBO E MANGANÊS**

Autora: Dayane Gomes de Oliveira
Orientador: Lucas Anjos de Souza

TITULAÇÃO: Mestre em Biodiversidade e Conservação – Área de
concentração Conservação dos Recursos Naturais.

APROVADA em 31 de agosto de 2018.



Prof. Dr. Rafael Marques Pereira Leal
Avaliador externo
IF Goiano / Rio Verde



Prof. Dr. Fábio Henrique Dyszy
Avaliador interno
IF Goiano / Rio Verde



Lucas Anjos de Souza
Orientador
IF Goiano / Rio Verde



Alan Carlos da Costa
Presidente da banca
IF Goiano / Rio Verde

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus, por ter me dado à vida, a força e a vontade de viver e por ter me proporcionado oportunidades de chegar onde estou hoje.

Agradeço a minha mãe Nilzete, por terem me trazido ao mundo, educado e ensinado a viver com liberdade e responsabilidade, por estar comigo me incentivar e entender em tantas ausências, sem a senhora eu nada seria, pois é minha base, meu começo, meio e fim.

Aos meus irmãos: Dayene e João Marcos, pelo companheirismo, pelo amor e o carinho sempre prestados. Sou fã de vocês, sou coruja mesmo, porque são meus tesouros, meus lindos, os meus amados.

A toda família maravilhosa que eu tenho: avós, tias e tios, primas e primos, que são à base do meu desejo de vencer, pois sempre foram incentivadores das minhas lutas. Em especial madrinha Nilza, tio Clóves, vovó Marina, por terem prestado apoio incondicional em toda a caminhada desse estudo.

Obrigada a cada um dos amigos que presenciaram meu isolamento, meu distanciamento e torceram pelo meu sucesso: Rosa Andreia, Andrielle, Valter Telles, Rodolfo, Carolina, Tatiane, Rudiery, Thais, Alex, Orceny, Susana, Marisa, Vicemar, Hyago, Thiago, Agna, Antônio Neto.

Ao longo dessa caminhada e de toda a vida, pessoas entram e saem de nossas vidas, deixam marcas e são marcadas por nós. Essa dissertação é a concretização de um sonho, que sonhei só, mas que muitas mãos ajudaram a construir. E a construção é valiosa, pois torna o sonho algo físico, essas páginas a seguir. Obrigada por ser esteio, por ser companheira, por ter deixado de viver sonhos em prol do meu, por ter resistido enquanto suas forças lhe permitiram minha gratidão a Fúlvia Ribeiro.

A todos os colegas que iniciaram o mestrado comigo: Letícia Rigonato, Tainara Furtado, Taciane Pinheiro, Samylla Tássia, Alex Rios, Janailson e Daniela Ataidés.

A todos os professores que contribuíram com a minha formação, desde a infância até essa fase. Gratidão imensa ao trabalho de vocês que abriram os caminhos da minha formação. Em especial agradeço à Flávia Assumpção Santana, eterna inspiração como ser humano e pesquisadora. Ao professor Aurélio Rúbio e Luciana Vitorino, pelas valiosas reuniões estatísticas. Agradeço ao professor Lucas Anjos, pela orientação prestada.

Obrigada professores que aceitaram o convite de contribuir com esse trabalho, participando da banca de defesa: Professor Alan Costa, Prof. Fábio Dyszy, Prof. Rafael Leal, o trabalho de vocês é sem duvida inspirador e certamente serão as contribuições mais valiosas.

As pessoas que contribuíram com esse estudo, ajudando nas várias fases da pesquisa, instalação e condução do experimento: Letícia Rigonato, Nayane, Alcindo, Higor, Roberto Vital.

A parceria com a UNESP de Ilha Solteira, na pessoa da professora Liliane Camargos, que possibilitou a realização de várias análises que possibilitaram a conclusão dessa pesquisa.

Você merece muito mais que um parágrafo. Desde o início até a última correção você esteve presente. Foi meu ombro, meu consolo, meu esteio, ficou brava, deu conselho, me corrigiu e incentivou me fez abrir os olhos e vislumbrar que um dia todas essas páginas estariam escritas e contribuiu para que eu não desistisse. Obrigada por absolutamente TUDO que fizestes a mim. O curso marca em vários momentos, mas o principal foi ter conhecido a amiga tão valiosa que é você, gratidão a Letícia Rigonato de Lima, eu acredito em anjos.

Gratidão à secretaria estadual de educação de Goiás, CRECE Jataí, por todo apoio durante o período de aprimoração profissional, agradeço a Coordenadora da CRECE, Prof^a. Marina Silveira, um exemplo de liderança a ser seguida e todos os profissionais envolvidos nas minhas atividades docentes do Colégio Marcondes de Godoy/Luziano Dias e Alcântara de Carvalho/Clobertino Naves.

A todos os funcionários do IF Goiano campus Rio Verde, principalmente aos alunos do Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e Fisiologia Vegetal, espaço este muito necessário para aprimoramento do conhecimento e condução de experimento, e as funcionárias da biblioteca.

Ao IF Goiano, seus departamentos, secretarias, programas que durante o período foram importantes para concretização desse projeto. A FAPEG pela concessão de uma bolsa de estudos.

BIOGRAFIA DA AUTORA

DAYANE GOMES DE OLIVEIRA, nascida em 24 de maio de 1990 em Caçu-Goiás, filha de Nilzete de Oliveira Borges Silva e Oênio Gomes da Silva.

Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Goiás, Campus Quirinópolis em 2012. Especialista em Tecnologias Aplicadas ao Ensino de Biologia pela Universidade Estadual de Goiás, Campus Goiânia em 2015.

Atua como Professora do Ensino Fundamental Fase II e Ensino Médio na Rede Estadual de Educação do Estado de Goiás desde 2013, lotada na Subsecretária de Educação de Jatai. Atuou como Professora do Ensino Fundamental Fase II na Rede Municipal de Educação em Jatai, Professora de Auxiliar de Farmácia no Instituto Mix Profissões e Mult Profissões e Professora no Curso Técnico em Enfermagem pelo PRONATEC/SEDUCE.

Ingressou no Mestrado em Biodiversidade e Conservação em agosto de 2016, cuja dissertação foi defendida em agosto de 2018.

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABELAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES.....	xii
RESUMO GERAL	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUÇÃO	3
Referências bibliográficas.....	7
OBJETIVOS	11
CAPÍTULO I POTENCIAL FITORREMEIADOR DE <i>Lonchocarpus cultratus</i> AO METAL MANGANÊS	12
ABSTRACT.....	14
3.1 INTRODUÇÃO.....	15
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.2.1 Preparo do solo e instalação do experimento.....	17
3.2.2 Germinação e medidas de crescimento.....	18
3.2.3 Análise de trocas gasosas e fotoquímica.....	19
3.2.4 Determinação de teores de Manganês.....	19
3.2.5 Determinação de teor de clorofila <i>a</i> e <i>b</i>	20
3.2.6 Determinação do potencial fitorremediador	20
3.2.7 Delineamento experimental e análise estatística.....	20
3.3 RESULTADOS	21
3.3.1 Crescimento	21
3.3.2 Acúmulo de Mn e potencial de fitorremediação.....	23
3.3.3 Determinação de teor de clorofila <i>a</i> e <i>b</i>	25

3.3.4 Trocas gasosas	25
3.3.5 Fotoquímica	26
3.4 DISCUSSÃO	28
3.4.1 Crescimento	28
3.4.2 Acúmulo de Mn e potencial de fitorremediação	30
3.4.3 Determinação de teor de clorofila <i>a</i> e <i>b</i>	31
3.4.4 Trocas gasosas	31
3.4.5 Fluorescência da clorofila <i>a</i>	32
3.5 CONCLUSÃO	33
3.6 REFERÊNCIAS	33
CAPÍTULO II POTENCIAL FITORREMEIADOR DE <i>Lonchocarpus cultratus</i> AO METAL CHUMBO	37
ABSTRACT	39
4.1 INTRODUÇÃO	40
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	42
4.2.1 Preparo do solo e instalação do experimento	42
4.2.2 Germinação e medidas de crescimento	43
4.2.3 Análise de trocas gasosas e fluorescência da clorofila <i>a</i>	43
4.2.4 Determinação de teores de Chumbo	44
4.2.5 Determinação de teor de clorofila <i>a</i> e <i>b</i>	44
4.2.6 Determinação do potencial fitorremediador	44
4.2.7 Delineamento experimental e análise estatística	45
4.3 RESULTADOS	45
4.3.1 Crescimento	45
4.3.2 Acúmulo de Pb e potencial de fitorremediação	48
4.3.3 Determinação de teor de clorofila <i>a</i> e <i>b</i>	49
4.3.4 Trocas gasosas	50
4.3.5 Fotoquímica	50
4.4 DISCUSSÃO	52
4.4.1 Crescimento	52
4.4.2 Acúmulo de Pb e potencial de fitorremediação	52
4.4.3 Determinação de teor de clorofila <i>a</i> e <i>b</i>	53
4.4.4 Trocas gasosas	53
4.4.5 Fluorescência de clorofila <i>a</i>	54
4.5 CONCLUSÃO	54

4.6 REFERÊNCIAS	54
CONCLUSÃO GERAL.....	58

ÍNDICE DE TABELAS

CAPÍTULO I CARACTERIZAÇÃO DA TOLERÂNCIA E POTENCIAL FITORREMEIADOR DE *Lonchocarpus cultratus* AO METAL MANGANÊS

	Página
TABELA 1. Parâmetros de crescimento de <i>Lonchocarpus cultratus</i> em resposta a doses crescentes de Manganês, comprimento de caule (C.C – cm), área foliar (A.F – cm ²), número de folhas (N.F - unidades), comprimento de raiz (C.R – cm), volume de raiz (V.R – ml), massa seca de raiz (M.S.R – g), massa seca de caule (M.S.C – g), massa seca de pecíolo (M.S.P – g), massa seca de folha (M.S.F. – g), massa seca parte aérea (M.S.P.A – g).....	22
TABELA 2. Concentração de manganês (mg/kg) em tecidos vegetais de <i>Lonchocarpus cultratus</i> em resposta a doses crescentes de Mn.	23
TABELA 3. Acúmulo de manganês (µg/planta) em tecidos vegetais de <i>Lonchocarpus cultratus</i> em resposta a doses crescentes de Mn.	24
TABELA 4. Potencial fitorremediador de <i>Lonchocarpus cultratus</i> em resposta a doses crescentes de Mn: Itol (Índice de tolerância), IT (índice de translocação) e FT S-P (Fator de transferência Solo-Planta).	24
TABELA 5. Parâmetros fotossintéticos – Trocas Gasosas (A (Taxa fotossintética µmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹), E (Transpiração mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹), g _s (Condutância estomática mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹), C _i (Concentração interna de CO ₂ µmol mol ⁻¹), C _i /C _a (Razão entre as concentrações interna e externa de CO ₂).	26
TABELA 6. Parâmetros fotossintéticos – fluorescência da clorofila a (F _v /F _m Rendimento quântico máximo do PSII), ETR (Taxa de transporte de elétrons µmol m ⁻² s ⁻¹), Y(II) (Rendimento quântico do PSII), qP (Dissipação fotoquímica), qL (Fração de centros do PSII abertos), qN (Dissipação não fotoquímica), NPQ (Coeficiente de extinção não fotoquímico).	27

CAPÍTULO II CARACTERIZAÇÃO DA TOLERÂNCIA E POTENCIAL FITORREMEIADOR DE *Lonchocarpus cultratus* AO METAL CHUMBO

Página

TABELA 1. Parâmetros de crescimento de *Lonchocarpus cultratus* em resposta a doses crescentes de Chumbo, comprimento de caule (C.C – cm), área foliar (A.F – cm²), número de folhas (N.F - unidades), comprimento de raiz (C.R – cm), volume de raiz (V.R – ml), massa seca de raiz (M.S.R – g), massa seca de caule (M.S.C – g), massa seca de pecíolo (M.S.P – g), massa seca de folha (M.S.F. – g), massa seca parte aérea (M.S.P.A – g)..... 47

TABELA 2. Concentração de chumbo (mg/kg) em tecidos vegetais de *Lonchocarpus cultratus* em resposta a doses crescentes de Pb. 48

TABELA 3. Acúmulo de chumbo (µg/kg) em tecidos vegetais *Lonchocarpus cultratus* em resposta a doses crescentes de Pb. 48

TABELA 4. Potencial fitorremediador de *Lonchocarpus cultratus* em resposta a doses crescentes de Pb: Itol (Índice de tolerância), IT (índice de translocação) e FT S-P (Fator de transferência Solo-Planta). 49

TABELA 5. Parâmetros fotossintéticos – Trocas Gasosas: A (Taxa fotossintética µmol CO₂ m⁻² s⁻¹), E (Transpiração mol H₂O m⁻² s⁻¹), g_s (Condutância estomática mol H₂O m⁻² s⁻¹), C_i (Concentração interna de CO₂ µmol mol⁻¹), C_i/C_a (Razão entre as concentrações interna e externa de CO₂). 50

TABELA 6. Parâmetros fotossintéticos – Fluorescência da clorofila a (F_v/F_m) Rendimento quântico máximo do PSII, ETR (Taxa de transporte de elétrons µmol m⁻² s⁻¹), Y(II) (rendimento quântico da dissipação não regulada), qP (Dissipação fotoquímica), qL (Fração de centros do PSII abertos), qN (Dissipação não fotoquímica), NPQ (Coeficiente de extinção não fotoquímico)..... 51

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

CAPÍTULO I CARACTERIZAÇÃO DA TOLERÂNCIA E POTENCIAL FITORREMEIADOR DE *Lonchocarpus cultratus* AO METAL MANGANÊS

Figura 1 – Crescimento de parte aérea *L. cultratus* submetido a doses crescentes de manganês: A) 40 mg/dm³, B) 60 g/dm³, C) 80 g/dm³, D) 100 g/dm³, E) 120 g/dm³, e F) 140 g/dm³..... 21

Figura 2 – Crescimento de parte aérea e raízes de *L. cultratus* submetido a doses crescentes de manganês: A) 40 mg/dm³, B) 60 g/dm³, C) 80 g/dm³, D) 100 g/dm³, E) 120 g/dm³, e F) 140 g/dm³..... 21

Figura 3 – Índice de clorofilas a e b em *L. cultratus* submetidas as doses crescentes de manganês. 25

CAPÍTULO II CARACTERIZAÇÃO DA TOLERÂNCIA E POTENCIAL FITORREMEIADOR DE *Lonchocarpus cultratus* AO METAL CHUMBO

Figura 1 - Crescimento de parte aérea *L. cultratus* submetido a doses crescentes de chumbo: A) 0 mg/dm³, B) 100 g/dm³, C) 200 g/dm³, D) 300 g/dm³, E) 400 g/dm³, e F) 500 g/dm³..... 45

Figura 2 - Crescimento de parte aérea e raízes de *L. cultratus* submetido a doses crescentes chumbo: A) 0 mg/dm³, B) 100 g/dm³, C) 200 g/dm³, D) 300 g/dm³, E) 400 g/dm³, e F) 500 g/dm³..... 46

Figura 3 – Índice de clorofilas a e b em *L. cultratus* submetidas a doses crescentes de chumbo..... 49

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

SÍMBOLO OU SIGLA	SIGNIFICADO
A	Taxa fotossintética
A.F	Área foliar
Al	Alumínio
BM	Biomassa
C.C	Comprimento de caule
C.R	Comprimento de raiz
Ca	Cálcio
Cd	Cadmio
Ci	Concentração interna de CO ₂
<i>Ci/Ca</i>	Razão entre carbono interno e externo
Co	Cobalto
CO ₂	Dióxido de carbono ou gás carbônico
Cu	Cobre
dm ³	Decímetro cubico
<i>E</i>	Transpiração
ETR	Taxa de transporte de elétrons
<i>F₀</i>	Mínimo de fluorescência de folhas adaptadas ao escuro
<i>F_m</i>	Máximo de fluorescência de folhas adaptadas ao escuro
FT S-P	Fator de transferência
<i>F_v</i>	Diferença entre <i>F_m</i> e <i>F₀</i>
<i>F_v/F_m</i>	Rendimento quântico do fotossistema II
g/L	Gramas por litro
<i>g_s</i>	Condutância estomática
HClO ₄	Ácido perclórico
Hg	Mercúrio
HNO ₃	Ácido Nítrico
ICP-OES	Espectrômetro de Emissão Atômica com Plasma Induzido
IT	Índice de translocação
ITol	Índice de tolerância
M.S.C	Massa seca caule
M.S.F	Massa seca folha
M.S.P	Massa seca pecíolo

M.S.P.A	Massa seca parte aérea
M.S.R	Massa seca raiz
$\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	Micromol por metro quadrado por segundo
mg	Miligrama
mg.kg^{-1}	Miligrama por quilo
Mg.L^{-1}	Miligrama por litro
mL	Militro
Mn	Manganês
MP	Metal pesado
N	Nitrogênio
N.F	Número de folhas
Ni	Níquel
NPK	Fertilizante com três nutrientes: nitrogênio, fósforo e potássio.
NPQ	Coefficiente de extinção não fotoquímica
PA	Parte aérea
PAR	Radiação ativa fotossintética
Pb	Chumbo
PbSO_4	Sulfato de chumbo
PSI	Fotossistema I
PSII	Fotossistema II
qL	Fração de centros do PSII abertos
qN	Dissipação não fotoquímica
qP	Coefficiente de extinção fotoquímica
R	Raízes
SISVAR	Sistema de análise estatística
V.R	Volume de raiz
Y	Rendimento quântico do PSII
Zn	Zinco

RESUMO GERAL

OLIVEIRA, DAYANE GOMES. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, agosto de 2018. Potencial fitorremediador de *Lonchocarpus cultratus* aos metais manganês e chumbo. Orientador: Prof. Dr. Lucas Anjos de Souza. Coorientador: Prof. Dr. Alan Carlos Costa.

O cerrado é um bioma de alta biodiversidade e importância ecológica, porém com 50% do seu território desmatado. A ocupação humana alterou o bioma, para promover o desenvolvimento da pecuária, agricultura e indústria. Os desdobramentos da industrialização causam a contaminação do solo por metais pesados como o chumbo (não nutriente) e o manganês (nutriente essencial). O chumbo utilizado como matéria-prima nas indústrias, contamina o solo quando presente em resíduos descartados inadequadamente. O manganês requerido pelas plantas atua na fotossíntese e no metabolismo das plantas. A toxicidade do manganês depende da sua disponibilidade no solo. Ambientes contaminados exigem técnicas adequadas para recuperação e manutenção dos ecossistemas naturais. A fitorremediação é uma técnica promissora para recuperação de áreas contaminadas, apresenta características benéficas econômicas e ambientais. Espécies de leguminosas arbóreas contribuem para a sucessão de espécies e sustentabilidade de sistemas ecológicos e podem ser utilizadas na fitorremediação de metais. Na fitorremediação não há necessidade de retirada das plantas remediadoras da área contaminada, possibilitando a conservação de espécies nativas. Portanto, o objetivo desse estudo foi caracterizar a resposta fisiológica de *L. cultratus* a dois metais tóxicos, chumbo e manganês, determinar o potencial como fitorremediadora. *L. cultratus* foi considerada tolerante ao excesso de manganês e ao excesso de chumbo. O crescimento vegetal não foi afetado nos tratamentos de Mn e Pb, a fotossíntese foi afetada, porém sem prejuízos ao vegetal, a espécie pode ser considerada fitoestabilizadora para o excesso de Pb e tolerante ao Mn.

Palavras Chave: fitorremediação, metais tóxicos, técnicas de recuperação, solos contaminados, ecotoxicologia, plantas do cerrado.

ABSTRACT

OLIVEIRA, DAYANE GOMES. Goiano Federal Institute – Rio Verde Campus – GO, august of 2018. *Lonchocarpus cultratus* phytoremediation potential to manganese and lead metals. Adviser: Dr. Lucas Anjos de Souza. Co-adviser: Prof. Dr. Alan Carlos Costa.

The Cerrado is a biome of high biodiversity and ecological importance, but with 50% of its territory deforested. The human occupation altered the biome, to promote the development of livestock, agriculture and industry. The industrialization unfolding causes soil contamination by heavy metals such as lead (non-nutrient) and manganese (essential nutrient). Lead used as raw material in industries contaminates the soil when present in improperly discarded waste. The manganese required by plants acts on photosynthesis and on plant metabolism. The manganese toxicity depends on its availability in soil. Contaminated environments require adequate techniques for recovery and maintenance of natural ecosystems. Phytoremediation is a promising technique for recovering contaminated areas, presenting beneficial economic and environmental characteristics.

Tree legume species contribute to the species succession and ecological systems sustainability and can be used in metals phytoremediation. In phytoremediation there is no need to remove the remedial plants from the contaminated area, allowing the conservation of native species. Therefore, the objective of this study was to characterize the physiological response of *L. cultratus* to two toxic metals, lead and manganese, to determine potential as phytoremediation. *L. cultratus* was considered tolerant to manganese and lead excess. The plant growth was not affected by Mn and Pb treatments, the photosynthesis was affected, but without damage to the plant so the species can be considered Phyto stabilizing for the Pb excess and tolerant to Mn.

Key words: phytoremediation, toxic metals, recovery techniques, contaminated soils, ecotoxicology, cerrado plants.

INTRODUÇÃO

O Cerrado é um domínio antigo, que data do período do Cretáceo (entre 145 milhões e 65 milhões de anos antes do presente). Em que havia uma formação de pré-cerrado (MACHADO, 2008). Ocorreu com o passar do tempo, alteração gradativa de clima, que anteriormente era mais seco, para um período mais úmido, favoreceu a diversificação da flora e da fauna (GIBBS et al., 2015). As fitofisionomias se diversificaram e a diversidade e qualidade dos solos, além de elementos como o fogo, moldaram o atual domínio do Cerrado (MACHADO, 2008).

O Cerrado é considerado um *hotspot* mundial de conservação da biodiversidade, pelo alto endemismo ameaçado e elevado grau de perda de habitat. Aproximadamente um milhão de quilômetros quadrados originais do Cerrado foram transformados em formação de pastagens, plantio de monoculturas de interesse agrônomo, áreas urbanas e florestas plantadas, principalmente de eucalipto, entre outros (RIBEIRO, 2005).

Desde o século XVIII, o cerrado está sofrendo com a ocupação pela exploração de ouro e pedras preciosas e posteriormente com desenvolvimento de infraestruturas na construção de Brasília e políticas agrícolas desenvolvimentistas baseadas na revolução verde (MACHADO, 2004). A expansão da indústria e da monocultura tem aumentado significativamente nos últimos vinte anos (COELHO et al., 2013), o cerrado tem perdido área para plantações, construções de indústrias e hidrelétricas (FALEIRO, 2013).

Os processos de expansão de áreas urbanas, descarte inadequado dos resíduos produzidos em residências e indústrias têm provocado a degradação do cerrado ao espalhar plumas de poluição em seu território natural tão reduzido (GUILHERME, 2016). Os poluentes que podem atingir o solo, a água e o ar são os mais variados, e podem conter diversas substâncias que podem atingir todos os níveis tróficos ecológicos. Resíduos domésticos e de indústrias mineradoras, de manufaturas de

produtos eletrônicos, produtoras de pilhas, fertilizantes, pesticidas e lâmpadas são os principais responsáveis pela contaminação da água e do solo por conterem metais pesados (RIBEIRO et al., 2013).

Os metais pesados passam a representar fonte de contaminação, pelo fato de indústrias, mineradoras, siderurgias e população os liberar em excesso no ambiente natural sem pré-tratamento e sem posterior remediação da área afetada (SANTANA, 2008). Fontes antropogênicas de contaminação do ambiente por metais pesados estão relacionados ao processo de urbanização, que geram resíduos como: compostos de lixo, lodo de esgoto, águas residuais e combustão de combustíveis fósseis e na agricultura com o uso intenso e inadequado de fertilizantes e pesticidas no solo, aliado ao aumento das atividades industriais e de mineração (SARWAR et al., 2017).

Metal pesado (MP) é um termo aplicado a um grupo de elementos químicos com peso específico maior que 5 g.cm^{-3} ou com número atômico maior que 20 (MALAVOLTA et al. 2006). Outras formas de designar metais pesados são: metais tóxicos, elementos potencialmente tóxicos ou elementos-traço.

Os metais pesados são classificados como metais essenciais e não essenciais (SANTANA, 2008). Metais essenciais são micronutrientes, exigidos em quantidades menores se comparados aos macronutrientes e que são importantes para a sobrevivência das plantas, têm papéis regulatórios em vários processos biológicos, como nas proteínas transferidoras de elétrons e cofatores de numerosas enzimas, por exemplo: cobalto (Co^{2+}), cobre (Cu^{2+}), níquel (Ni^{2+}) e zinco (Zn^{2+}) e o manganês (Mn^{2+}) que foi utilizado nos ensaios desse trabalho (MALAVOLTA et al. 2006). Contudo, concentrações excessivas desses metais resultam em fitotoxicidade. Já metais não essenciais são aqueles que não possuem funções biológicas conhecidas como cádmio (Cd^{2+}), mercúrio (Hg^{2+}) e chumbo (Pb^{2+}) utilizado nos ensaios desse trabalho.

A contaminação por metais pesados seja micronutrientes essenciais ou não essenciais, acarreta riscos ao ecossistema pela alta reatividade dos metais e capacidade de bioacumulação que pode fazê-los atingir todos os níveis tróficos ecológicos (RIBEIRO et al., 2013). Para evitar tal situação, faz-se necessário aplicar técnicas de remediação em áreas que estejam contaminadas por excesso de metais pesados.

A remediação de áreas contaminadas por metais pesados pode ser de natureza química, física ou biológica (FENG, 2017). Envolvendo diferentes técnicas como troca iônica, extração por solvente, redução da oxidação, reversão osmótica, fitorremediação, separação por membranas e filtração por precipitação (AMADO, 2015).

A escolha da melhor técnica de remediação de uma área contaminada envolve uma análise detalhada da área a ser remediada, a caracterização dos poluentes, os perigos e riscos da poluição (KRUMINS, 2015). A tendência é dar preferência às técnicas de remediação *in situ*, como a fitorremediação, por apresentarem baixos custos e não provocarem contaminações secundárias (FERNÁNDEZ, 2016).

A fitorremediação é uma técnica biológica que se refere ao uso de plantas na descontaminação de solos poluídos, principalmente com metais pesados, reduzindo seus teores aos níveis seguros à saúde humana, além disso, essa técnica pode contribuir na melhoria das características físicas, químicas e biológicas destas áreas (FENG, 2017). Como fator positivo, ainda pode ser considerada como uma técnica de baixo custo, socialmente e ambientalmente aceita, que além de promover a remediação ou atenuação do contaminante, pode promover a conservação de espécies vegetais em áreas degradadas (FERNÁNDEZ, 2016). Em países desenvolvidos, como os Estados Unidos, Canadá e Alemanha vêm se expandindo cada vez mais, seja por sua grande viabilidade técnica e/ou econômica (BASU, 2018).

A fitorremediação é uma técnica promissora que no Brasil têm trabalhos publicados, concentrados em solos contaminados por metais e herbicidas (MARQUES et al., 2011), solos salinos (SOUZA et al., 2012) e com enfoque em plantas nativas do Cerrado (OLIVEIRA et al., 2009; LOPES, 2010). Ainda há muito que se pesquisar sobre os mecanismos ecofisiológicos das plantas do cerrado submetidas ao estresse por metais, pois ainda são poucos os trabalhos envolvendo a fitorremediação com essas espécies, principalmente se tratando de leguminosas arbóreas (HARIDASAN, 2005).

Em relação ao excesso de metais, existem publicações que consideram a fitorremediação para níquel e cobre (CAIRES et al., 2011), cádmio (ZEITOUNI et al., 2007), chumbo (ROMEIRO et al., 2007; PEREIRA et al., 2010; OLIVEIRA, 2012) e zinco (ZEITOUNI et al., 2007, FERNÁNDEZ, 2017).

O Brasil apresenta grande potencial de espécies para uso na fitorremediação para recuperação de áreas contaminadas pela biodiversidade e ao clima que favorecem os processos biológicos no tratamento da poluição (MARQUES et al., 2011). Porém, ainda é restrita a relação de espécies de árvores nativas tropicais que reconhecidamente sejam efetivas para servir a esse propósito (CAIRES et al., 2011), e estudos específicos sobre plantas do Cerrado que possuem a habilidade de fitorremediar são escassos (LOPES, 2010). Estudos sobre o potencial de plantas nativas do Cerrado para a fitorremediação

são carentes e necessários, tendo em vista os resultados promissores já obtidos em alguns trabalhos.

No Brasil, os níveis de referência para investigação dos teores de metal pesado e de outras substâncias químicas em solos são definidos na Resolução CONAMA nº 420 (BRASIL 2009), que viabiliza a avaliação de contaminação e a criação de indicadores que monitorem as áreas expostas a metais e dos seres vivos existentes nela, uma vez que são poucos os estudos que determinam as concentrações limites do metal que não apresentam risco para o ambiente e o ser humano.

A fitorremediação pode ser dividida nos seguintes mecanismos (SALT, 1998; SARWAR et al., 2017, BASU, 2018):

- Fitoextração: uso de plantas acumuladoras de poluentes para remover metais ou produtos orgânicos do solo, concentrando-os na parte aérea;
- fitodegradação: uso de plantas associadas aos microrganismos para degradar poluentes orgânicos;
- rizofiltração: uso de raízes de plantas para absorver e adsorver poluentes, principalmente metais, de águas e fluxos de resíduos aquosos;
- fitoestabilização: uso de plantas para reduzir a biodisponibilidade de poluentes no meio ambiente;
- fitovolatilização: o uso de plantas para volatilizar poluentes.

Nos mecanismos de fitorremediação, a escolha da planta para realizar é técnica é de extrema importância, levando em consideração a fisiologia do vegetal. Para selecionar plantas como possíveis fitorremediadoras é preciso que elas apresentem algumas características como, por exemplo, crescimento rápido, elevada produção de biomassa, competitividade, vigor e tolerância à poluição (AMADO, 2015). Gêneros de algumas leguminosas apresentam essas características e podem ser estudadas para fitorremediação, pois várias espécies desse grupo são consideradas como pioneiras.

A adubação verde com leguminosas tem sido a melhor para a recuperação da qualidade física do solo, proporcionando menor resistência do solo para penetração e menor densidade do solo (BONINI, 2012). Essas espécies produzem grande quantidade de biomassa, fornecem nutrientes e melhoram a qualidade do solo. As leguminosas servem como adubo verde porque fixam nitrogênio (N) e geram biomassa rica nesse nutriente (PINZÓN-TORRES, 2008). Apresentam vantagens como menor erosão, maior retenção de água, melhor ciclagem de nutrientes, controle de plantas espontâneas e inibição de pragas e doenças.

As leguminosas são amplamente utilizadas na recuperação de áreas degradadas, pois a simbiose com microrganismos aumenta a atividade microbiana no solo, auxiliando na recuperação física e química do solo e devolução de nutrientes ao solo, promovendo a sucessão ecológica de espécies perdidas na área (MOREIRA, 2014).

A família Fabaceae (leguminosas) trata-se da terceira maior família de angiospermas do planeta, com 727 gêneros e 19.325 espécies, a maior família botânica do Brasil, com mais de 222 gêneros (GOMES, 2017). Com essa diversidade de gêneros, *Lonchocarpus* se destaca por possuir espécies utilizadas na recuperação de áreas degradadas no cerrado (DURIGAN, 1990; LIRA et al., 2013)

O gênero *Lonchocarpus* Kunth (Leguminosae), conhecido comumente como “Timbó”, compreende cerca de 120 espécies, das quais 23 são nativas do Brasil (TOZZI, 2007). *Lonchocarpus cultratus* (Vell.) é uma espécie que possui como sinônimos basiônimo *Pterocarpus cultratus* Vell., heterotípico *Derris guillemianiana* (Tul.) J.F.Macbr., heterotípico *Lonchocarpus guillemianus* (Tul.) Malme, de acordo com a última atualização da Flora do Brasil (SILVA, 2015).

A escassez de estudos com o gênero *Lonchocarpus* motiva a ampliação de trabalhos que visem a expansão de informações sobre a dinâmica das espécies do referido gênero no ambiente e o seu papel na recuperação de áreas degradadas.

Referências bibliográficas

AMADO, S.; CHAVES, J. T. Fitorremediação: uma alternativa sustentável para remediação de solos contaminados por metais pesados. **Natureza Online**, v. 13, n. 4, p. 158-164, 2015.

ARAÚJO, A. S. A. et al. Fitorremediação de solos contaminados com arsênio (Ar) utilizando braquiária. **Ciênc. agrotec.**, v. 35, n.1, p.84-91, 2011.

BASU, S., RABARA, R.C., NEGI, S. Engineering PGPMOs through Gene Editing and Systems Biology: A Solution for Phytoremediation?, v. 36, n. 5, p. 499–510, 2018.

BIAZÃO, T. C. Utilização de *Echinochloa polystachia* (Kunth) Hitchc. (POACEAE) na fitorremediação de solo contaminado com petróleo. Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente Urbano e Industrial) - Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, 61p, 2012.

BONINI, C.S.B., ALVES, M.C., Qualidade física de um Latossolo Vermelho em recuperação há dezessete anos, **R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental**, v.16, n.4, p.329–336, 2012.

BRANCALION, P.H.S, GARCIA, L.C., LOYOLA, R., RODRIGUES, R.R., PILLAR, V.P., LEWINSOHN, T. M., A critical analysis of the Native Vegetation Protection Law of Brazil (2012): updates and ongoing initiatives, **Natureza & Conservação**, v.14, p. 1-15, 2016.

CAIRES, S. M. et al. Desenvolvimento de mudas de cedro-rosa em solo contaminado com cobre: tolerância e potencial para fins de fitoestabilização do solo, **Revista Árvore**, v.35, n.6, p.1181-1188, 2011.

COELHO, M.S., RESENDE, F.M., FERNANDES, G.W. Chinese economic growth: implications for Brazilian conservation policies. **Nat. Cons.** v.11, p. 88–91, 2013.

FALEIRO, F.V., MACHADO, R.B., R.D. LOYOLA, R.D., Defining spatial conservation priorities in the face of land-use and climate change, **Biol. Conserv.**, v.158, p. 248-257, 2013.

FENG, N. X. et al. Efficient phytoremediation of organic contaminants in soils using plant–endophyte partnerships. **Science of the Total Environment**, v. 583, p. 352-368, 2017.

FERNÁNDEZ, S. et al. Phytoremediation capability of native plant species living on Pb-Zn and Hg-As mining wastes in the Cantabrian range, north of Spain. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 174, p. 10-20, 2017.

FRANCO, A. C. Biodiversidade de forma e função: implicações ecofisiológicas das estratégias de utilização de água e luz em plantas lenhosas do Cerrado. In: A. Scariot; J. C. Sousa-Silva; J. M. Felfili (Orgs.). Cerrado: ecologia, biodiversidade e conservação. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, p. 179- 196 2005.

GIBBS, B.H.K., RAUSCH, L., MUNGER, J., MORTON, D. C., NOOJIPADY, P., BARRETO, P., MICOL, L., AND WALKER, N. F Brazil's Soy Moratorium, **Science**, v.347, p.377–378, doi:10.1126/science.aaa0181, 2015.

GUILHERME, F. A. G.; SOUZA, L. F.; AMARAL, E. V. E. J. ; COELHO, C. P. ; ELISEU, G. ; CARNEIRO, S. E. S. Flora do Cerrado: ferramentas de conservação da diversidade vegetal no Sudoeste Goiano. In: Dimas Moraes Peixinho; Marluce Silva Sousa. (Org.). Reconfiguração do Cerrado: usos, conflitos e impactos ambientais. 000 ed. Goiânia: Editora UFG, v.00, p. 35-52, 2016.

HARIDASAN, M. Alumínio é um elemento tóxico para plantas nativas do cerrado? In: C. H. B. A. Prado; C. A. Casali (Orgs.). Fisiologia Vegetal: práticas em relações hídricas, fotossíntese e nutrição mineral. Barueri: Manole, p. 1-10, 2006.

HARIDASAN, M. Competição por nutrientes em espécies arbóreas do cerrado. In: A. Scariot; J. C. Sousa-Silva; J. M. Felfili (Orgs.). Cerrado: ecologia, biodiversidade e conservação. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, p. 167-178, 2005.

LIRA, J. M. S.; FERREIRA, R. A.; SILVA JÚNIOR, C. D. DA; D. C. SANTOS NETO, E. M. DOS; SANTANA, W. DA S. Análise de crescimento e trocas gasosas de

plantas de *Lonchocarpus sericeus* (Poir.) sob alagamento para uso na recuperação de matas de ciliares, **Ciência Florestal**, v.23, p.655-665, 2013.

LOPES, D. Plantas nativas do Cerrado uma alternativa para fitorremediação. *Estudos*, v.37, n.3/4, p. 419- 437, 2010.

MACHADO, R.B., L.M.S. AGUIAR, A.A.J.F. CASTRO, C.C. NOGUEIRA, M.B. RAMOS NETO, Caracterização da fauna e flora do Cerrado. In: FALEIRO, F. G.; FARIAS-NETO, A. L. (Eds.). *Savanas: Desafios e Estratégias para o Equilíbrio entre a Sociedade, o Agronegócio e os Recursos Naturais*. 1.ed. Planaltina, Brasília: EMBRAPA Cerrados. cap. 9, p. 285-300, 2008.

MACHADO, R.B., M.B. RAMOS NETO, P.G.P. PEREIRA, E.F. CALDAS, D.A. GONÇALVES, N.S. SANTOS, K. TABOR E M. STEININGER, Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro. Relatório técnico. Conservação Internacional, Brasília, DF, 2004.

MALAVOLTA, E. Manual of mineral nutrition of plants. Sao Paulo, Brazil: Editora Agronômica Ceres (em Português), 2006.

MOREIRA, V. JUSTINO, G.C. CAMARGOS, L.S & LEANDRO FERREIRA AGUIAR, L.F. Características adaptativas da associação simbiótica e da fixação biológica do nitrogênio molecular em plantas jovens de *Lonchocarpus muehlbergianus* Hassl., uma leguminosa arbórea nativa do Cerrado, **Rodriguésia** v. 65, n.2, p. 517-525, 2014.

OLIVEIRA, A. P. **Avaliação da influência dos macronutrientes na bioacumulação do chumbo pela *Eichhornia crassipes***. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 121p, 2012

OLIVEIRA, D. L. et al. Plantas nativas do Cerrado: uma alternativa para fitorremediação. **Estudos**, v.36, n.11/12, p.1141-1159, 2009.

PINZÓN-TORRES, J.A. & SCHIAVINATO, M.A. Crescimento e fotossíntese em quatro leguminosas arbóreas, **Hoehnea**, v.35, n.3, p. 395-404, 2008.

RIBEIRO, J. F. et al. Ocupação do bioma Cerrado e conservação da sua diversidade vegetal. In: A. Scariot; J. C. Sousa-Silva; J. M. Felfili (Orgs.). *Cerrado: ecologia, biodiversidade e conservação*. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, p.383-399, 2005.

RIBEIRO, MARCOS ANDRÉ DO CÔTO et al. Contaminação do solo por metais pesados, Dissertação de Mestrado, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias 2013.

ROMEIRO, S. et al. Absorção de chumbo e potencial de fitorremediação de *Canavalia ensiformes* L. **Bragantia**, v.66, n.2, p.327-334, 2007.

SALT D.E, SMITH R.D, RASKIN I. Phytoremediation, **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 49, p.643–668, 1998.

SARWAR, N. et al. Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: Modifications and future perspectives **Chemosphere**, v. 171, p. 710-721, 2017.

SANTANA, O. A. et al.. Nutrientes e metais no solo e em árvores de Cerrado adjacentes a um aterro sanitário. **Cerne**, v.14, n.3, p.212-219, 2008.

SILVA, M.J. & TOZZI, A.M.G.A. Revisão taxonômica de *Lonchocarpus* s. str. (Leguminosae, Papilionoideae) do Brasil. Acta Bot. Bras., Feira de Santana, v. 26, n. 2, p. 357-377, jun. 2012. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-33062012000200012&lng=pt&nrm=iso>. acessos em 14 ago. 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-33062012000200012>.

SILVA, M.J. DA; TOZZI, A.M.G.A. *Lonchocarpus* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB23052>, 2015.

TOZZI, A. M. G. A.; SILVA, M. J.; Sinonimizações em *Lonchocarpus* Kunth (Leguminosae Papilionoideae - Millettieae) **Rodriguésia**, v.58, n. 2 275-282, 2007.

VELDMAN, J.W., OVERBECK, G.E., NEGREIROS, D., et al., Wheretree planting and forest expansion are bad for biodiversity and ecosystem services. **BioScience XX**, p.1-8, 2015.

ZEITOUNI, C. F.; BERTON, R. S.; ABREU, C. A. Fitoextração de cádmio e zinco de um latossolo vermelho-amarelo contaminado com metais pesados. **Bragantia**, v.66, n.4, p.649-657, 2007.

OBJETIVOS

Geral

- Determinar o potencial fitorremediador de *Lonchocarpus cultratus* para chumbo e manganês.

Específicos

- Caracterizar a resposta de *Lonchocarpus cultratus* aos metais chumbo e manganês;
- Determinar a tolerância de *Lonchocarpus cultratus* ao chumbo e ao manganês;
- Determinar o efeito dos metais chumbo e manganês sobre os parâmetros fotossintéticos de *Lonchocarpus cultratus*;
- Determinar o efeito dos metais chumbo e manganês sobre os parâmetros biométricos de *Lonchocarpus cultratus*.

CAPÍTULO I

POTENCIAL FITORREMEDIADOR DE *Lonchocarpus cultratus* AO METAL MANGANÊS

RESUMO

O Cerrado é um dos maiores biomas do território nacional. Restam apenas 20% da vegetação nativa original, devido seu desmatamento o qual é provocado para permitir os processos de expansão urbana e industrialização, assim causam contaminação do solo e dos recursos hídricos, por excesso de metais pesados como o manganês. As áreas contaminadas devem ser recuperadas para restabelecimento do ecossistema. A utilização de técnicas de recuperação (*in situ*) proporcionam mais benefícios ao ambiente. A fitorremediação apresenta-se como promissora, pois, além de menor custo não há necessidade de retirada das plantas remediadoras da área contaminada. O objetivo desse trabalho foi a caracterização dos efeitos do Mn^{2+} sobre o potencial fitorremediador e metabolismo fotossintético de *Lonchocarpus cultratus*. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, expondo *Lonchocarpus cultratus* a doses crescentes de manganês nas concentrações de 40, 60, 80, 100, 120 e 140 g/dm³. Após 6 meses de experimento foram analisados dados biométricos, fotossintéticos, fotoquímicos, teor de manganês nos tecidos vegetais para determinação do potencial fitorremediador. O crescimento e os parâmetros fotossintéticos de *L. cultratus* não foram afetados pelo excesso de manganês. O metal ficou acumulado na parte aérea, indicando o potencial de translocação da planta do solo para a parte aérea. *L. cultratus* pode ser considerada tolerante ao excesso de manganês. Um fator importante para que a mesma possa ser utilizada na restauração de áreas com excesso de manganês. Os resultados ampliam a necessidade e motivação em planejamentos que visem à conservação da espécie.

Palavras Chave: fitorremediação, metais tóxicos, técnicas de recuperação, solos contaminados, ecotoxicologia, plantas do cerrado.

ABSTRACT

The Cerrado is one of the largest biomes in the country. Only 20% of the native vegetation remains, due to industrialization and deforestation. Processes of urban expansion and industrialization of contamination of soil and water resources, by means of metals such as manganese. Contaminated areas must be recovered for ecosystem restoration. The use of recovery techniques (*in situ*) provides more benefits to the environment. Phytoremediation is promising because, in addition to a lower cost, it allows the metabolization of organic compounds, and there is no need to remove plants from the contaminated area. Therefore, the present work aimed to characterize the effects on the phytoremediation potential and the photosynthetic metabolism of *Lonchocarpus cultratus*. This experiment was conducted with a tree legume *Lonchocarpus cultratus* and increasing doses of manganese at the concentrations of 40, 60, 80, 100, 120 and 140 g/dm³. After 6 months of experiment, biometric, photosynthetic, photochemical and manganese contents were collected in plant tissues to determine the phytoremediation potential. The growth and photosynthetic parameters of *L. cultratus* were not affected by excess manganese. The metal is stored in the aerial part, indicating the translocation potential of the plant, from the ground to the aerial part. *L. cultratus* can be considered tolerant to excess manganese. An important factor for the same generation is in the prevention of areas with excess manganese. The results should be calculated and motivated in planning for the conservation of the species.

Key words: phytoremediation, toxic metals, recovery techniques, contaminated soils, ecotoxicology, cerrado plants.

3.1 INTRODUÇÃO

O Cerrado é um dos maiores biomas do território nacional, localizado na região central do Brasil, e, apesar de sua rica biodiversidade e importância ecológica, é também o mais desmatado (KLINK, 2005; GUILHERME, 2016). O cerrado é conhecido como a savana mais rica do mundo, considerado um dos *hotspots* mundiais da biodiversidade (SOUZA et al, 2016). Atualmente restam apenas 20% da vegetação nativa original. Entre outras causas da devastação, pode-se citar a agropecuária, principalmente a plantação de soja, que é direcionada para o mercado externo e tem ocupado grandes territórios originais do cerrado (FERREIRA, 2008; GUILHERME, 2016).

O homem desmata o cerrado por finalidades distintas como, por exemplo, pastagens, construção e aumento das áreas urbanas e mineração. A falta de cuidado, então, transforma o cerrado todos os dias. O nível de desmatamento é tão alarmante que há uma previsão, feita por pesquisadores da CI-Brasil (Conservação Internacional-Brasil), de que o cerrado possa desaparecer até 2030 (SILVA, 2008). A ocupação humana mudou muito isso, até mesmo os ciclos de queimadas, tornando-as mais intensas, com fins econômicos, principalmente no desenvolvimento da pecuária, agricultura e indústria, por isso, igualmente prejudicada (GUILHERME, 2016).

As atividades industriais e de expansão urbana possuem processos que causam contaminação do solo e dos recursos hídricos (ARAUJO, 2007). O gerenciamento inadequado das escórias de atividades siderúrgicas ligados a mineração do carvão, fabricas de vernizes, fertilizantes e vidros, descarte inadequado de pilhas e baterias aumentam as taxas de manganês presentes no solo (SOBRAL, 2011; VOLPATO, 2016).

O manganês (Mn) é um dos diversos nutrientes minerais requeridos pelas plantas, disponíveis no solo e que possui papel fundamental na fotossíntese além de outras funções no metabolismo das plantas. A eficiência ou a toxicidade do manganês para as plantas depende da disponibilidade desse elemento no solo (CRUVINEL, 2009) e, também da capacidade de absorção desse elemento pela planta. Sua toxicidade está intrinsicamente relacionada a solos ácidos, onde sua disponibilidade é acentuada. Um solo com excesso em manganês pode acarretar prejuízos para o desenvolvimento das plantas interferindo na absorção de outros nutrientes minerais e culminando em efeitos deletérios no processo fotossintético (OLIVEIRA et al 2007; SOCHA, 2014).

Uma vez que uma área é caracterizada como contaminada pelo excesso de um metal pesado, como o manganês, o gerenciamento necessita de organização e planejamento que visem às técnicas de manejo adequadas para recuperação do ambiente (ANDRADE, 2009). Recuperar áreas contaminadas com compostos químicos provenientes dos processos industriais envolve técnicas com riscos ambientais (*ex situ*). Todavia, existem técnicas que estão sendo estudadas e aprimoradas (*in situ*), que envolvem organismos vivos com a capacidade de degradar, imobilizar ou isolar os poluentes presentes no solo (SANTOS, 2013).

Existe um interesse crescente em técnicas biológicas para a despoluição de solos e águas contaminadas (ACCIOLY & SIQUEIRA, 2000; SANTOS, 2013) particularmente no uso de plantas, técnica chamada de fitorremediação. O emprego da fitorremediação na despoluição de solos com níveis elevados de compostos orgânicos e/ou inorgânicos vem sendo pesquisado ao longo do tempo e tem oferecido subsídio para o aprimoramento da técnica (LISTE e ALEXANDER, 1999; ROGERS et al., 1996; VOSE et. al, 2000; ROMEIRO,2007).

Há potencial em estudos envolvendo plantas fitorremediadoras do cerrado, tendo em vista que mesmo em condições de solos ácidos, característica desse bioma, as plantas se desenvolvem apresentando tolerância aos metais em excesso (MARQUES, 2011). A vegetação do cerrado é pouco conhecida pela comunidade científica e necessita de estudos que identifiquem e descrevam as espécies, a nível bioquímico, estrutural e molecular quanto aos mecanismos de absorção, translocação e compartimentalização que conferem a tolerância a metais (KLINK, 2005; MACHADO, 2008). Desse modo, possibilitando conhecer e compreender os mecanismos fisiológicos que permitem tais espécies prosperarem em tais ambientes, o que envolve compreender além dos hábitos das plantas, a capacidade de absorver substâncias presentes no solo (SANTOS, 2013).

Estudos relacionam a capacidade fitorremediadora de espécies nativas do cerrado a metais considerados essenciais e outros potencialmente tóxicos (BIAZÃO, 2012). A fitorremediação de petróleo por *Echinochloa polystachya*, foi analisada (GILBERTI, 2012). Resultados satisfatórios de fitorremediação de arsênio por *Baccharis dracunculifolia* (ARAUJO, 2011), e fitorremediação de cobre por *Cedrela fissilis* também foram obtidos (CAIRES et al, 2011). Várias espécies arbóreas do cerrado já foram consideradas hiperacumuladoras de alumínio, *Qualea grandiflora*, *Miconia ferruginata*, *Policourea rígida* e outras, porém os poucos estudos para

determinar os mecanismos de exclusão, absorção ou transporte do metal não chegaram a conclusões a cerca dos mecanismos fisiológicos envolvidos (SANTOS, 2013).

As espécies arbóreas apresentam sucesso na hiperacumulação de contaminantes distintos (LOPES, 2010). Espécies de leguminosas arbóreas contribuem para a sucessão de espécies e sustentabilidade de sistemas ecológicos em fase de recuperação ou manutenção da flora (BORGHI, 2004; PINTO, 2009). Apresentam alta concentração de nitrogênio em conseguinte elevada produção de biomassa (folhas, galhos, raízes, nódulos, entre outros), possibilitando estudos relacionando à capacidade fitorremediadora de solos contaminados com metais tóxicos.

Pertencente à família Fabaceae, subfamília: Caesalpinioideae, o gênero *Lonchocarpus* possui aproximadamente 120 espécies, sendo 23 nativas não endêmicas do Brasil. Esse gênero está distribuído nos biomas caatinga, mata atlântica e cerrado (SANTOS et al, 2009). Adicionalmente, *Lonchocarpus cultratus* é encontrada principalmente nos estados Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro, Santa Catarina e São Paulo de acordo com a lista de espécies da flora do Brasil. Essa espécie é uma leguminosa arbórea, potencialmente utilizada na recuperação de áreas degradadas devido a simbiose com microrganismos capazes de fixar nitrogênio (DURIGAN, 1990; FERREIRA, 1990; PINTO, 2009).

A fitorremediação apresenta-se como promissora, pois, além de menor custo, possibilita a metabolização de contaminantes não havendo, nessa situação, necessidade de retirada das plantas remediadoras da área contaminada, possibilitando a conservação da espécie (CUNNINGHAM et al., 1996; ROMEIRO, 2007; OLIVEIRA et al, 2007). Portanto, o presente trabalho teve como objetivo a caracterização dos efeitos do Mn sobre o potencial fitorremediador e metabolismo fotossintético de *Lonchocarpus cultratus*.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Preparo do solo e instalação do experimento

O solo foi coletado homogeneizado em betoneira, peneirado em malha 2 mm e amostrado em cinco pontos e, então, foi enviado para realização de análises químicas e classificação textural. Posteriormente, um volume de 2 dm³ de solo foi acondicionado em sacos plásticos com capacidade de 3 litros, então foi realizado o procedimento de adição de solução com os níveis requeridos do metal.

A solução contendo manganês foi preparada utilizando sulfato de manganês na concentração de 10 g/L. Então, essa solução foi utilizada para adição das seguintes quantidades de Mn no solo: 120 mg, 160 mg, 200 mg, 240 mg e 280 mg. Essa quantidade de manganês foi adicionada ao solo com volume total de 400 mL de água, para obter as concentrações de 60 g/dm³, 80 g/dm³, 100 g/dm³, 120 g/dm³ e 140 g/dm³. Após esse procedimento, o solo foi homogeneizado manualmente e mantido incubado por 15 dias.

Após o período de incubação e de acordo com análise química do solo, o mesmo recebeu complementação nutricional, no momento da semeadura, de modo que as plantas não sofressem deficiência nutricional. Para isso foram adicionados 1,25 g/dm³ de adubo NPK 08:28:16. Em cada vaso, foi adicionado 2,5 gramas de adubo. Para reposição de alguns nutrientes (enxofre, zinco e boro) foi preparada uma solução contendo concentrações respectivas de 25 mg/L, 17 mg/L e 1 mg/L e aplicada três meses após a semeadura, quando todas as sementes estavam germinadas. O enxofre e o zinco foram adicionados através do sal heptahidratado de sulfato de zinco e o boro pelo ácido bórico. Cada vaso recebeu 15 mL da solução.

As sementes de *Lonchocarpus cultratus* foram fornecidas pela empresa Sementes Caiçara. As sementes foram selecionadas manualmente e visualmente de acordo com seu vigor para manter homogeneidade nos parâmetros visíveis. Previamente ao plantio, as sementes foram embebidas em água durante quatro horas e então foram semeadas três sementes por vaso.

3.2.2 Germinação e medidas de crescimento

Para determinação da taxa de germinação, a partir da primeira germinação, o monitoramento foi feito diariamente por 15 dias. Foram observados todos os vasos e registrados os resultados diários. Após a germinação completa, foi realizado o acompanhamento do crescimento da parte aérea através da medida do comprimento do caule durante 6 meses. Ao final do experimento foi realizada a medida de massa seca de folhas, caule e raízes bem como a aferição do volume de raízes. Todas as medidas de crescimento vegetal foram realizadas de acordo com Benincasa (2003).

3.2.3 Análise de trocas gasosas e fotoquímica

Para determinação da resposta fotossintética de plantas submetidas a doses crescentes de manganês, foi realizada medidas de trocas gasosas utilizando um analisador portátil de gases no infravermelho (IRGA, LI 6400xt, Li-Cor, Nebraska, EUA, com PAR de $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Os seguintes parâmetros foram analisados: taxa fotossintética (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática [g_s , $\text{mol (H}_2\text{O) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$], transpiração (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e razão entre as concentrações interna e externa de CO_2 (C_i/C_a).

Para determinação da fluorescência da clorofila a foi determinada a partir da câmara de fluorescência conjugada do aparelho IRGA. A fluorescência máxima após adaptação ao escuro (F_m) e o rendimento quântico máximo do fotossistema II (F_v/F_m) foram avaliados no período entre 20 e 22 horas. Os parâmetros fluorescência máxima após adaptação à luz (F_m') e “steady – state” (F_v) foram avaliadas no período entre as 7h30 e 11 horas. A partir dos dados obtidos, calculou-se o rendimento quântico efetivo do FSII ($Y(\text{II})$), o rendimento quântico do quenching não fotoquímico (NPQ) e o rendimento quântico da dissipação não regulada ($Y(\text{NO})$), utilizando-se as seguintes equações: $Y(\text{II}) = \Delta F/F_m' = (F_m' - F_v)/F_m'$ NPQ = $(F_m - F_m')/F_m'$ $Y(\text{NO}) = F_v / F_m$. Avaliou-se os parâmetros qP (Dissipação fotoquímica), qL (Fração de centros do PSII abertos), qN (Dissipação não fotoquímica). As avaliações foram realizadas em folhas totalmente expandidas.

3.2.4 Determinação de teores de Manganês

As amostras de material vegetal foram moídas e digeridas em solução ácida de $\text{HNO}_3:\text{HClO}_4$ (5:1 – v/v) durante 12 horas, posteriormente a temperatura do bloco digestor foi elevada a 50°C a cada 30 minutos até atingir 200°C , o extrato límpido resultante foi completado com água ultrapura e foi analisado diretamente em espectrômetro de emissão óptica com plasma induzido por argônio (ICP-OES) para determinação dos teores de Mn.

3.2.5 Determinação de teor de clorofila *a* e *b*

Os teores das clorofilas *a* e *b* foram mensurados utilizando um clorofilômetro digital (clorofiLOG v.1.10, Falker Automação Agrícola Ltda). As leituras foram realizadas na segunda folha de uma das unidades experimentais disponíveis em cada vaso.

3.2.6 Determinação do potencial fitorremediador

Utilizando-se os dados de massa e quantidade acumulada de Mn, foram realizados os cálculos para determinação do potencial fitorremediador: índice de tolerância (IT) e índice de translocação (IT%) de acordo com Rahman, *et al.*, (2013), fator de transferência (FT) de acordo com Lübben e Sauerback (1991).

$$IT = \frac{BM_{tratamentos}}{BM_{controle}}$$

$$IT\% = \frac{[MP]_{PA}}{[MP]_{PA+R}} \times 100$$

$$FT_{S-P} = \frac{[MP]_{PLANTA}}{[MP]_{SOLUÇÃO}} \times 100$$

Em que BM = biomassa, PA = parte aérea, R = raízes e MP = metais pesados.

3.2.7 Delineamento experimental e análise estatística

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado contendo (1 metal em 6 concentrações crescentes) e 5 repetições biológicas compostas por três indivíduos cada unidade experimental.

Por meio do software SISVAR, os dados foram submetidos à análise de variância, e análise de regressão.

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Crescimento

Os parâmetros biométricos comprimento de caule, número de folha, comprimento de raiz, volume de raiz e massa seca de caule não foram afetados pelas concentrações de manganês as quais foram submetidas *L. cultratus* (Tabela 1). Enquanto que os parâmetros biométricos área foliar, massa seca de raiz, massa seca de pecíolo, massa seca de folha e massa seca de parte aérea foram afetados, mostrando resposta negativa de acordo com o aumento da concentração de Mn no solo (Tabela 1). O desenvolvimento da parte aérea do vegetal pode ser observado visualmente na figura 1 e na figura 2 da parte aérea com raízes.



Figura 1 – Crescimento de parte aérea *L. cultratus* submetido a doses crescentes de manganês: A) 40 mg/dm³, B) 60 g/dm³, C) 80 g/dm³, D) 100 g/dm³, E) 120 g/dm³, e F) 140 g/dm³.



Figura 2 – Crescimento de parte aérea e raízes de *L. cultratus* submetido a doses crescentes de manganês: A) 40 mg/dm³, B) 60 g/dm³, C) 80 g/dm³, D) 100 g/dm³, E) 120 g/dm³, e F) 140 g/dm³.

TABELA 1. Parâmetros de crescimento de *Lonchocarpus cultratus* em resposta a doses crescentes de Manganês, comprimento de caule (C.C – cm), área foliar (A.F – cm²), número de folhas (N.F - unidades), comprimento de raiz (C.R – cm), volume de raiz (V.R – ml), massa seca de raiz (M.S.R – g), massa seca de caule (M.S.C – g), massa seca de pecíolo (M.S.P – g), massa seca de folha (M.S.F. – g), massa seca parte aérea (M.S.P.A – g).

Tratamento	C.C.	A.F.	N.F.	C.R.	V.R.	M.S.R.	M.S.C.	M.S.P.	M.S.F.	M.S.P.A.
Controle (40)	13,5 ± 0,80	273,6 ± 52,91	5,5 ± 0,23	24,9 ± 2,12	6,7 ± 1,00	4,2 ± 0,65	1,7 ± 0,22	0,3 ± 0,03	2,9 ± 0,33	4,9 ± 0,51
60	13,6 ± 1,92	170,5 ± 66,31	3,6 ± 0,58	22,9 ± 0,37	5,4 ± 1,33	4,0 ± 1,26	1,8 ± 0,54	0,3 ± 0,09	2,5 ± 0,88	4,6 ± 1,50
80	11,7 ± 0,23	136,1 ± 17,65	4,8 ± 0,44	35,9 ± 7,63	4,6 ± 1,11	2,4 ± 0,62	1,1 ± 0,26	0,2 ± 0,02	1,6 ± 0,22	2,9 ± 0,49
100	12,2 ± 0,58	240,6 ± 67,53	4,2 ± 0,73	24,2 ± 1,44	4,6 ± 0,76	2,4 ± 0,78	1,1 ± 0,29	0,2 ± 0,06	1,7 ± 0,55	3,0 ± 0,88
120	11,7 ± 0,56	102,1 ± 26,85	4,0 ± 0,38	29,0 ± 4,02	3,7 ± 0,74	2,4 ± 0,63	1,2 ± 0,26	0,2 ± 0,05	1,3 ± 0,29	2,7 ± 0,58
140	14,4 ± 0,91	113,5 ± 17,16	4,5 ± 0,23	27,7 ± 2,11	5,3 ± 0,56	2,2 ± 0,65	1,0 ± 0,25	0,2 ± 0,04	1,3 ± 0,43	2,5 ± 0,69
Significância	ns	*	ns	ns	ns	*	ns	*	*	*
Regressão	-	x	-	-	-	x	-	x	x	x

* - Foi significativo com probabilidade de 0,05.

ns – não significativo.

x – regressão linear.

3.3.2 Acúmulo de Mn e potencial de fitorremediação

A concentração de manganês apresentou significância estatística nos teores avaliados na folha e no caule/pecíolo, porém nas raízes não houve significância (Tabela 2). Em relação ao acúmulo de manganês nos tecidos vegetais de *Lonchocarpus cultratus* os tratamentos não apresentaram significância (Tabela 3). Alguns indicadores de fitorremediação foram afetados pelo aumento das concentrações de Mn no solo e *Lonchocarpus cultratus* apresentou potencial de fitorremediação em relação às doses de manganês testadas (Tabela 4).

TABELA 2. Concentração de manganês (mg/kg) em tecidos vegetais de *Lonchocarpus cultratus* em resposta a doses crescentes de Mn.

Tratamento	Folha	Caule/pecíolo	Raiz
Controle (40)	1065,60 ± 95,28	338,60 ± 31,74	1034,00 ± 134,27
60	1217,20 ± 54,61	363,40 ± 42,35	987,40 ± 176,34
80	1449,00 ± 21,80	625,80 ± 103,83	1213,00 ± 104,53
100	1407,20 ± 29,31	604,60 ± 56,99	1125,40 ± 104,53
120	1513,80 ± 5,13	819,60 ± 72,98	1433,80 ± 30,59
140	1522,80 ± 6,45	1100,20 ± 109,36	1346,80 ± 43,24
Significância	*	*	ns
Regressão	x	x	-

* - Foi significativo com probabilidade de 0,05.

ns – não significativo.

x – regressão linear

TABELA 3. Acúmulo de manganês ($\mu\text{g/planta}$) em tecidos vegetais de *Lonchocarpus cultratus* em resposta a doses crescentes de Mn.

Tratamento	Folha	Caule/pecíolo	Raiz
\pm Controle (40)	2998,38 \pm 330,86	647,18 \pm 54,85	4011,77 \pm 359,15
60	3118,62 \pm 1123,99	653,37 \pm 152,71	4053,05 \pm 1830,47
80	2300,32 \pm 328,02	700,77 \pm 83,77	3137,90 \pm 1001,88
100	2318,45 \pm 695,09	755,87 \pm 148,04	2996,90 \pm 1215,85
120	2038,48 \pm 441,57	1069,01 \pm 199,04	3352,73 \pm 846,91
140	2033,27 \pm 648,12	913,79 \pm 177,98	3053,40 \pm 986,52
Significância	ns	ns	ns
Regressão	-	-	-

* - Foi significativo com probabilidade de 0,05.

ns – não significativo.

TABELA 4. Potencial fitorremediador de *Lonchocarpus cultratus* em resposta a doses crescentes de Mn: Itol (Índice de tolerância), IT (índice de translocação) e FT S-P (Fator de transferência Solo-Planta).

Tratamento	Itol	IT	FT S-P
Controle (40)	1,00 \pm 0,00	0,48 \pm 0,03	0,08 \pm 0,01
60	0,88 \pm 0,24	0,50 \pm 0,04	0,07 \pm 0,03
80	0,68 \pm 0,25	0,53 \pm 0,05	0,06 \pm 0,01
100	0,58 \pm 0,13	0,56 \pm 0,06	0,04 \pm 0,01
120	0,62 \pm 0,20	0,49 \pm 0,02	0,05 \pm 0,01
140	0,56 \pm 0,21	0,52 \pm 0,03	0,03 \pm 0,01
Significância	*	ns	*
Regressão	x	-	x

* - Foi significativo com probabilidade de 0,05.

ns – não significativo.

x – regressão linear.

OBS: Os dados de Índice de tolerância (Itol) e Fator de Transferência Solo-Planta (FT S-P) foram transformados em raiz $x+0,5$ antes de realizar a análise de variância.

3.3.3 Determinação de teor de clorofila a e b

Os índices de clorofilas a e b não foram afetados em nenhuma das doses de manganês (Figura1).

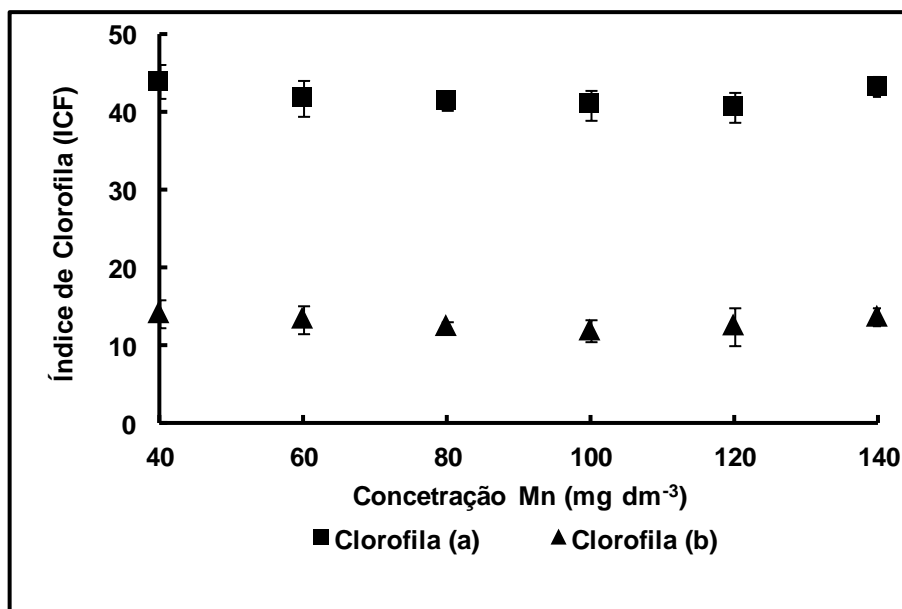


Figura 3 – Índice de clorofilas a e b em *L. cultratus* submetidas as doses crescentes de manganês.

3.3.4 Trocas gasosas

Não houve significância nos parâmetros fotossintéticos analisados. As doses crescentes de manganês que foram analisadas não afetaram o processo fotossintético de *L. cultratus* (Tabela 5).

TABELA 5. Parâmetros fotossintéticos – Trocas Gasosas (*A* (Taxa fotossintética $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), *E* (Transpiração $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), *g_s* (Condutância estomática $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), *C_i* (Concentração interna de $\text{CO}_2 \mu\text{mol mol}^{-1}$), *C_i/C_a* (Razão entre as concentrações interna e externa de CO_2)).

Tratamento	<i>A</i>	<i>E</i>	<i>g_s</i>	<i>C_i</i>	<i>C_i/C_a</i>
Controle (40)	8,14 ± 0,81	1,83 ± 0,46	0,12 ± 0,04	251,89 ± 38,19	0,62 ± 0,10
60	9,00 ± 1,85	1,84 ± 0,29	0,12 ± 0,02	277,22 ± 8,79	0,68 ± 0,01
80	8,94 ± 0,64	2,35 ± 0,38	0,15 ± 0,03	274,17 ± 29,34	0,69 ± 0,07
100	10,14 ± 1,42	2,54 ± 0,29	0,17 ± 0,02	293,10 ± 19,67	0,72 ± 0,04
120	7,90 ± 1,52	1,48 ± 0,25	0,09 ± 0,02	255,21 ± 23,13	0,63 ± 0,05
140	8,80 ± 1,22	1,86 ± 0,38	0,12 ± 0,03	257,92 ± 27,18	0,64 ± 0,06
Significância	ns	ns	ns	ns	ns
Regressão	-	-	-	-	-

* - Foi significativo com probabilidade de 0,05.

ns – não significativo.

3.3.5 Fotoquímica

As doses de manganês que foram testadas não afetaram o processo fotoquímico da fotossíntese. Mesmo a maior dose de manganês não demonstrou estatisticamente alteração relevante no processo fotoquímico (Tabela 6).

TABELA 6. Parâmetros fotossintéticos – fluorescência da clorofila *a* (F_v/F_m), rendimento quântico máximo do PSII), ETR (Taxa de transporte de elétrons $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), Y(II) (Rendimento quântico do PSII), qP (Dissipação fotoquímica), qL (Fração de centros do PSII abertos), qN (Dissipação não fotoquímica), NPQ (Coeficiente de extinção não fotoquímico).

Tratamento	F_v/F_m	ETR	Y(II)	qP	qL	qN	NPQ
Controle (40)	0,95 ± 0,00	78,31 ± 11,51	0,18 ± 0,03	0,21 ± 0,03	0,04 ± 0,01	0,73 ± 0,03	2,34 ± 0,28
60	0,95 ± 0,00	67,73 ± 13,99	0,15 ± 0,03	0,19 ± 0,04	0,04 ± 0,01	0,77 ± 0,02	2,71 ± 0,20
80	0,94 ± 0,01	68,93 ± 10,89	0,16 ± 0,02	0,19 ± 0,03	0,04 ± 0,01	0,74 ± 0,04	2,38 ± 0,32
100	0,93 ± 0,01	64,99 ± 6,05	0,15 ± 0,01	0,18 ± 0,01	0,04 ± 0,00	0,69 ± 0,06	2,15 ± 0,54
120	0,94 ± 0,01	54,02 ± 3,18	0,12 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,72 ± 0,05	2,41 ± 0,56
140	0,94 ± 0,00	63,69 ± 2,84	0,15 ± 0,01	0,18 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,73 ± 0,07	2,69 ± 0,67
Significância	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Regressão	-	-	-	-	-	-	-

* - Foi significativo com probabilidade de 0,05.

ns – não significativo.

3.4 DISCUSSÃO

3.4.1 Crescimento

L. cultratus apresentou as variáveis de crescimento semelhantes entre os tratamentos (Tabela 1). Mesmo com as doses crescentes de manganês que foram adicionadas, o crescimento das plantas não foi afetado. O manganês participa como um cofator enzimático no aparelho fotossintético atua no centro catalítico de oxidação de água induzida por luz no fotossistema II que permite a produção energética necessária para o crescimento vegetal (GAO, 2013).

O excesso de Mn^{2+} pode induzir a vários efeitos negativos na planta, incluindo a produção de espécies reativas de oxigênio, a troca de íons metálicos essenciais dos centros ativos de enzimas ou a ligação a grupos funcionais (grupos sulfidríla, fosfato ou histidina), causando sintomas visíveis de toxicidade como clorose, necrose e inibição do crescimento. Por outro lado, como o Mn^{2+} também é componente essencial nos sítios ativos de enzimas, a deficiência também leva a sintomas de estresse (DUCIC, 2005).

Altas concentrações poderiam causar toxicidade e prejudicar o crescimento vegetal, porém os resultados obtidos sugerem que *L. cultratus* possui mecanismos de tolerância ao excesso de manganês que permite o crescimento vegetal.

Glycyrrhiza uralensis da família Fabaceae, é uma planta herbácea, que foi submetida a doses crescentes de manganês para análise de produção de ácido glicirrízico, que favorece o metabolismo primário e o crescimento do vegetal. No primeiro momento houve o aumento na produção do ácido glicirrízico, porém com o aumento das doses de manganês houve a diminuição na produção do ácido glicirrízico (MA, 2018). O referido ácido influencia na solubilidade de metais pesados e na absorção pela planta mediante formação de complexos metálicos (GAO, 2013).

Em *L. cultratus* o crescimento foi promovido com as doses crescentes de manganês e não houve sinais de toxicidade.

O excesso de manganês absorvido pela planta pode desestabilizar o fotossistema II e degradar o fotossistema I, comprometendo a fixação do carbono, concentração interna de carbono na câmara subestomática, ocasionando menor produtividade de massa seca. O menor crescimento de plantas cultivadas em concentrações tóxicas de Mn^{2+} também é explicado pela menor transpiração. O uso de água fisiologicamente descontrolado é causado pelo dano oxidativo resultante da toxicidade de Mn^{2+} (SANTOS, 2017). Uma espécie que não tem o seu crescimento

afetado pelo excesso de manganês indica que o aparelho fotossintético está se mantendo preservado, por meio de algum mecanismo que esteja utilizando o Mn^{2+} com eficiência.

Ao longo do tempo as plantas desenvolveram mecanismos para se adaptar ao excesso de elementos potencialmente tóxicos, como o Mn^{2+} . Esses mecanismos são baseados na exclusão ou inclusão de Mn^{2+} , que permitem que as plantas tenham um bom desempenho apesar dos altos níveis de Mn^{2+} no tecido. A rizosfera é onde as plantas podem regular a absorção de elementos, através da solubilidade ou a absorção pelo tecido da planta. No caso do Mn^{2+} , o aumento do potencial redox através da difusão de oxigênio na rizosfera seria um processo que limita a mobilidade do Mn^{2+} via oxidação do Mn^{2+} (MILLALEO, 2010). Além disso, a imobilização de Mn^{2+} na via apoplástica de plantas através da oxidação ou complexação com ácidos orgânicos foi descrita como um mecanismo de tolerância para evitar a captação no citosol (MILLALEO, 2010). Outros mecanismos de tolerância incluem o sequestro de Mn^{2+} em organelas de plantas particulares, como o vacúolo ou o retículo endoplasmático, com o auxílio de transportadores específicos para manter baixas as concentrações de Mn^{2+} no citosol (MILLALEO, 2010).

A extração de metais pesados e a manutenção da homeostase do metal nas células são governadas pela atividade de transportadores específicos e bombas de metal (PILON, 2009). Existem proteínas de membrana de diferentes famílias transportadoras de metal em tecidos vegetais. Alguns HMAs (transportadores associados a metais pesados) e NRAMPs (proteínas de macrófagos associados à resistência natural) são bons alvos para aumentar a tolerância a metais pesados por meio da engenharia genética. A superexpressão aumenta a tolerância a metais pesados e não tem efeitos prejudiciais sobre a homeostase fisiológica das plantas (OVEČKA, 2013). Os efeitos benéficos dos transportadores de metal na tolerância aos metais pesados estão relacionados a capacidade de aumentar a extração de metais pesados em vacúolos, em que a formação de complexos quelatos de metais pesados reduz o potencial tóxico (OVEČKA, 2013).

A superexpressão de IRT1 causa a superacumulação de Mn^{2+} com efeitos prejudiciais em plantas de *Arabidopsis thaliana*. Membros da família de proteínas CDF estão localizados nas membranas vacuolares. AtMTP1 é um transportador que atua no citosol, levando substâncias para vacúolos com dependência de V-ATPase. AtMTP11 está localizado nos compartimentos pré-vacuolares e foi verificado na tolerância e acumulação seletiva de Mn^{2+} (DELHAIZE, 2007). A expressão de certas proteínas

aliada a transportadores de metais podem influenciar na tolerância ao excesso de Mn^{2+} como ocorre em *L. cultratus*.

3.4.2 Acúmulo de Mn e potencial de fitorremediação

O manganês está naturalmente presente nas rochas e nos solos, desde o seu processo de formação. Atualmente os solos apresentam maiores concentrações de Mn^{2+} devido à aplicação de corretivos e fertilizantes agrícolas, compostos de lixo urbano e resíduos de indústria ou mineração, além da utilização de água de irrigação contaminada (PAGANINI, 2015).

Foram testados 16 diferentes genótipos de arroz (*Oryza sativa*) a dose de 5 mg dm^{-3} de manganês. Identificou-se que alguns genótipos apresentaram tolerância à toxidez de Mn^{2+} podendo estar relacionada principalmente à exclusão de Mn^{2+} da parte aérea (DZIWORKU, 2018).

Um estudo recente demonstrou que a capacidade de manter alta área foliar e integridade celular foi essencial na cana-de-açúcar tolerante ao Mn^{2+} (ZAMBROSI, 2016).

Três espécies de uva foram analisadas quanto ao potencial de acumulação de manganês, e foram capazes de acumular entre 15 e 30 mM de Mn^{2+} em seus tecidos aéreos e raízes. As espécies foram consideradas com alto potencial para serem utilizadas na fitorremediação de uma área de mineração de Mn^{2+} (MOU, 2011).

Em parte aérea de *L. cultratus* as concentrações de manganês aumentaram conforme houve aumento na disponibilidade de Mn no solo. Enquanto nas raízes as concentrações não foram relevantes. Similarmente aos resultados obtidos no presente estudo, foram também relatados em uma herbácea, *Phytolacca americana*, da família Phytolaccaceae, que apresentou o aumento de ácido oxálico, podendo ser associado ao potencial de fitoextração de Mn^{2+} por essa espécie (MIN, 2007).

Espécies arbóreas foram identificadas como acumuladoras de manganês em ambiente com alto potencial de toxicidade por vários metais associados. Alvarez (2003), afirma que espécies arbóreas podem apresentar maior afinidade por extrair e acumular o Mn^{2+} em relação a outros metais como Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} e Cr^{2+} .

A espécie *Lupinus albus* considerada uma acumuladora de manganês, foi utilizada em pesquisa para associar sua capacidade acumuladora ao potencial de tolerar outro metal, porém não nutriente, o cádmio. Foram obtidos resultados significativos,

pois na presença do Mn^{2+} , *Lupinus albus*, apresentou tolerância ao cádmio e não teve prejuízos em seu aparelho fotossintético (ZORNOZA, 2010). Portanto, espécies acumuladoras de Mn^{2+} , podem ser objeto de pesquisa para potencial de remediação de outros metais associados.

Corroborando, a tolerância de *P. americana* ao excesso de metais zinco e cobre pode ser pela sua capacidade de manter equilíbrio elementar e homeostase redox sob condições de excesso de Mn^{2+} , uma vez que essa é uma espécie considerada hiperacumuladora de Mn^{2+} , podendo acumular até 19,3 mg/Kg por peso seco, pois cresce em solos contaminados (ZHAO,2012).

3.4.3 Determinação de teor de clorofila a e b

De acordo com (SANTOS et al., 2010) os teores de clorofila a e b não sofrem alteração em seus teores disponíveis na folham, quando os efeitos de Mn^{2+} não afetam o processo fotossintético do vegetal. Sugerindo a tolerância de *L. cultratus* a altas concentrações de Mn^{2+} o que é uma característica favorável para recuperação de áreas degradadas do cerrado

3.4.4 Trocas gasosas

A condutância estomática é relacionada ao número, tamanho e diâmetro de abertura dos estômatos e fatores ambientais. Sob estresse a planta tende a fechar os estômatos como mecanismo de defesa que evita a perda de água, aumentando a resistência do vegetal e reduzindo a condutância estomática (Taiz e Zeiger, 2013). A diminuição da concentração interna de CO_2 ocorre, por fatores que diminuem a concentração de CO_2 para o espaço interno das folhas devido à redução da condutância estomática. Isso ocorre pelo fechamento dos estômatos que são influenciados por fatores ambientais como disponibilidade hídrica, luz e energia. O controle estomático é uma propriedade fisiológica, pela qual as plantas comandam a perda de água, reduzindo a condutância estomática e as trocas gasosas como forma de resposta das plantas a diversos fatores, ou estresses pelos quais a planta possa ser imposta (BELO, 2016).

O aparelho fotossintético de *L. cultratus* não sofreu alterações consideráveis que pudessem prejudicar as trocas gasosas e influenciarem de forma negativa o processo fotossintético. *Phytolacca americana*, considerada uma hiperacumuladora de manganês, pois sob estresse metálico, a mesma produz a proteína PAP-H que permite o

seu desenvolvimento. Sugerida para fitorremediação é uma planta herbácea que reforça a evidência que as trocas gasosas podem ocorrer normalmente em sistemas com excesso de manganês disponível (MIN, 2007).

A espécie *Cistus ladanifer* foi utilizada como fitorremediadora de zonas poluídas com metais pesados. O foco da pesquisa foi compreender a capacidade de *C. ladanifer* em extrair, transportar e armazenar Cu, Zn, Mn e Pb na parte aérea da planta. Os resultados obtidos das análises demonstraram que a *C. ladanifer* é acumuladora de Mn^{2+} (117 a 1399 mg/kg) (MEIRA, 2016).

As espécies *Erica australis* e *Erica andevalensis* nativas de uma região próxima à mina São Domingos, foram descritas como importantes na recuperação de áreas mineiras sulfúricas em regiões com clima e condições compatíveis com o seu crescimento, pois acumulam cerca de 264,8 e 597,1 mg/kg de Mn^{2+} (MEIRA, 2016).

3.4.5 Fluorescência da clorofila *a*

O fenômeno de fluorescência fornece informações sobre os processos fotoquímicos do fotossistema II em plantas. A maior parte dos fótons absorvidos é usada na fotoquímica, quando se há baixa emissão de luz. Caso os centros de reação do fotossistema II se fechem pela interrupção da fotossíntese, a energia pode ser dissipada como calor e via fluorescência. A eficiência fotossintética máxima das plantas é calculada por F_v/F_m , em que F_m é a fluorescência máxima e F_v é a fluorescência variável. Já a F_0 representa a fração da energia absorvida pelo complexo-antena e não transmitida. A análise da fluorescência tem vantagens para estudos do transporte de elétrons durante a fotossíntese é possível registrar, o transporte de elétrons no fotossistema II (FRANCO, 2015).

L. cultratus possui mecanismos fisiológicos, podendo ser a produção de proteínas específicas ou a redistribuição de nutrientes nas rotas metabólicas, que controlam as necessidades nutritivas do vegetal, pois mesmo com estresse metálico a fotossíntese não foi prejudicada. *Mentha aquatica* em estudos fisiológicos, bioquímicos e moleculares apresentou um aparelho fotossintético preservado nas concentrações de manganês testadas. Foram realizados testes que correlacionaram os pigmentos fotossintéticos ao acúmulo de Mn, flavonoides, antocianinas e outros. Foi fornecida solução nutritiva para controle das concentrações dos nutrientes (NAZARI, 2017).

Para o pleno desenvolvimento de plantas, os valores ideais de Mn são de 15-20 mg/kg no tecido vegetal. Frassinetti (2014) ao estudar a mangueira obteve o resultado ($375,72 \pm 1,8\%$), entretanto, o valor máximo tolerado é de 400 mg/kg. Porém efeitos tóxicos apenas seriam observados nessa arbórea para concentrações maiores que 800 mg/kg de matéria seca no tecido foliar.

3.5 CONCLUSÃO

A espécie *L. cultratus* pode ser considerada tolerante ao excesso de manganês. A tolerância que a espécie apresentou é um fator importante para que a mesma possa ser utilizada na restauração de áreas com excesso de manganês, como locais próximos a aplicação de corretivos e fertilizantes agrícolas, compostos de lixo urbano e resíduos de indústria ou mineração e em áreas onde se utiliza água de irrigação contaminada. O fato de a espécie apresentar a referida tolerância amplia a necessidade e motivação em planejamentos que visem à conservação da espécie.

3.6 REFERÊNCIAS

ACCIOLY, A. M. A. & SIQUEIRA, J. O. (2000) Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V.; V.H. & SCHAEFER, C.E.G.R., eds. Tópicos em ciência do solo. Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v.1. p. 299-352.

ANDRADE, J. C. M.; TAVARES, S. R. L.; MAHLER, C. (2007) F. Fitorremediação: o uso de plantas na melhoria da qualidade ambiental. São Paulo: Oficina de textos, p. 176.

ARAUJO, R. et al. (2007) Qualidade de um solo sob diferentes usos e sob cerrado nativo R. Bras. Ci. Solo, n.31, p.1099-1108.

BELO, Alessandra Ferreira et al. (2016) Atividade fotossintética de plantas cultivadas em solo contaminado com sulfentrazone. Revista Brasileira de Herbicidas, v. 15, n. 2, p. 175-183, jun.. ISSN 2236-1065. Disponível em: <<http://www.rbherbicidas.com.br/index.php/rbh/article/view/456/456>>. Acesso em: 14 jul. 2018. doi:<https://doi.org/10.7824/rbh.v15i2.456>.

BENINCASA, M.M.P. (2003) Análise de crescimento de plantas: Noções Básicas. Jaboticabal: FUNEP.

BORGHI, W.A. et al (2004) Caracterização e avaliação da mata ciliar à montante da Hidrelétrica de Rosana, na Estação Ecológica do Caiuá, Diamante do Norte, PR, Cad. biodivers. v. 4, n. 2,dez.

CRUVINEL, D.F.C. (2009) Avaliação da fitorremediação em solos submetidos à contaminação com metais, Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental do Centro de Ciências Exatas, Naturais e Tecnologias), apresentada a Universidade de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, São Paulo.

CUNNINGHAM, S. D.; ANDERSON, T. A.; SCHWAB, A. P. (1996) Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. *Advances in Agronomy*, New York, v.56, p.55-114.

DELHAIZE E, GRUBER BD, PITTMAN JK, WHITE RG, LEUNG H, MIAO Y, (2007) A role for the AtMTP11 gene of *Arabidopsis* in manganese transport and tolerance. *Plant J*, 51:198–210.

DUCIC, T.; POLLE, A..(2005) Transport and detoxification of manganese and copper in plants. **Braz. J. Plant Physiol.**, Londrina , v. 17, n. 1, p. 103-112, Mar. . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sciarttext&pid=S1677-04202005000100009&lng=en&nrm=iso>. access on 14 July 2018.

DURIGAN, G. (1990) Taxa de sobrevivência e crescimento inicial das espécies em plantio de recomposição da mata ciliar, *Acta boto bras.* v,4, n.2.

DZIWORNU A, SHRESTHA A, MATTHUS E, ALI B, WU L, (2018) Responses of contrasting rice genotypes to excess manganese and their implications for lignin synthesis, **Plant Physiology and Biochemistry**, vol: 123 pp: 252-259.

FERREIRA, S.A. et al. (1990) Biologia e história natural de *Euphaleurus ostreoides* (Homoptera: Psyllidae) cecidogeno de *Lonchocarpus guilleminianus* (Leguminosae), *Rev. Brasil. Biol.*, n.50, p.417-423 Rio de Janeiro.

FRANCO, M. H. R. et al. (2015) Características fisiológicas do feijoeiro cultivado em solos após fitorremediação do picloram. *Revista Brasileira de Herbicidas*, v. 14, n. 4, p. 315-325, dez. 2015. ISSN 2236-1065. Disponível em: <http://www.rbherbicidas.com.br/index.php/rbh/article/view/454>. Acesso em: 14 jul. 2018. doi:<https://doi.org/10.7824/rbh.v14i4.454>.

GAO, L., PENG, K. XIA, Y. WANG, G. NIU, L. LIAN, C. & SHEN, Z. (2013) Cadmium and manganese accumulation in *Phytolacca americana* L. And the roles of non-protein thiols and organic acids, *International Journal of Phytoremediation*, 15:4, 307-319.

GUILHERME, F. A. G. ; SOUZA, L. F. ; AMARAL, E. V. E. J. ; COELHO, C. P. ; ELISEU, G. ; CARNEIRO, S. E. S. (2016) Flora do Cerrado: ferramentas de conservação da diversidade vegetal no Sudoeste Goiano. In: Dimas Moraes Peixinho; Marluce Silva Sousa. (Org.). Reconfiguração do Cerrado: usos, conflitos e impactos ambientais. 000 ed. Goiânia: Editora UFG, p. 35-52.

LISTE, H. H.; ALEXANDER, M. (1999) Rapid screening of plants promoting phenanthrene degradation. *Journal Environmental Quality*, **Madison**, v.28, p.1376-1377.

MA. S, GUANGWEI ZHU, FULAI YU, GUANGHUI ZHU, DAN WANG, WENQUAN WANG, JUNLING HOUE (2018) Effects of manganese on accumulation of *Glycyrrhizic* acid based on material ingredients distribution of *Glycyrrhiza uralensis* Industrial Crops & Products 112, 151–15.

MILLALEO, R. , REYES-DÍAZ, M. , IVANOV, A.G. , MORA, M.L. , ALBERDI, M. (2010) Manganese as essential and toxic element for plants: transport, accumulation and resistance mechanisms , **J. Soil Sci. Plant Nutr.** 10 (4): 476 – 494.

MIN Y, BOQING T, MEIZHEN T, AOYAMA I, (2007) Accumulation and uptake of manganese in a hyperaccumulator *Phytolacca americana*, **Minerals Engineering**, vol: 20 (2) pp: 188-190.

NAZARI, M. ZARINKAMAR, F. SOLTANI, B.M. (2017) Physiological, biochemical and molecular responses of *Mentha aquatica* L. to manganese, *Plant Physiology et Biochemistry*.

OLIVEIRA, D.M. et al, (2007) Fitorremediação: o estado da arte, Serie Tecnologia Ambiental, CETEM/MCT, Rio de Janeiro.

OVEČKA M, TAKÁČ T, (2013) Managing heavy metal toxicity stress in plants: Biological and biotechnological tools, **Biotechnol Adv** <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.11.011>.

PAGANINI, E.R. MANZINI, F.F. PLICAS, L.M.A. (2015) Comportamento da concentração do metal manganês no solo de acordo com a sazonalidade XI Fórum Ambiental da Alta Paulista, v. 11, n. 8, , pp. 42-56.

PILON M, COHU CM, RAVET K, ABDEL-GHANY SE, GAYMARD F. (2009) Essential transition metal homeostasis in plants. *Curr Opin Plant Biol*;12:347–57.

PINTO, D.D. (2009) Morfoanatomia e ontogênese de *Machaerium* pers. (Fabaceae: Faboideae): fruto, semente e plântula. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas Botânica) apresentada a Universidade Estadual Paulista – campus Botucatu, Botucatu, São Paulo.

ROGERS, H. B.; BEYROUTY, C. A.; NICHOLS, T. D.; WOLF, D. C.; REYNOLDS, C. M. (1996) Selection of cold-tolerant plants for growth in soils contaminated with organics. **Journal of Soil Contamination**, London, v.5, p.171-186.

SANTOS, C.F. ; NOVAK, E. (2013) Plantas nativas do cerrado e possibilidades em fitorremediação, **Revista de Ciências Ambientais**, v.7, n.1 p. 67-78.

SANTOS, E.F. KONDO J.M. SANTINI, A.P. PAIXÃO, E.F. JÚNIOR, J. LAVRES, M. CAMPOS, A.R. DOS REIS, (2017) Physiological highlights of manganese toxicity symptoms in soybean plants: Mn toxicity responses, **Plant Physiology et Biochemistry**.

SANTOS, E.L.S. et al, (2009) Toxicidade e atividade antioxidante de flavonoides das cascas das raízes de *Lonchocarpus filipes* **Quim. Nova**, v. 32, n. 9, p.2255-2258.

SANTOS, G.C.G.d.; RODELLA, A.A.; ABREU, C.A. & COSCIONE, A.R. (2010) Vegetable species for phytoextraction of boron, copper, lead, manganese and zinc from contaminated soil, **Sci. Agric.**, v. 67, n.6, p.713-719, Piracicaba.

SAUERBECK, D. R. (1991) Plant element and soil properties governing uptake and availability of heavy metals derived from sewage sludge. *Water, air, & soil pollution*, v. 57.

SOCHA, A.L.; GUERINOT, M.L. (2014) Mn-euvering manganese: the role of transporter gene Family members in manganese uptake and mobilization in plants, **Frontiers in plant Science**, v.5, n.106.

SOUZA, U.J.B. (2016) Tendências da literatura científica sobre genética de populações de plantas do Cerrado, **Hoehnea** v.43, n.3, o. 461-477.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. (2013) *Fisiologia vegetal*. 5.ed. Porto Alegre: Artmed.

VOSE, J. M.; SWANK, W. T.; HARVEY, G. J.; CLINTON, B. D.; SOBEK, C. (2000) Leaf water relations and sapflow in Eastern cottonwood (*Populus deltoides* Bartr.) trees planted for phytoremediation of a groundwater pollutant. *International Journal of Phytoremediation*, London, v.2, p.53-73.

ZAMBROSI F, MESQUITA G, MARCHIORI P, TANAKA F, MACHADO E, (2016) Anatomical and physiological bases of sugarcane tolerance to manganese toxicity, **Environmental and Experimental Botany**, vol: 132 pp: 100-112.

ZHAO H, WU L, CHAI T, ZHANG Y, TAN J, (2012) The effects of copper, manganese and zinc on plant growth and elemental accumulation in the manganese-hyperaccumulator *Phytolacca americana*, **Journal of Plant Physiology**, vol: 169 (13) pp: 1243-1252.

ZORNOZA P, SÁNCHEZ-PARDO B, CARPENA R (2010) Interaction and accumulation of manganese and cadmium in the manganese accumulator *Lupinus albus*, **Journal of Plant Physiology**, vol: 167 (13) pp: 1027-1032.

CAPÍTULO II

POTENCIAL FITORREMEDIADOR DE *Lonchocarpus cultratus* AO METAL CHUMBO

RESUMO

O bioma Cerrado perdeu mais de 50% de sua cobertura vegetal nativa original à expansão do agronegócio durante o século XX. Atividades antropogênicas cujas aplicações industriais contaminam o ambiente aumentam as concentrações de chumbo presentes no solo como escórias de atividades siderúrgicas e incineração irregular de lixos. O gerenciamento de áreas contaminadas necessita de organização e planejamento que visem às técnicas de manejo adequadas para recuperação do ambiente. A fitorremediação é uma técnica promissora, apresenta menor custo, não havendo necessidade de retirada das plantas remediadoras da área contaminada. A utilização de espécies arbóreas nativas na fitorremediação pode além de solucionar problemas de contaminação ambiental, contribuir para a sucessão ecológica e conservação de espécies. O trabalho teve como objetivo a caracterização dos efeitos do Pb^{2+} sobre o potencial fitorremediador e metabolismo fotossintético de *Lonchocarpus cultratus*. *L. cultratus* foi submetido a doses crescentes de chumbo nas concentrações de 0, 100, 200, 300, 400 e 500 g/dm^3 . Após 6 meses foram analisados dados biométricos, fotossintéticos, fotoquímicos, teor de manganês nos tecidos vegetais para determinação do potencial fitorremediador. A espécie *L. cultratus* pode ser considerada tolerante ao excesso de chumbo. O crescimento vegetal não foi afetado em nenhuma das doses de Pb. No processo fotossintético, as trocas gasosas foram afetadas pelo excesso de Pb, porém a fotoquímica não sofreu alteração. Além da referida tolerância ao excesso de Pb, observou-se o fator de translocação das raízes para a parte aérea, o que caracteriza a espécie como fitoextratora.

Palavras Chave: fitorremediação, metais tóxicos, técnicas de recuperação, solos contaminados, ecotoxicologia, plantas do cerrado.

ABSTRACT

The Cerrado biome lost more than 50% of its native vegetation cover to the expansion of agribusiness during the 20th century. Anthropogenic activities whose industrial applications contaminate the environment increase the concentrations of lead present in the soil as slags of iron and steel activities and irregular incineration of waste. The management of contaminated areas requires organization and planning aimed at the appropriate management techniques for environmental recovery. Phytoremediation is a promising technique, presenting a lower cost, and there is no need to remove the remedial plants from the contaminated area. The use of native tree species in phytoremediation can also solve problems of environmental contamination, contribute to ecological succession and conservation of species. The objective of this work was to characterize the effects of Pb^{2+} on the phytoremediation potential and photosynthetic metabolism of *Lonchocarpus cultratus*. *L. cultratus* was submitted to increasing doses of lead in the concentrations of 0, 100, 200, 300, 400 and 500 g/dm^{-3} . After 6 months, biometric, photosynthetic, photochemical and manganese contents were analyzed in plant tissues to determine the phytoremediation potential. The *L. cultratus* species can be considered tolerant to excess lead. Plant growth was not affected at any of the Pb doses. In the photosynthetic process, the gas exchanges were affected by the excess of Pb, but the photochemistry did not change. In addition to said tolerance to excess Pb, the translocation factor of the roots to the aerial part was observed, which characterizes the species as phytoextratotra.

Keywords: phytoremediation, toxic metals, recovery techniques, contaminated soils, ecotoxicology, cerrado plants.

4.1 INTRODUÇÃO

O hotspot de biodiversidade do Cerrado engloba uma grande variedade de tipos de vegetação nativa, variando da densa vegetação lenhosa (florestas), bosque-parque, matas de galerias, savanas florestais e savanas (OLIVEIRA, 2002). No Brasil, o bioma Cerrado perdeu mais de 50% de sua cobertura vegetal nativa original à expansão do agronegócio durante o século XX (KLINK, 2005). Fatores econômicos e sócio-políticos poderiam levar a melhor compreensão dos processos de perda de vegetação, e assim fornecer as ferramentas necessárias para orientar políticas públicas e esforços de conservação ambiental.

É urgente que fatores econômicos e sócio-políticos sejam abordados, de modo que a produção agrícola e sustentabilidade ambiental possam ser conciliadas (STEFANES, 2018). As paisagens dominadas pela agricultura e pastagens geralmente são mosaicos que incluem outros usos da terra, tais como áreas urbanas, estradas, cursos de água e manchas de vegetação natural (BENNETT, 2006). Estes mosaicos oferecem uma variedade de tipos de habitat para animais e espécies de plantas, que podem ser restritas aos elementos naturais da paisagem ou serem capazes de usar as áreas alteradas pelo homem, preservando espécies nativas.

Visando a conservação da biodiversidade, o uso da terra para atividades agrícolas causa maiores níveis de fragmentação que as atividades de pastagem. A vegetação remanescente nas áreas é irregular. As vegetações em áreas remanescentes podem ser identificadas para melhor conhecimento das espécies presentes na região. E nos possíveis e necessários projetos de reflorestamento em áreas no entorno, investir em espécies nativas que possam ter potencial de remediar o solo que podem estar contaminado com resíduos tóxicos, resíduos industriais e outros provenientes da construção de estradas, moradias e implantação de usinas (CARVALHO, 2009).

Diversas atividades antropogênicas cujas aplicações industriais contaminam o ambiente aumentam as concentrações de chumbo presentes no solo como escórias de atividades siderúrgicas e incineração irregular de lixo (SOBRAL, 2011). Portanto, o gerenciamento de áreas contaminadas necessita de organização e planejamento que visem às técnicas de manejo adequadas para recuperação do ambiente (ANDRADE, 2009).

Estudos relacionam a capacidade fitorremediadora de espécies nativas do cerrado a metais considerados essenciais e outros potencialmente tóxicos (Biazão,

2012). Resultados satisfatórios de fitorremediação de arsênio por *Baccharis dracunculifolia*, e fitorremediação de cobre por *Cedrela fissilis* também foram obtidos (CAIRES et al, 2011). Várias plantas do cerrado já foram consideradas hiperacumuladoras de alumínio; *Qualea grandiflora*, *Miconia ferruginata*, *Policourea rígida* e outras, porém os poucos estudos para determinar os mecanismos de exclusão, absorção ou transporte do metal não chegaram a conclusões a cerca dos mecanismos fisiológicos envolvidos (SANTOS, 2013).

Classificado na família Fabaceae, subfamília: Caesalpinioideae, o gênero *Lonchocarpus* possui aproximadamente 120 espécies, sendo 23 nativas não endêmicas do Brasil. O gênero está distribuído nos biomas caatinga, mata atlântica e cerrado (SANTOS et al, 2009). *Lonchocarpus cultratus* é encontrada principalmente nos estados Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro, Santa Catarina e São Paulo de acordo com a lista de espécies da flora do Brasil. É uma espécie leguminosa arbórea, com utilização em potencial na recuperação de áreas degradadas devido a capacidade simbiótica com microrganismos capazes de fixar nitrogênio (DURIGAN, 1990; FERREIRA, 1990; PINTO, 2009).

São características de espécies de leguminosas arbóreas, contribuir para a sucessão de espécies e sustentabilidade de sistemas ecológicos em fase de recuperação ou manutenção da flora (BORGHI, 2004; PINTO, 2009). Apresentam alta concentração de nitrogênio em conseguinte elevada produção de biomassa (folhas, galhos, raízes, nódulos, entre outros), e possibilita estudos relacionando com a capacidade fitorremediadora de solos contaminados com metais tóxicos.

O chumbo (Pb^{2+}) é um metal conhecido e utilizado pelo homem como matéria-prima em diversos seguimentos industriais devido suas propriedades físico-químicas que são conhecidas há muito tempo. Devido sua alta aplicabilidade nos diversos produtos do dia a dia da sociedade moderna, esse elemento está presente em todas as esferas terrestres (FIGUEIREDO, 2004; ANDRADE, 2009).

Ele é encontrado em abundância na crosta terrestre na forma sólida e pode ser depositado na atmosfera, atingir o solo e até mesmo os lençóis freáticos, por intemperismo ou na maioria das situações, por ações antrópicas quando sofre mudanças em seu estado físico. Sendo considerado um contaminante em potencial, quando suas concentrações superam a capacidade de retenção do solo (FIGUEIREDO, 2004).

A extensa urbanização e desmatamento, os resíduos tóxicos que não estão sendo gerenciados incorretamente vêm causando aumento da poluição do ar, da água e do

solo. Métodos de remediação do solo consomem tempo e mão de obra e custo intensivo, tornando-os inviáveis na remediação das vastas áreas contaminadas. Uma solução é usar recursos naturais como plantas, para fitorremediação (BASU, 2018).

A fitorremediação é uma técnica promissora, pois, além de menor custo, metaboliza compostos orgânicos, não havendo, nessa situação, necessidade de retirada das plantas remediadoras da área contaminada (CUNNINGHAM et al., 1996; ROMEIRO, 2007; OLIVEIRA et al, 2007). Podendo assim ser de forte relevância utilizar espécies arbóreas nativas na fitorremediação, pois além de solucionar problemas de contaminação ambiental, visa a conservação de espécies. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo a caracterização dos efeitos do Pb^{2+} sobre o potencial fitorremediador e metabolismo fotossintético de *Lonchocarpus cultratus*.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Preparo do solo e instalação do experimento

O solo foi coletado homogeneizado em betoneira, peneirado em malha 2 mm e amostrado em cinco pontos e, então, foi enviado para realização de análises químicas e classificação textural. Posteriormente, um volume de 2 dm³ de solo foi acondicionado em sacos plásticos com capacidade de 3 litros, então foi realizado o procedimento de adição de solução com os níveis requeridos do metal.

A solução contendo chumbo foi preparada utilizando acetato de chumbo na concentração de 10 g/L. Então, essa solução foi utilizada para adição das seguintes quantidades de Pb no solo: 200 mg, 400 mg, 600 mg, 800 mg, 1000 mg. Essa quantidade de chumbo foi adicionada ao solo em um volume total de 400 mL de água, para obtermos as concentrações de 100 g/dm³, 200 g/dm³, 300 g/dm³, 400 g/dm³ e 500 g/dm³. Após esse procedimento, o solo foi homogeneizado manualmente e mantido incubado por 15 dias.

Após o período de incubação, e de acordo com análise química do solo, o mesmo recebeu complementação nutricional, no momento da semeadura, de modo que as plantas não sofressem deficiência nutricional. Para isso, foi adicionado 1,25 g/dm³ de adubo NPK 08:28:16. Em cada vaso, foi adicionado 2,5 gramas de adubo. Para reposição de alguns nutrientes (enxofre, zinco e boro) foi preparada uma solução contendo concentrações respectivas de 25mg/L, 17mg/L e 1 mg/L e aplicada três meses após a semeadura, quando todas as sementes estavam germinadas. O enxofre e o zinco

foram adicionados através do sal heptahidratado de sulfato de zinco e o boro pelo ácido bórico. Cada vaso recebeu 15 mL da solução.

As sementes de *Lonchocarpus cultratus* foram fornecidas pela empresa Sementes Caiçara. As sementes foram selecionadas manualmente e visualmente de acordo com seu vigor para manter homogeneidade nos parâmetros visíveis. Previamente ao plantio, as sementes foram embebidas em água durante quatro horas e então foram semeadas três sementes por vaso.

4.2.2 Germinação e medidas de crescimento

Para determinação da taxa de germinação, a partir da primeira germinação, o monitoramento foi feito diariamente por 15 dias. Foram observados todos os vasos e registrados os resultados diários. Após a germinação completa, foi realizado o acompanhamento do crescimento da parte aérea através da medida do comprimento do caule durante 6 meses. Ao final do experimento foi realizada a medida de massa seca de folhas, caule e raízes bem como a aferição do volume de raízes. Todas as medidas de crescimento vegetal foram realizadas de acordo com Benincasa (2003).

4.2.3 Análise de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*

Para determinação da resposta fotossintética de plantas submetidas a doses crescentes de chumbo, foi realizada medida de trocas gasosas utilizando um analisador portátil de gases no infravermelho (IRGA, LI 6400xt, Li-Cor, Nebraska, EUA, com PAR de 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Os seguintes parâmetros foram analisados: taxa fotossintética (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática [g_s , $\text{mol (H}_2\text{O) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$], transpiração (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e razão entre as concentrações interna e externa de CO_2 (C_i/C_a). A fluorescência da clorofila *a* foi determinada a partir da câmara de fluorescência conjugada do aparelho IRGA. A fluorescência máxima após adaptação ao escuro (F_m) e o rendimento quântico máximo do fotossistema II (F_v/F_m) foram avaliados no período entre 20:00 e 22:00 horas. Os parâmetros fluorescência máxima após adaptação à luz (F_m') e “steady – state” (F_v) foram avaliadas no período entre as 7:30 e 11:00 horas. A partir dos dados obtidos, calculou-se o rendimento quântico efetivo do FSII ($Y(\text{II})$), o rendimento quântico do quenching não-fotoquímico (NPQ) e o rendimento quântico da dissipação não regulada ($Y(\text{NO})$), utilizando-se as seguintes equações: $Y(\text{II}) = \Delta F/F_m' = (F_m' - F_v)/F_m'$ NPQ = $(F_m - F_m')/F_m'$ $Y(\text{NO}) = F_v / F_m$. Avaliou-se os parâmetros qP (Dissipação fotoquímica), qL (Fração de centros do PSII

abertos), qN (Dissipação não fotoquímica). As avaliações foram realizadas em folhas totalmente expandidas.

4.2.4 Determinação de teores de Chumbo

As amostras de material vegetal foram moídas e digeridas em solução ácida de $\text{HNO}_3:\text{HClO}_4$ (5:1 – v/v) durante 12 horas, posteriormente a temperatura do bloco digestor foi elevada a 50°C a cada 30 minutos até atingir 200°C, o extrato límpido resultante foi completado com água ultrapura e foi analisado diretamente em espectrômetro de emissão óptica com plasma induzido por argônio (ICP-OES) para determinação dos teores de Pb.

4.2.5 Determinação de teor de clorofila *a* e *b*

Os teores das clorofilas *a* e *b* foram mensurados utilizando um clorofilômetro digital (clorofiLOG v.1.10, Falker Automação Agrícola Ltda). As leituras foram realizadas na segunda folha de uma das unidades experimentais disponíveis em cada vaso.

4.2.6 Determinação do potencial fitorremediador

Utilizando-se os dados de massa e quantidade acumulada de Pb, foram realizados os cálculos para determinação do potencial fitorremediador: índice de tolerância (IT) e índice de translocação (IT%) de acordo com Rahman, *et al.*, (2013), fator de transferência (FT) de acordo com Lübben e Sauerback (1991).

$$IT = \frac{BM_{tratamentos}}{BM_{controle}}$$

$$IT\% = \frac{[MP]_{PA}}{[MP]_{PA+R}} \times 100$$

$$FT_{S-P} = \frac{[MP]_{PLANTA}}{[MP]_{SOLUÇÃO}} \times 100$$

Em que BM = biomassa, PA = parte aérea, R = raízes e MP = metais pesados.

4.2.7 Delineamento experimental e análise estatística

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado contendo (1 metal em 6 concentrações crescentes) e 5 repetições biológicas compostas por três indivíduos cada unidade experimental.

Por meio do software SISVAR, os dados foram submetidos à análise de variância, e análise de regressão.

4.3 RESULTADOS

4.3.1 Crescimento

Os parâmetros de crescimento que foram mensurados são a altura, número de folhas, comprimento e volume de raiz e a biomassa do vegetal. Os dados analisados apontam que as doses crescentes de chumbo que foram testadas não afetaram significativamente o crescimento e o desenvolvimento de *L. cultratus* (Tabela 1). A variável número de folhas apresentou significância estatística, quando *L. cultratus* foi submetida a doses crescente de chumbo o número de folhas aumentou em relação ao controle (Tabela 1).



Figura 1 - Crescimento de parte aérea *L. cultratus* submetido a doses crescentes de chumbo: A) 0 mg/dm³, B) 100 g/dm³, C) 200 g/dm³, D) 300 g/dm³, E) 400 g/dm³, e F) 500 g/dm³.

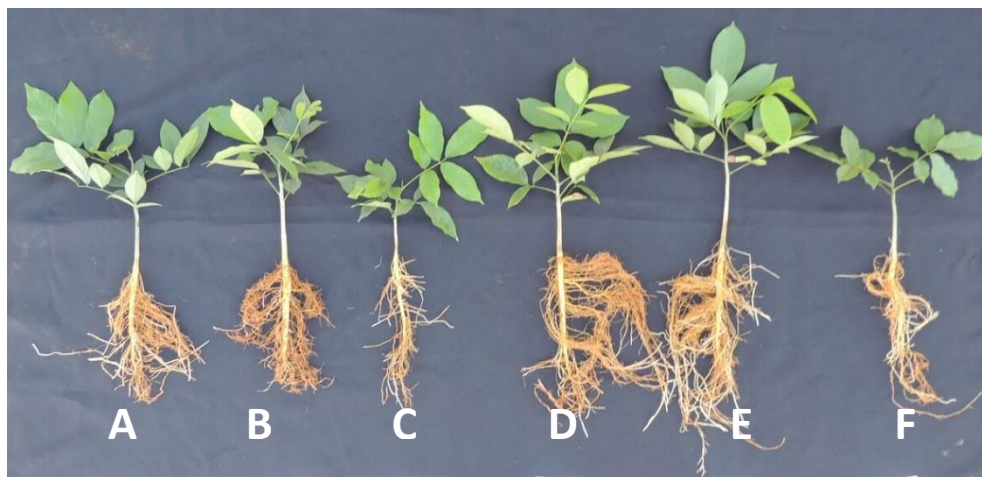


Figura 2 - Crescimento de parte aérea e raízes de *L. cultratus* submetido a doses crescentes chumbo: A) 0 mg/dm³, B) 100 g/dm³, C) 200 g/dm³, D) 300 g/dm³, E) 400 g/dm³, e F) 500 g/dm³.

TABELA 1. Parâmetros de crescimento de *Lonchocarpus cultratus* em resposta a doses crescentes de Chumbo, comprimento de caule (C.C – cm), área foliar (A.F – cm²), número de folhas (N.F - unidades), comprimento de raiz (C.R – cm), volume de raiz (V.R – ml), massa seca de raiz (M.S.R – g), massa seca de caule (M.S.C – g), massa seca de pecíolo (M.S.P – g), massa seca de folha (M.S.F. – g), massa seca parte aérea (M.S.P.A – g).

Tratamento	C.C.	A.F	N.F.	C.R.	V.R.	M.S.R.	M.S.C.	M.S.P.	M.S.F.	M.S.P.A.
Controle	11,4 ± 0,6	159,7 ± 44,2	3,1 ± 0,5	20,9 ± 1,9	4,4 ± 1,1	2,8 ± 0,7	1,3 ± 0,3	0,2 ± 0,1	1,6 ± 0,5	3,0 ± 0,8
100	13,4 ± 1,5	263,4 ± 70,2	4,9 ± 1,0	34,0 ± 5,0	7,3 ± 3,0	3,4 ± 1,0	1,4 ± 0,3	0,3 ± 0,1	2,6 ± 0,7	4,3 ± 1,1
200	12,0 ± 0,3	173,3 ± 39,6	5,1 ± 0,4	26,3 ± 5,0	5,8 ± 1,4	2,7 ± 0,3	1,2 ± 0,1	0,2 ± 0,0	2,0 ± 0,3	3,5 ± 0,5
300	11,5 ± 1,0	187,0 ± 59,4	5,6 ± 0,7	25,7 ± 1,6	7,0 ± 1,8	2,8 ± 0,7	1,0 ± 0,2	0,2 ± 0,1	2,0 ± 0,7	3,2 ± 0,9
400	12,8 ± 0,8	168,3 ± 7,2	4,8 ± 0,5	32,0 ± 5,2	5,6 ± 0,9	2,6 ± 0,7	1,1 ± 0,3	0,2 ± 0,1	1,9 ± 0,6	3,2 ± 1,0
500	11,1 ± 0,8	135,0 ± 9,5	4,9 ± 0,3	29,7 ± 3,9	5,0 ± 0,8	1,9 ± 0,4	0,8 ± 0,1	0,1 ± 0,0	1,2 ± 0,2	2,1 ± 0,4
Significância	ns	ns	*	Ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Regressão	-	-	x ²	-	-	-	-	-	-	-

* - Foi significativo com probabilidade de 0,05.

ns – não significativo.

x² – regressão quadrática.

4.3.2 Acúmulo de Pb e potencial de fitorremediação

Os resultados não foram significativos na concentração de chumbo no caule/pecíolo e raízes, porém nas folhas não houve significância (Tabela 2). Em relação ao acúmulo de chumbo nos tecidos vegetais de *Lonchocarpus cultratus* os tratamentos apresentaram o mesmo comportamento de concentração (Tabela 3). *L. cultratus* apresentou fator de transferência e índice de tolerância significativos (Tabela 4).

TABELA 2. Concentração de chumbo (mg/kg) em tecidos vegetais de *Lonchocarpus cultratus* em resposta a doses crescentes de Pb.

Tratamento	Folha	Caule/pecíolo	Raiz
Controle	1,80 ± 0,37	2,00 ± 0,32	4,20 ± 1,24
100	2,20 ± 0,37	2,80 ± 0,37	9,00 ± 0,71
200	2,20 ± 0,37	7,20 ± 1,46	81,20 ± 1,98
300	2,20 ± 0,37	37,60 ± 1,03	186,60 ± 9,75
400	2,40 ± 0,51	50,80 ± 5,07	2840,00 ± 134,46
500	1,80 ± 0,37	55,20 ± 2,13	3024,00 ± 21,35
Significância	ns	*	*
Regressão	-	x	x

* - Foi significativo com probabilidade de 0,05.

ns – não significativo.

x – regressão linear.

TABELA 3. Acúmulo de chumbo ($\mu\text{g}/\text{kg}$) em tecidos vegetais *Lonchocarpus cultratus* em resposta a doses crescentes de Pb.

Tratamento	Folha	Caule/pecíolo	Raiz
Controle	3,49 ± 1,77	3,18 ± 0,88	14,09 ± 7,27
100	6,24 ± 2,40	4,91 ± 1,15	33,16 ± 11,11
200	4,56 ± 1,23	10,11 ± 1,75	215,07 ± 21,98
300	4,69 ± 1,78	46,81 ± 10,73	503,23 ± 101,02
400	4,40 ± 2,13	68,99 ± 18,71	7347,84 ± 864,75
500	2,20 ± 0,62	51,72 ± 10,96	5699,44 ± 205,47
Significância	ns	*	*
Regressão	-	x	x

* - Foi significativo com probabilidade de 0,05.

ns – não significativo.

x – regressão linear.

TABELA 4. Potencial fitorremediador de *Lonchocarpus cultratus* em resposta a doses crescentes de Pb: Itol (Índice de tolerância), IT (índice de translocação) e FT S-P (Fator de transferência Solo-Planta).

Tratamento	Itol	IT	FT S-P
Controle	1,00 ± 0,00	0,36 ± 0,07	0,00 ± 0,00
100	1,81 ± 0,89	0,26 ± 0,04	0,00 ± 0,00
200	1,57 ± 0,57	0,07 ± 0,01	0,00 ± 0,00
300	1,40 ± 0,52	0,10 ± 0,01	0,00 ± 0,00
400	1,06 ± 0,26	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
500	1,12 ± 0,59	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Significância	ns	*	*
Regressão	-	x	x

* - Foi significativo com probabilidade de 0,05.

ns – não significativo.

X – regressão linear.

4.3.3 Determinação de teor de clorofila a e b

Os teores de clorofila a e b não foram afetados em nenhum dos tratamentos de Pb que foram testados em *L. cultratus* (Figura 1).

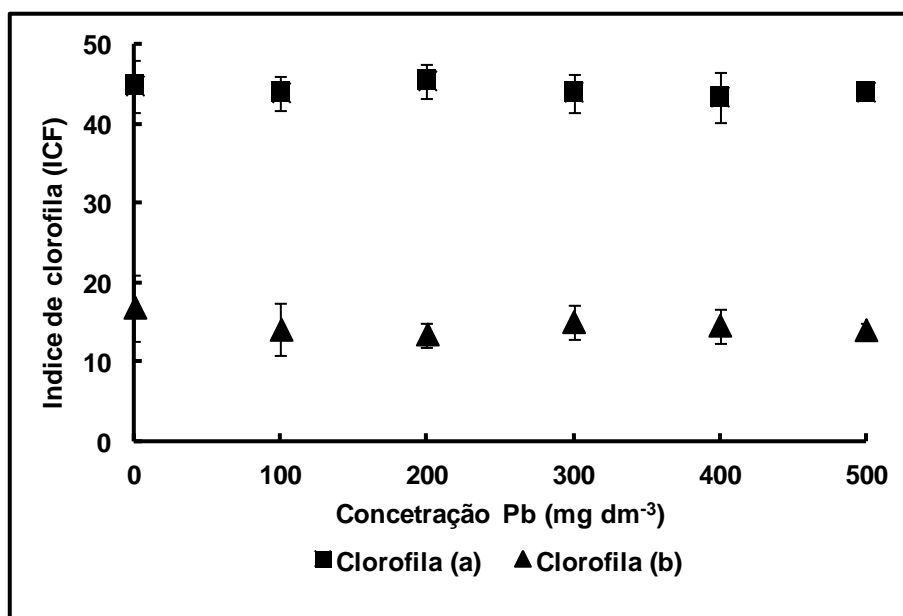


Figura 3 – Índice de clorofilas a e b em *L. cultratus* submetidas a doses crescentes de chumbo.

4.3.4 Trocas gasosas

A cerca das análises sobre a dinâmica de trocas gasosas realizadas por *L. cultratus* em resposta as doses crescentes de chumbo, pode se afirmar que os dados analisados mostram o aumento da razão entre as concentrações interna e externa de CO₂ (Tabela 5). Em contrapartida a taxa fotossintética, transpiração, condutância estomática e concentração interna de CO₂ não apresentaram alteração estatística (Tabela 5).

TABELA 5. Parâmetros fotossintéticos – Trocas Gasosas: *A* (Taxa fotossintética $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), *E* (Transpiração $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), *g_s* (Condutância estomática $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), *C_i* (Concentração interna de CO₂ $\mu\text{mol mol}^{-1}$), *C_i/C_a* (Razão entre as concentrações interna e externa de CO₂).

Tratamento	<i>A</i>	<i>E</i>	<i>g_s</i>	<i>C_i</i>	<i>C_i/C_a</i>
Controle	7,75 ± 1,42	2,22 ± 0,24	0,11 ± 0,02	257,30 ± 28,06	0,65 ± 0,06
100	5,12 ± 1,55	0,96 ± 0,29	0,05 ± 0,02	220,56 ± 27,04	0,53 ± 0,07
200	8,84 ± 1,56	2,00 ± 0,39	0,10 ± 0,02	231,21 ± 14,25	0,59 ± 0,04
300	9,49 ± 1,39	3,42 ± 0,13	0,17 ± 0,01	293,29 ± 14,39	0,74 ± 0,03
400	5,89 ± 2,24	1,94 ± 0,69	0,09 ± 0,04	275,36 ± 11,74	0,70 ± 0,03
500	7,48 ± 2,29	2,38 ± 0,60	0,11 ± 0,02	266,46 ± 17,29	0,68 ± 0,04
Significância	ns	ns	ns	ns	*
Regressão	-	-	-	-	x

* - Foi significativo com probabilidade de 0,05.

ns – não significativo.

x – regressão linear.

4.3.5 Fotoquímica

Nos parâmetros relacionados à fotoquímica que foram analisados, observou-se o aumento do F_v/F_m rendimento quântico máximo do PSII (Tabela 6) as demais variáveis não apresentaram alterações significativas (Tabela 6).

TABELA 6. Parâmetros fotossintéticos – Fluorescência da clorofila *a* (F_v/F_m), rendimento quântico máximo do PSII, ETR (Taxa de transporte de elétrons $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), $Y(\text{II})$ (rendimento quântico da dissipação não regulada), qP (Dissipação fotoquímica), qL (Fração de centros do PSII abertos), qN (Dissipação não fotoquímica), NPQ (Coeficiente de extinção não fotoquímico).

Tratamento	F_v/F_m	ETR	$Y(\text{II})$	qP	qL	qN	NPQ
Controle	0,82±0,07	71,96±15,59	0,16±0,04	0,25±0,05	0,10±0,03	0,78±0,06	2,40±0,41
100	0,93±0,01	64,72±12,70	0,15±0,03	0,18±0,03	0,04±0,01	0,75±0,02	2,32±0,27
200	0,94±0,01	79,99±9,42	0,18±0,02	0,22±0,02	0,05±0,01	0,75±0,04	2,49±0,40
300	0,94±0,01	73,60±11,22	0,17±0,03	0,21±0,03	0,05±0,01	0,79±0,02	2,98±0,29
400	0,93±0,01	75,42±15,08	0,17±0,03	0,22±0,04	0,06±0,01	0,78±0,01	2,62±0,16
500	0,93±0,01	68,50±16,27	0,16±0,04	0,19±0,04	0,04±0,01	0,77±0,03	2,82±0,43
Significância	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Regressão	x	-	-	-	-	-	-

* - Foi significativo com probabilidade de 0,05.

ns – não significativo.

x – regressão linear

4.4 DISCUSSÃO

4.4.1 Crescimento

O chumbo é um dos metais pesados mais abundantes e que está poluindo o solo ao ser descartado de forma incorreta ou ainda nos processos de mineração (SOUZA, 2016). As plantas absorvem o Pb pelas raízes e o transporta para os tecidos vegetais podendo causar fitotoxicidade no vegetal (MALAR,2014). *Lonchocarpus cultratus*, não apresentou alterações nas análises de crescimento avaliadas, o que difere dos resultados obtidos com *Sesbania grandiflora*, também pertencente à família Fabaceae, ao ser exposta a doses de Pb (NO_3)₂ (100, 200, 400, 600, 800 e 1000 mg L⁻¹) teve diminuição no crescimento de parte aérea e raiz, menor produção de biomassa e sintomas tóxicos visuais, associados ao baixo teor de água que provocou o fechamento estomático desencadeando baixa fixação do carbono, o que certamente não ocorreu com a espécie *Lonchocarpus cultratus* que não teve significância ($p < 0,05$) nos dados a partir do crescimento radicular, parte aérea e biomassa (MALAR,2014).

Em um estudo com *Helianthus annuus* submetido a doses crescentes de Pb (0, 10, 20, 40, 80, 100 e 200 mg kg⁻¹) o comprimento e os pesos fresco e seco das raízes e da parte aérea na concentração 200 mg kg⁻¹, diminuíram em até 88% em relação ao controle. Entretanto, essa espécie está sendo estudada pelo seu potencial fitorremediador de metais, pois possui fatores de translocação que permitem-a acumular Pb em seus tecidos vegetais (ALABOUDI, 2018).

4.4.2 Acúmulo de Pb e potencial de fitorremediação

O chumbo forma vários complexos com componentes do solo, porém uma pequena fração livre está disponível, uma vez que estes complexos na solução do solo são fitodisponíveis (SOUZA, 2016). Apesar de não possuir uma função conhecida no metabolismo das plantas, o chumbo é absorvido principalmente por meio das raízes da solução do solo e, portanto, pode entrar na cadeia alimentar. Há várias razões pelas quais o transporte de chumbo das raízes para partes aéreas das plantas é dificultado, sequestro nos vacúolos de células rizodérmicas e corticais pela formação de complexos, imobilização por pectinas carregadas negativamente dentro da parede celular, acumulação em membranas plasmáticas, ligação por fitoquelatinas, glutatona e

aminoácidos, precipitação de sais de chumbo insolúveis em espaços intercelulares e síntese de osmólitos (KUMAR, 2017).

A absorção do chumbo pelas raízes ocorre através da via apoplástica ou via canais permeáveis ao Ca^{2+} (KUMAR, 2017). O comportamento do chumbo no solo e a absorção pelas plantas são controlados pelo pH do solo, tamanho de partícula do solo, capacidade de troca de cátions, área de superfície e exsudação radicular, (JIANG, 2010). Após a absorção, o chumbo acumula-se principalmente nas células da raiz, dentro da endoderme, nas paredes celulares (YADAV, 2010).

4.4.3 Determinação de teor de clorofila *a* e *b*

Os dados do trabalho de Souza et al. (2012), que avaliaram a tolerância de *S. parahyba* ao chumbo, obtiveram resultados divergentes. Os autores observaram diminuição no teor de clorofilas, neste trabalho, as doses de chumbo não afetaram os índices de clorofila *a* e *b*, e pode ser indicativo de estratégia de tolerância utilizado por *L. cultratus* quando exposta a metais tóxicos.

4.4.4 Trocas gasosas

Os dados mostram que *L. cultratus* apresentou diminuição nas variáveis condutância estomática (g_s), razão entre as concentrações interna e externa de CO_2 (C_i/C_a) e taxa de transpiração (E). Sajid (2011), ao realizar um estudo com dois genótipos de *Zea mays*, testou as concentrações (0.01, 0.1, e 1.0 mg L^{-1} de PbSO_4) e concluiu que todos os parâmetros de trocas gasosas mostraram a redução significativa após 21 dias de aplicação de Pb. Enquanto um aumento significativo na taxa de transpiração (E), condutância estomática (g_s) e relação C_i/C_a foram observadas no nível mais alto de Pb (SHARMA, 2005).

A atividade fotossintética das plantas pode ser determinada pela regulação estomática da fotossíntese e transpiração. A presença de Pb (500 e 2000 mg Kg^{-1} Pb) reduziu as taxas de transpiração em *Plantago major* pela redução dos estômatos, tamanho da célula, número de estômatos, condutância estomática, área foliar e outras razões. Por sua vez, uma menor condutância estomática leva a uma diminuição na concentração de CO_2 no espaço intercelular e reduz a taxa de fotossíntese (KOSOBROUKHOV, 2004).

4.4.5 Fluorescência de clorofila *a*

O Pb inibe a síntese de clorofila, causando comprometimento da captação de elementos essenciais, como Mg e Fe, pelas plantas. Danifica o aparato fotossintético pela sua afinidade por proteínas ligantes de N e S (KUMAR, 2012). O Pb também inibe o transporte de elétrons, efeitos de Pb foram reportados para os sítios de doadores e receptores de PS II, o complexo citocromo b/f e PS I. O transporte de elétrons no PS I é menos sensível à inibição por Pb do que PS II. Existe uma relação entre a aplicação de Pb e a diminuição na fotossíntese de toda a planta resultando do fechamento estomático, em vez de um efeito direto do Pb no processo de fotossíntese (SHARMA, 2005).

Em *L. cultratus* as variáveis fotoquímicas avaliadas não apresentaram diferenças estatísticas.

4.5 CONCLUSÃO

A espécie *L. cultratus* pode ser considerada tolerante ao excesso de chumbo. O crescimento vegetal não foi afetado em nenhuma das concentrações de Pb. No processo fotossintético, as trocas gasosas foram afetadas pelo excesso de Pb, porém a fotoquímica não sofreu alteração. A espécie pode ser considerada como fitoestabilizadora em ambientes contaminados por chumbo.

4.6 REFERÊNCIAS

ACCIOLY, A. M. A. & SIQUEIRA, J. O. (2000) Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V.; V.H. & SCHAEFER, C.E.G.R., eds. Tópicos em ciência do solo. Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v.1. p. 299-352.

ALABOUDI, K. A. AHMED, B. BRODIEG. (2018) Phytoremediation of Pb and Cd contaminated soils by using sunflower (*Helianthus annuus*) plant, Annals of Agricultural Sciences, v. 63, n.1, p. 123-127.

ANDRADE, J. C. M.; TAVARES, S. R. L.; MAHLER, C. (2007) Fitorremediação: o uso de plantas na melhoria da qualidade ambiental. São Paulo: Oficina de textos, p. 176.

ARAÚJO, R. et al. (2007) Qualidade de um solo sob diferentes usos e sob cerrado nativo R. Bras. Ci. Solo, n.31, p.1099-1108.

BENINCASA, M.M.P. (2003) Análise de crescimento de plantas: Noções Básicas. Jaboticabal: FUNEP.

BENNETT A, RADFORD J HASLEM A, (2006) Properties of land mosaics: Implications for nature conservation in agricultural environments, **Biological Conservation**, v. 133, n. 2, p. 250-264.

BORGHI, W.A. et al (2004) Caracterização e avaliação da mata ciliar à montante da Hidrelétrica de Rosana, na Estação Ecológica do Caiuá, Diamante do Norte, PR, Cad. biodivers. v. 4, n. 2.

CARVALHO F. DE MARCO P., FERREIRA L. (2009) The Cerrado into-pieces: Habitat fragmentation as a function of landscape use in the savannas of central Brazil, *Biological Conservation* 142, 1392–1403.

CRUVINEL, D.F.C. (2009) Avaliação da fitorremediação em solos submetidos à contaminação com metais, 2009. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental do Centro de Ciências Exatas, Naturais e Tecnologias), apresentada a Universidade de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, São Paulo.

CUNNINGHAM, S. D.; ANDERSON, T. A.; SCHWAB, A. P. (1996) Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. *Advances in Agronomy*, New York, v.56, p.55-114.

DURIGAN, G. (1990) Taxa de sobrevivência e crescimento inicial das espécies em plantio de recomposição da mata ciliar, *Acta boto bras.* v,4, n.2.

FERREIRA, S.A. et al. (1990) Biologia e história natural de *Euphaleurus ostreoides* (Homoptera: Psyllidae) Cecidogeno de *Lonchocarpus guilleminianus* (Leguminosae), *Rev. Brasil. Biol.*, n.50, p.417-423 Rio de Janeiro.

FIGUEIREDO, F.V. (2004) Avaliação da contaminação do solo por metais provenientes de indústrias recicladoras de chumbo, 2004, Dissertação (Mestrado em Engenharia Indústria) apresentada a Universidade Estadual Paulista – campus Bauru, Bauru, São Paulo.

GUILHERME, F. A. G. ; SOUZA, L. F. ; AMARAL, E. V. E. J. ; COELHO, C. P. ; ELISEU, G. ; CARNEIRO, S. E. S.. (2016) Flora do Cerrado: ferramentas de conservação da diversidade vegetal no Sudoeste Goiano. In: Dimas Moraes Peixinho; Marluce Silva Sousa. (Org.). Reconfiguração do Cerrado: usos, conflitos e impactos ambientais. 000 ed.Goiânia: Editora UFG, p. 35-52.

JIANG, W. LIU, D. (2010) Pb-induced cellular defense system in the root meristematic cells of *Allium sativum* L *BMC Plant Biol.* p. 40, v.10.

KUMAR, B. SMITA, K. FLORES, L.C. (2017) Plant mediated detoxification of mercury and lead, *Arabian Journal of Chemistry*, p. S2335-S2342, v.10.

LISTE, H. H.; ALEXANDER, M. (1999) Rapid screening of plants promoting phenanthrene degradation. *Journal Environmental Quality*, Madison, v.28, p.1376-1377.

MALAR, S. MANIKANDAN, R. FAVAS, P. JC SAHI, S. V. VENKATACHALAM, P. (2014) Effect of lead on phytotoxicity, growth, biochemical alterations and its role on genomic template stability in *Sesbania grandiflora*: A **potential plant for phytoremediation**, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Volume 108, October Pages 249-257.

OLIVEIRA, D.M. et al, (2007) Fitorremediação: o estado da arte, *Serie Tecnologia Ambiental*, CETEM/MCT, Rio de Janeiro.

PINTO, D.D. (2009) Morfoanatomia e ontogênese de *Machaerium pers.* (Fabaceae: Faboideae): fruto, semente e plântula, 2009. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas Botânica) apresentada a Universidade Estadual Paulista – campus Botucatu, Botucatu, São Paulo.

ROGERS, H. B.; BEYROUTY, C. A.; NICHOLS, T. D.; WOLF, D. C.; REYNOLDS, C. M. (1996) Selection of cold-tolerant plants for growth in soils contaminated with organics. *Journal of Soil Contamination*, London, v.5, p.171-186.

SANTOS, E.L.S. et al, (2009) Toxicidade e atividade antioxidante de flavonoides das cascas das raízes de *Lonchocarpus filipes* **Quim. Nova**, v. 32, n. 9, p.2255-2258.

SANTOS, C.F. ; NOVAK, E. (2013) Plantas nativas do cerrado e possibilidades em fitorremediação, **Revista de Ciências Ambientais**, v.7, n.1 p. 67-78.

SAUERBECK, D. R. (1991) Plant element and soil properties governing uptake and availability of heavy metals derived from sewage sludge. *Water, air, & soil pollution*, v. 57.

SHARMA, Pallavi; DUBEY, Rama Shanker. (2005) Lead toxicity in plants. *Braz. J. Plant Physiol.*, Londrina, v. 17, n. 1, p. 35-52, Mar. . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1677-04202005000100004&lng=en&nrm=iso>. access on 08 Aug. 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/S1677-04202005000100004>.

SOUZA, U.J.B. (2016) Tendências da literatura científica sobre genética de populações de plantas do Cerrado, **Hoehnea** v.43, n.3, o. 461-477.

SOUZA, S.C.R.; ANDRADE, S.A.L.; SOUZA, L.A.; SCHIAVINATO, M.A. (2012) Lead tolerance and phytoremediation potential of Brazilian leguminous tree species at the seedling stage, *J. Environ. Manage.*, v.110, p.299-307.

STEFANE, M. ROQUE, F.O. LOURIVAL, R. MELO, I, RENAUD, P.C. QUINTERO, J.M.O. (2018) Property size drives differences in forest code compliance in the Brazilian Cerrado Land Use Policy 75, 43–49.

BASU, S., RABARA, R.C., NEGI, S. (2018) Engineering PGPMOs through Gene Editing and Systems Biology: A Solution for Phytoremediation? , v. 36, n. 5, p.499–510.

YADAV, S. (2010) Heavy metals toxicity in plants: an overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants S. Afr. J. Bot., v. 76, n.2, p. 167-179.

VOSE, J. M.; SWANK, W. T.; HARVEY, G. J.; CLINTON, B. D.; SOBEK, C. (2000) Leaf water relations and sapflow in Eastern cottonwood (*Populus deltoides* Bartr.) trees planted for phytoremediation of a groundwater pollutant. International Journal of Phytoremediation, London, v.2, p.53-73.

CONCLUSÃO GERAL

A espécie *L. cultratus* pode ser considerada tolerante ao excesso de manganês e ao excesso de chumbo. O crescimento vegetal não foi afetado em nenhuma das doses de ambos os metais. No processo fotossintético, as trocas gasosas foram afetadas pelo excesso de Pb, porém a fotoquímica não sofreu alteração. Além da referida tolerância ao excesso de Pb, observou-se o fator de translocação das raízes para a parte aérea, caracterizando sua capacidade fitoestabilizadora. O fato da espécie apresentar a referida capacidade de fitoestabilização amplia a necessidade e motivação em planejamentos que visem a conservação da espécie e estudos fisiológicos para elucidar os mecanismos envolvidos na tolerância. Sugerem-se estudos que objetivem a imobilização do chumbo nas raízes, de tal forma que o metal não entre em níveis tróficos subsequentes por meio de herbívoros.