



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE – UERN  
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS – FANAT  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS NATURAIS – PPGCN  
MESTRADO EM CIÊNCIAS NATURAIS – MCN  
DANIELLE CRISTINY DE AZEVEDO BATISTA



**COMPORTAMENTO FISIOLÓGICO E BIOQUÍMICO EM PLANTAS  
DE *Batis maritima* L. (Bataceae) SOB EFEITO DE CHUMBO E SEU  
POTENCIAL FITOEXTRATOR.**

Mossoró – RN  
2015

**DANIELLE CRISTINY DE AZEVEDO BATISTA**

**COMPORTAMENTO FISIOLÓGICO E BIOQUÍMICO EM PLANTAS DE *Batis*  
*maritima* L. (Bataceae) SOB EFEITO DE CHUMBO E SEU POTENCIAL  
FITOEXTRATOR.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais da Universidade de Estado do Rio Grande do Norte, área de concentração: Recursos Naturais, como requisito para obtenção do título de mestre em Ciências Naturais.

**Orientador (a):** Prof<sup>a</sup>. Dra. Cynthia Cavalcanti de Albuquerque

**Co-orientador (a):** Profa. Dra. Suely Souza Leal de Castro

**Linha de Pesquisa:** Tecnologia Ambiental

Mossoró – RN  
2015

**Catálogo da Publicação na Fonte.  
Universidade do Estado do Rio Grande do Norte.**

Batista, Danielle Cristiny de Azevedo

*Comportamento fisiológico e bioquímico em plantas de batis maritima l.*  
(bataceae) sob efeito de chumbo e seu potencial fitoextrator. / Danielle Cristiny  
de Azevedo Batista – Mossoró, RN, 2015.

68 p.

Orientador(a): PProf<sup>ª</sup>. Dra. Cynthia Cavalcanti de Albuquerque

Dissertação (Mestrado em Ciências Naturais). Universidade do Estado do Rio  
Grande do Norte. Programa de Pós Graduação em Ciências Naturais

1. *Batis maritima* L. 2. Chumbo. 3. Solos contaminados. 4.  
Fitorremediação. I. Albuquerque, Cynthia Cavalcanti de. II. Universidade do  
Estado do Rio Grande do Norte. III. Título.

UERN/BC

CDD 631.4

**DANIELLE CRISTINY DE AZEVEDO BATISTA**

**COMPORTAMENTO FISIOLÓGICO E BIOQUÍMICO EM PLANTAS DE *Batis  
maritima* L. (Bataceae) SOB EFEITO DE CHUMBO E SEU POTENCIAL  
FITOEXTRATOR.**

Dissertação apresentada à Universidade do Estado do Rio Grande do Norte (UERN) como  
requisito para obtenção do Título de Mestre em Ciências Naturais no ano de 2015.

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Dra. Cynthia Cavalcanti de Albuquerque - UERN

(ORIENTADORA)

---

Dr. Ramiro Gustavo Valera Camacho – UERN

(MEMBRO INTERNO)

---

Dr. Daniel Freitas Freire Martins- UFERSA

(MEMBRO EXTERNO)

*A Deus*

*OFEREÇO*

*DEDICO*

*A meus pais, Joais Batista e Conceição de Fátima e irmãos Isabella e Joais Filho por todo incentivo, ajuda, amor e compreensão.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me ajudar a superar as dificuldades, suprimindo as minhas necessidades e ser meu amparo em todos os momentos.

A Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, especialmente ao Programa de Pós-graduação em Ciências Naturais pela oportunidade para a realização desse trabalho.

À prof<sup>a</sup>. Dra. Cynthia Cavalcanti de Albuquerque, minha orientadora, pelos ensinamentos, pelo apoio e amizade que foram fundamentais para meu crescimento profissional e pessoal. A Prof<sup>a</sup>. Dra. Suely Souza Leal de Castro, pela co-orientação e momentos de atenção.

Ao amigo Francisco Fabio Mesquita de Oliveira, técnico de laboratório do Departamento de Ciências Biológicas da UERN que me acompanhou durante as análises e realização desse trabalho, com muita atenção, amizade, dicas valiosas e tempo disponível.

As meninas do Laboratório de Cultura de Tecido Vegetal – LCTV, Valdiglêzia Arruda, Mônica Danielle, Eleneide Gurgel, Julyanna Arruda, Yáscara Brandão, Gessyka Silva, Keithy Andrade, Vanilse Sampaio, as quais efetivamente contribuíram para a execução desse trabalho, sempre com muita amizade e apoio.

Ao técnico de laboratório de Eletroquímica e Química Analítica – LECA, Thiago Mielle, pela disposição e auxílio nas análises experimentais.

Aos amigos de trabalho, prof. Rosa Nubia Lira, Érica Maia, Max Douglas, Kelma Duarte Dias, Alexandra Reinaldo, Everton Junior, Edson Azevedo, Douglas Soares, Joiza Cruz, Sâmara Nascimento, em especial a Rosangela Maria, por ser meu braço direito quando mais precisei.

A minha família pelo amor, carinho, compreensão e pelos conselhos em momentos de dificuldades, vocês são fundamentais em minha vida, como também, ao meu noivo, pelas palavras de incentivo e força.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização desse trabalho.

*Não temas, porque eu sou contigo; não te assombres, porque eu sou teu Deus; eu te fortaleço, e te ajudo, e te sustento com a destra da minha justiça.*

*Isaías 41:10 (Bíblia Sagada)*

## RESUMO

A crescente poluição ambiental nas últimas décadas vem tornando os metais pesados uma ameaça constante aos ecossistemas terrestres e aquáticos. Entre estes, o chumbo (Pb) é um dos mais importantes, devido à sua persistência no meio e seus efeitos deletérios para saúde humana. Assim, a busca por espécies hiperacumuladoras de metais pesados e sua utilização nos processos de fitorremediação do ambiente tem despertado grande interesse, visto que é uma técnica economicamente viável e ecologicamente correta. Sendo assim, o estudo teve por objetivo avaliar as modificações fisiológicas e bioquímicas de plantas de *Batis maritima* L. submetidas ao estresse por chumbo e seu potencial fitoextrator. O experimento foi conduzido em Casa de Vegetação, anexo ao Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV) da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte (UERN), em esquema fatorial 5 x 2 (5 doses de chumbo na presença ou ausência de EDTA), perfazendo um total de 10 tratamentos com 6 repetições, sendo cada repetição representada por um vaso contendo uma planta. As doses de chumbo avaliadas foram: 0; 51,8; 103,6; 207,2 e 414,4 mg L<sup>-1</sup>. Semanalmente o crescimento das plantas foi avaliado através da altura (ALT) das plantas e ao final do experimento foram quantificadas proteínas e carboidratos solúveis totais, carotenóides, clorofila *a*, *b* e *totais*, Teor Relativo de Água (TRA), matéria seca da parte aérea e raiz, concentrações de (Pb) na parte aérea e raiz, fósforo (P) na planta; além da determinação do fator de translocação de Pb para a parte aérea e bioacumulação do metal na planta. Submetidas a contaminação por Pb, as plantas apresentaram um crescimento satisfatório, sem prejuízos na síntese de clorofila *a*, *b* e *totais*, proteínas e carboidratos, no qual, permitiram o desenvolvimento vegetal, como também, o fósforo nas plantas manteve-se em níveis adequados. As concentrações de Pb foram mais elevadas na parte aérea. Nas raízes o maior acúmulo do metal ocorreu na dosagem (103,6 e 414,4 mg Kg<sup>-1</sup> de Pb com EDTA). O fator de Bioacumulação e Translocação do metal nas plantas comprovou o potencial fitoextrator e hiperacumulador da espécie, devido apresentarem valores >1.

Palavras-chave: *Batis maritima* L. Chumbo. Solos contaminados. Fitorremediação.

## ABSTRACT

Growing environmental pollution in recent decades has been making heavy metals a constant threat to terrestrial and aquatic ecosystems. Among these, lead (Pb) is the most important because of their persistence in the environment and its deleterious effects on human health. Thus, the search for Hyperaccumulators species of heavy metals and their use in environmental phytoremediation processes has aroused great interest, since it is an economically viable and environmentally friendly technique. Thus, the study aimed to evaluate the physiological and biochemical changes of *Batis maritima* L. plants subjected to stress and lead your fitoextrator potential. The experiment was conducted in a glasshouse, annexed to the Plant Tissue Culture Laboratory (LCTV) of the University of Rio Grande do Norte State (UERN), factorial 5 x 2 (5 lead doses in the presence or absence of EDTA ), making a total of 10 treatments with 6 replications, each repetition represented by a vase containing a plant. The lead evaluated doses were: 0; 51,8; 103,6; 207,2 and 414,4mg L<sup>-1</sup>. Weekly plant growth was assessed by height (ALT) of the plants and the end of the experiment were quantified proteins and soluble carbohydrates, carotenoids, chlorophyll a, b and total, Relative Water Content (TRA), dry weight of shoot and root concentrations (Pb) in shoot and root, phosphorus (P) in the plant; beyond the determination of Pb translocation factor to the shoot and metal bioaccumulation in the plant. The results presented by *B. species maritima* contamination by Pb did not affect growth, synthesis of chlorophyll a and b total, proteins and carbohydrates, which allowed the plant development, as well as the phosphorus plants remained in appropriate levels. The Pb concentrations were higher in the shoot. In the most roots metal buildup occurred in strength (103,6 mg kg<sup>-1</sup> Pb EDTA). The bioaccumulation factor and metal translocation in plants proved the potential and fitoextrator hiperacumulador species because present values > 1.

Keywords: *Batis maritima* L. Lead. Contaminated soils. Phytoremediation.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Fontes de Poluição de Pb no ambiente. ....	20
<b>Figura 2</b> - Esquema representativo do processo de fitoextração de metais pesados no solo...24	24
<b>Figura 3</b> – Técnicas envolvidas na fitorremediação. ....	26
<b>Figura 4</b> - Desenho dos possíveis mecanismos moleculares envolvidos na acumulação de metais de transição em plantas. (a) mobilização no solo e na planta, (b) absorção e entrada através da membrana, (c) transporte através do xilema, (d) transporte e armazenamento, (e) distribuição intracelular de metais. ....	31
<b>Figura 5</b> - Foto da <i>Batis maritima</i> L. em ambiente natural. ....	33
<b>Figura 6</b> - Estaquia da <i>Batis maritima</i> L. em casa de vegetação, UERN. Mossoró/RN. ....	34
<b>Figura 7</b> - Espécie <i>Batis maritima</i> em diferentes estádios de desenvolvimento, sob concentrações crescentes de Pb aplicados separadamente ao solo. (A) uma semana após aplicação da solução nutritiva modificada, (B) 60 dias após aplicação do metal. ....	43
<b>Figura 8</b> - Curva padrão para carboidratos solúveis totais. ....	65
<b>Figura 9</b> - Curva Padrão de Proteínas Totais. ....	65
<b>Figura 10</b> - Curva Padrão de Fósforo. ....	66
<b>Figura 11</b> - Curva Padrão de Chumbo. ....	66

## LISTAS DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Valores orientadores para solos ( $\text{mg Kg}^{-1}$ de peso seco de solo). .....	21
<b>Tabela 2</b> - Espécies de plantas hiperacumuladoras de chumbo (Pb). .....	25
<b>Tabela 3</b> - Médias e desvios padrões das alturas de plantas de <i>B. maritima</i> em (cm) com e sem EDTA e diferentes doses de chumbo (Pb) e 30 e 60 dias.....	44
<b>Tabela 4</b> - Médias e desvios padrões de teor relativo de água (%) em plantas de <i>B. maritima</i> com e sem EDTA e diferentes doses de chumbo em 30 e 60 dias. ....	45
<b>Tabela 5</b> - Médias e desvios padrões de matéria seca da parte aérea (g) de plantas de <i>B. maritima</i> com e sem EDTA e diferentes doses de chumbo durante 30 e 60 dias. ....	45
<b>Tabela 6</b> - Médias e desvios padrões de matéria seca de raízes (g) de plantas de <i>B. maritima</i> com e sem EDTA e diferentes doses de chumbo em 30 e 60 dias. ....	46
<b>Tabela 7</b> - Médias e desvios padrões de clorofila <i>a</i> em ( $\mu\text{g g}^{-1}$ MF) de plantas de <i>B. maritima</i> com e sem EDTA e diferentes doses de chumbo (Pb) em 30 e 60 dias. ....	47
<b>Tabela 8</b> - Médias e desvios padrões de clorofila <i>b</i> em ( $\mu\text{g g}^{-1}$ MF) em plantas de <i>B. maritima</i> com e sem EDTA e diferentes doses de chumbo (Pb) em 30 e 60 dias. ....	48
<b>Tabela 9</b> - Médias e desvios padrões de clorofila <i>totais</i> em ( $\mu\text{g g}^{-1}$ MF) em plantas de <i>B. maritima</i> com e sem EDTA e diferentes doses de chumbo (Pb) em 30 e 60 dias.....	48
<b>Tabela 10</b> - Médias e desvios padrões de carotenóides em ( $\mu\text{g g}^{-1}$ MF) em plantas de <i>B. Maritima</i> com e sem EDTA e diferentes doses de chumbo (Pb) em 30 e 60 dias. ....	49
<b>Tabela 11</b> - Médias e desvios padrões de proteínas totais em ( $\mu\text{g g}^{-1}$ MF) em plantas de <i>B. maritima</i> com e sem EDTA e diferentes doses de chumbo (Pb) em 30 e 60 dias.....	50
<b>Tabela 12</b> - Médias e desvios padrões de carboidratos solúveis totais em ( $\mu\text{g g}^{-1}$ MF) em plantas de <i>B. maritima</i> com e sem EDTA e diferentes doses de chumbo (Pb) em 30 e 60 dias. ....	50
<b>Tabela 13</b> - Médias e desvios padrões de fósforo em plantas de <i>B. maritima</i> .....	51
<b>Tabela 14</b> - Médias e desvios padrões de chumbo em parte aérea e raízes de plantas ( $\text{mg Kg}^{-1}$ ) de <i>B. maritima</i> com e sem EDTA e diferentes doses de Pb após 60 dias. ....	52
<b>Tabela 15</b> - Médias e desvios padrões do fator de translocação de chumbo em plantas de <i>B. maritima</i> .....	53
<b>Tabela 16</b> - Médias e desvios padrões do fator de bioacumulação de chumbo em plantas de <i>B. maritima</i> .....	54
<b>Tabela 17</b> - Faixas de Concentrações de metais pesados em fertilizantes fosfatados. ....	68
<b>Tabela 18</b> - Concentração média dos nutrientes minerais na matéria seca suficientes para um adequado desenvolvimento das plantas. ....	68

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> - Volume utilizado da Solução estoque (mL) para compor 1L de solução nutritiva modificada com as respectivas doses de chumbo.....	36
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

## LISTAS DE ABREVIATURAS

**B** - Boro

**°C** – Graus Celsius

**Ca** - Cálcio

**Cd** - Cádmió

**CETESB** – Companhia De Tecnologia De Saneamento Ambiental

**Cl** - Cloro

**CTC** - Capacidade de troca de cátions

**Cu** - Cobre

**DIC** – Delineamento Inteiramente Casualizado

**DMSO** - Dimetilsulfóxido

**EDTA** – Ácido Etilenodiaminotetracético

**Fe** - Ferro

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** – Peróxido de Hidrogênio

**HNO<sub>3</sub>** – Ácido Nítrico

**K** - Potássio

**L** – Litro

**Mg** - Magnésio

**mg** – Miligrama

**mL** – Mililitro

**Mn** - Manganês

**Mo** - Molibdênio

**µL** – Microlitro

**mM** – Milimol

**N** - Nitrogênio

**P** - Fósforo

**Pb** - Chumbo

**pH** – Potencial de Hidrogênio Iônico

**ppm** – Partes por milhão

**PVP** – Polivinilpirrolidona

**rpm** – Rotações por minuto

**S** - Enxofre

**SDS** – Dodecil sulfato de sódio

**TRA** – Teor Relativo de Água

**Zn** - Zinco

## SUMÁRIO

<b>1.0 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>1.1 OBJETIVOS .....</b>	<b>18</b>
1.1.1 Geral .....	18
1.1.2 Específicos.....	18
<b>2.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>18</b>
2.1 Metais pesados em solos.....	18
2.2 Chumbo (Pb).....	19
2.3 Remoção de metais pesados do solo.....	23
2.4 Plantas Tolerantes a Metais Pesados .....	29
<b>3.0 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>33</b>
3.1 Obtenção do Material Vegetal.....	34
3.2 Instalação do Experimento .....	34
3.3 Tratamentos .....	36
3.4 Análises de Crescimento .....	37
3.5 Extração e quantificação de clorofila <i>a</i> , <i>b</i> e <i>totais</i> , carotenóides, proteínas totais e carboidratos solúveis totais nas folhas de <i>B. maritima</i> .....	38
3.6 Digestão úmida em forno de microondas .....	40
3.7 Determinação de Fósforo (P).....	41
3.8 Determinação do Chumbo .....	41
3.9 Fator de Translocação (FT) e Fator de Bioacumulação (FB).....	42
3.10 Análises Estatísticas .....	43
<b>4.0 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>43</b>
4.1 Avaliação do crescimento.....	43
4.1.1 Altura (ALT), Teor Relativo de Água (TRA) .....	43
4.1.2 Produção de Matéria Seca .....	45
4.2 Análises Bioquímicas .....	47
4.2.1 Clorofila <i>a</i> , <i>b</i> e <i>totais</i> e carotenóides .....	47
4.2.2 Proteínas e Carboidratos.....	49
4.3 Concentração de fósforo (P) e Chumbo (Pb).....	51
4.3.3 Fator de Translocação (FT) e Fator de Bioacumulação (FB).....	52
<b>5.0 CONCLUSÃO.....</b>	<b>54</b>
<b>6.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>54</b>

<b>APÊNDICES .....</b>	<b>64</b>
<b>APÊNDICE A – Curvas padrões utilizadas para determinação bioquímica e minerais. .....</b>	<b>65</b>
<b>ANEXO A .....</b>	<b>68</b>

## 1.0 INTRODUÇÃO

Os metais pesados são elementos químicos com densidade relativamente elevada e são tóxicos mesmo em baixas concentrações (BHARGAVA et al., 2012). Naturalmente circulam no meio ambiente, por serem liberados das rochas por processos de intemperismo e transportados por uma variedade de mecanismos, incluindo a adsorção e o processamento pelas plantas e pelos microrganismos (SPIRO, 2009). Porém, o aumento progressivo dos teores de alguns metais no ambiente, se deve principalmente às respostas de atividades antropogênicas, e tem despertado interesse crescente da sociedade em decorrência dos danos causados aos ecossistemas (SOUZA; SILVA; FERREIRA, 2011).

Dentre os metais pesados contaminantes encontra-se o chumbo (Pb), que não apresenta quaisquer benefícios ao organismo humano e, atualmente, a contaminação do solo e das águas por este elemento é um grave problema ambiental, devido a sua persistência e elevado poder de toxicidade (BERTOLI et al., 2011). O chumbo está entre os elementos químicos que representam mais riscos a população, provocando alterações bioquímicas deletérias ao organismo humano (MAZZUCO, 2008). Nas plantas o excesso de Pb causa vários sintomas de toxicidade, como redução de crescimento, clorose e escurecimento do sistema radicular (ROMEIRO et al., 2007).

A poluição ambiental acarreta o enriquecimento com este elemento na maioria dos solos, especialmente nos horizontes superficiais (PINTO FILHO, 2011). Assim, a disponibilidade de Pb pode ser grandemente afetada por determinadas práticas de manejo (MARQUES et al., 2011). Considerando que o Estado do Rio Grande do Norte apresentou um grande crescimento nas últimas décadas, no que se refere a área cultivada com frutos tropicais, principalmente nas regiões da Chapada do Apodi, Mossoró e Açú, onde se situa o Pólo Fruticultor Açú-Mossoró (MENDES et al., 2010), há fortes indícios que os solos dessas regiões estejam com percentuais de Pb acima do permitido. Essas comprovações foram confirmadas por Mendes et al. (2010), os quais demonstraram que nas regiões supracitadas houve acréscimos nos teores totais de Ni, Pb, Cu e Mn, na camada superficial (0-20 cm) em função do tempo de cultivo do solo, devido às práticas de inserção de adubos contendo micronutrientes e fósforo, como também na adição de metais pesados presentes.

Várias técnicas eficientes de tratamento do solo estão disponíveis, mas a maioria tem alto custo, trabalho intensivo e causam distúrbios ao solo, possuindo aceitabilidade limitada (BHARGAVA et al., 2012). Contudo, uma série de descobertas científicas combinadas à

pesquisa interdisciplinar vem desenvolvendo alternativas promissoras para a remediação do solo, as quais são menos agressivas ao ambiente e economicamente mais viáveis (VASCONCELLOS; PAGLIUSO; SOTOMAIOR 2012). Assim, a fitorremediação tem se tornado um tipo de tecnologia emergente, aliando a utilização da vegetação para a descontaminação *in situ* de solos e sedimentos (ROCHA et al., 2009).

Um exemplo claro de fitorremediação é a capacidade das plantas halófitas, adaptadas a altos níveis de salinidade, de acumular quantidades elevadas de sais em seus tecidos e de extraí-los dos solos (SANTOS et al., 2011a). Devido a essa característica, é de grande importância o uso das plantas halófitas como espécies resistentes e recuperadoras do solo salino (MATOS et al., 2012).

*Batis maritima* Linnaeus é uma planta halófito típica de ambiente hiper salino, caracterizada como subarbusto pertencente à família Bataceae, perene, dióica e produz níveis adequados de biomassa sob estresse salino (MARCONE, 2003). É encontrada em zonas tropicais e subtropicais em diversos habitats costeiros em forma de colônias, em pântanos salgados e manguezais, por muitas vezes encontrada nas margens de salinas e marés (LONARD; JUDD; STALTER, 2011). A espécie *B. maritima* além de ser utilizada na medicina popular, em alguns países como Porto Rico e México, tem grande importância para os ecossistemas costeiros e manguezais, pois proporciona uma maior proteção contra erosão costeira, se tornando uma espécie pioneira dos habitats supracitados pela capacidade de tolerar ambientes hiper salinos, além de fornecer uma nutrição e cobertura para a vida selvagem (SOUZA; SILVA; FERREIRA, 2011).

A tolerância ao estresse salino com a consequente acumulação de sais em seus vacúolos e produção de níveis adequados de biomassa nessas condições incita a verificação da tolerância da *B. maritima* a níveis de contaminação por Pb, para serem utilizadas em projetos de recuperação de área degradada por esse contaminante.

Apesar de muitos estudos sobre a tolerância de plantas a metais pesados, ainda são escassas as informações sobre absorção e acumulação de Pb na espécie *B. maritima*, bem como a influência desse metal na produção de biomassa e adequabilidade em projetos de fitorremediação.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Geral

Avaliar as modificações fisiológicas e bioquímicas de plantas de *Batis maritima* L. submetidas ao estresse por chumbo e seu potencial fitoextrator.

### 1.1.2 Específicos

- Verificar o efeito visual de toxidez da aplicação de doses crescentes de Pb em substrato com presença e ausência de EDTA em espécimes de *Batis maritima*;
- Realizar medições da altura das plantas durante o experimento;
- Quantificar a biomassa seca de *B. maritima* submetidas a diferentes níveis de chumbo;
- Determinar o Teor Relativo de Água mediante o estresse pelo metal;
- Avaliar os níveis de carotenóides, clorofila *a*, *b* e *totais*, proteínas *totais* e carboidratos solúveis nas folhas da planta;
- Determinar os níveis de P em plantas de *B. maritima*;
- Diagnosticar os níveis de Pb na espécie vegetal;
- Investigar o fator de translocação (FT) e fator de bioacumulação (FB) de Pb na planta.

## 2.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Metais pesados em solos

O material solto e macio encontrado na superfície da terra caracteriza o solo, o qual é constituído de água, ar, material mineral e orgânico, contendo ainda organismos vivos (COELHO et al.,2013). Segundo Verennes (2003), o solo desempenha várias funções, como suporte do crescimento vegetal, controle do movimento, e qualidade das águas nas bacias hidrográficas, e como ‘habitat’ para os organismos do solo. Assim, agrega grande importância para a manutenção da vida.

Metais pesados estão presentes nos solos como componentes naturais ou como resultado das atividades antropogênicas (LIMA et al., 2013). A contaminação por metais pesados no solo resulta, principalmente, da aplicação de resíduos urbanos e industriais e do uso de fertilizantes e pesticidas na agricultura (MELO; NASCIMENTO; SANTOS, 2006). Essa contaminação pode ocorrer por disposição e derrame proposital ou acidental de resíduos provenientes de atividades agrícolas, industriais, domésticas ou por deposição atmosférica, que modificam as características naturais do solo, produzindo impactos e limitando seus usos (MARQUES et al., 2011).

Assim, a intensificação das atividades industriais, agrícolas e de urbanização tem aumentado o risco de poluição dos solos por metais pesados (ANDRADE et al., 2009). O uso de fertilizantes fosfatados, por exemplo, utilizados na agricultura devido à baixa disponibilidade de fósforo (P), frequentemente limita o rendimento das culturas nas condições brasileiras, constituindo uma via de entrada de metais pesados na cadeia alimentar (FREITAS et al., 2009). Segundo os autores, os fertilizantes fosfatados acidulados são constituídos por fosfatos de rocha *in natura* utilizados como fonte de fósforo (P) que contêm naturalmente vários teores de metais pesados (Anexo A, Tabela 17).

Dentre esses contaminantes encontram-se os metais pesados (ou elementos traços), como o Chumbo (Pb), que não apresentam quaisquer benefícios ao organismo humano e, atualmente, a contaminação do solo e das águas por este elemento é um grave problema ambiental, devido a sua persistência e elevado poder de toxicidade (BERTOLI et al., 2011).

O aumento progressivo dos teores de alguns metais pesados no ambiente, principalmente em resposta às atividades antropogênicas, tem despertado interesse crescente da sociedade em decorrência dos danos causados aos ecossistemas (SOUZA; SILVA; FERREIRA, 2011). De acordo com Barros et al. (2010), o interesse pela avaliação da qualidade do solo vem aumentando, com a consciência de que se trata de um componente extremamente importante da biosfera, não só para a produção de alimentos, mas também na manutenção da qualidade ambiental.

## **2.2 Chumbo (Pb)**

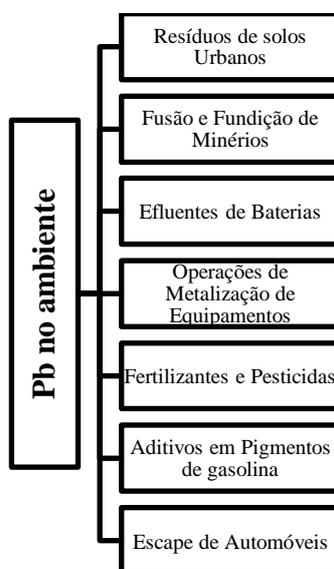
O chumbo, símbolo Pb, possui número atômico 82, com massa atômica  $207,2 \text{ g mol}^{-1}$  e pertencente ao grupo IV A da classificação periódica dos elementos químicos. É considerado um metal tóxico, pesado, possuindo massa específica maior que  $10,0 \text{ g cm}^{-3}$  (LEAL et al., 2012), de coloração cinza-azulado e encontrado em pequenas quantidades na

crosta terrestre, geralmente associado a minérios, principalmente aos que contêm zinco, sendo o sulfeto de chumbo (galena) a mais importante fonte primária de chumbo (CETESB, 2012).

O Pb tem destaque entre os metais pesados devido à sua ampla utilização e persistência no solo, sendo considerado um dos poluentes mais importantes (LIMA et al., 2013). O uso do metal é favorecido por suas propriedades, que o caracteriza como macio, altamente maleável, com baixa condutividade elétrica e altamente resistente à corrosão, demonstrando assim ser um excelente metal, utilizado para minimizar os problemas oriundos da corrosão atmosférica devido à sua rápida oxidação superficial em forma de película de óxido, formando o protóxido de chumbo (TEIXEIRA & SILVA, 2008).

Desde o início das civilizações o chumbo é utilizado como metal para estruturas e na construção de edifícios à prova de intempéries, em dutos de água e recipientes para cozinhar, em chapas para cobrir juntas, em isolamentos acústicos, na eletrônica para fazer conexões entre metais sólidos, como em munições utilizadas por caçadores de aves aquáticas (BAIRD, 2002). A mineração e o beneficiamento de minérios de Pb para os diversos usos do chumbo metálico e de seus compostos, produziram a disseminação do chumbo no ambiente (ENZWEILER; BOSSO, 2008), sendo que a partir do século XIX ganhou notoriedade como poluente ambiental (PEREIRA et al., 2013). Portanto, são várias as fontes de Pb que contribuem para a poluição do ambiente (Figura 1).

**Figura 1** - Fontes de Poluição de Pb no ambiente.



Fonte: Adaptada Sharma & Dubey, 2005.

Para que um determinado elemento presente no solo possa ser absorvido pelas plantas, há necessidade de o mesmo se encontrar em forma disponível, ou seja, solubilizado

no solo (CAMILOTTI et al., 2007). Assim, a absorção de chumbo é regulada pelo pH, tamanho de partículas, capacidade de troca de cátions dos solos (CTC), e outras características físico-químicas (ROMEIRO et al., 2006).

O entendimento da mobilidade dos metais pesados e de sua disponibilidade aos organismos passa necessariamente pelo entendimento do seu comportamento químico no sistema solo (MARTINS et al., 2011). De acordo com os autores, em solos tropicais, onde predomina mineralogia oxídica (principalmente Fe, Al e Mn) e caulínica na fração argila, há grande potencial na adsorção de íons metálicos.

O Pb tem a habilidade de deslocar outros elementos, como K, Ba, S e Ca em minerais e sítios de adsorção, devido à sua semelhança aos metais alcalinos terrosos, conferindo-lhe também a característica de ser um dos metais pesados menos móveis e que se acumulam naturalmente nos horizontes superficiais (BERTOLI et al., 2011). Segundo Chaves et al. (2010), a formação no solo do complexo quelato e metal previne a precipitação dos metais e mantém sua disponibilidade para as plantas, que determina a concentração e o acúmulo dos mesmos nos tecidos vegetais.

A necessidade de monitorar a presença e o comportamento de elementos tóxicos no ambiente ensejou o desenvolvimento de métodos específicos para determinar a sua concentração no meio (ENZWEILER; BOSSO, 2008). No Brasil, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) estabelece listas com valores norteadores para solos e água em todo o território nacional, que têm como base pesquisas inicialmente produzidas pela Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB). De acordo com a Resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009, estabelece critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. A 1ª Decisão de Diretoria nº 045/2014/E/C/I, de 20 de fevereiro de 2014, dispõe sobre a aprovação dos Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo – 2014, em substituição aos Valores Orientadores de 2009 e dá outras providências (Tabela 1).

**Tabela 1** - Valores orientadores para solos (mg Kg<sup>-1</sup> de peso seco de solo).

<b>Substância</b>	<b>Prevenção</b>	<b>Investigação</b>		
		<b>Agrícola</b>	<b>Residencial</b>	<b>Industrial</b>
Cádmio	1,3	3,6	14	160
Chumbo	72	150	240	4400

Cobre	60	760	2100	10000
Cromo Total	75	150	300	400
Níquel	30	190	480	3800
Zinco	86	1900	7000	10000

**Adaptado:** Decisão de Diretoria 045/2014/E/C/I, de 20-02-2014

A saúde humana e a vida aquática podem ser afetadas de modo significativo por atividades industriais e agrícolas, já que apresenta em seus processos elementos classificados como metais pesados e esses, por sua vez, são considerados bioacumulativos (ARAÚJO; PINTO FILHO, 2010). Dentre estes o Pb é um dos principais poluentes em ambos os ecossistemas terrestre e aquático (SHARMA; DUBEY, 2005).

O reconhecimento dos efeitos tóxicos da exposição ao chumbo resultou na introdução de restrições ao uso de seus compostos, com o objetivo de tornar o ambiente, em geral, mais seguro e saudável (ENZWEILER; BOSSO, 2008). Apesar das medidas regulamentares adaptadas por muitos países para limitar entrada demasiada de Pb no ambiente, ele continua a ser um dos mais graves riscos ambientais e humanos em geral (SHARMA; DUBEY, 2005).

Pelo fato das plantas serem o principal ponto de ligação entre os metais pesados e o homem, via cadeia alimentar, se torna necessária a realização de estudos que possibilitem a determinação do efeito destes elementos nas mesmas (BERTOLI et al., 2011). Para tanto, a compartimentalização, controle de pH na rizosfera, exsudação de ácidos orgânicos e quelação intracelular são alguns dos mecanismos utilizados pelas espécies vegetais em condições de estresse por metais pesados (SOUZA; SILVA; FERREIRA, 2011).

Apesar das possibilidades para a indisponibilidade dos metais no solo e dos mecanismos de proteção das plantas, a absorção de metais pesados, dependendo das condições, pode ocorrer em quantidades suficientes para o surgimento de sintomas de fitotoxicidade nas mesmas (CAMILOTTI et al., 2007). De acordo com LAKE (1987) o nível fitotóxico para o Pb está estabelecido entre 35-400 mg kg<sup>-1</sup>. O excesso de Pb causa vários sintomas de toxicidade em plantas, como redução de crescimento, clorose e escurecimento do sistema radicular (ROMEIRO et al., 2006). Causa ainda inibição de atividades enzimáticas, distúrbios de nutrição mineral, de balanço hídrico, mudanças hormonais e alterações na permeabilidade da membrana celular (BOURLEGAT et al., 2007).

No organismo humano, a absorção não depende unicamente da concentração e do tempo de exposição ao metal, mas também dos fatores relacionados às propriedades físico-químicas como o tamanho da partícula e a solubilidade do composto (SCHIFER; BOGUSZ JUNIOR; MONTANO, 2005). O chumbo pode afetar quase todos os órgãos, sendo o sistema

nervoso central mais sensível, tanto em crianças quanto em adultos, sendo a exposição ao chumbo inorgânico o responsável por causar fraqueza, irritabilidade, astenia, náusea, dor abdominal com constipação (CETESB, 2012). No entanto, a intoxicação por chumbo orgânico ocorre principalmente através do chumbo tetraetila e tetrametila, onde apresentam características lipossolúveis, sendo facilmente absorvidos pela pele (SCHIFER; BOGUSZ JUNIOR; MONTANO, 2005).

### **2.3 Remoção de metais pesados do solo**

A recuperação do meio ambiente tem sido uma grande preocupação nos dias atuais (VASCONCELLOS; PAGLIUSO; SOTOMAIOR, 2012). Assim, grandes esforços têm sido feitos para integrar conhecimentos que facilitem a reabilitação de solos contaminados com metais pesados, afim de possibilitar o retorno da funcionalidade e estabilidade do ecossistema (ANDRADE et al., 2009).

A remediação de áreas contaminadas é uma exigência legal e um compromisso social que precisam ser executados, criando demandas tecnológicas, oportunidades de pesquisa científica e possibilidades de negócios (ROMEIRO et al., 2006). Portanto, solos contaminados por metais pesados exigem ação remediadora que diminua os teores desses poluentes em níveis ambientalmente seguros (MELO; NASCIMENTO; SANTOS, 2006). A remediação de solo contaminado representa uma despesa significativa a muitas empresas e entidades governamentais (BOURLEGAT et al., 2007). No entanto, uma das estratégias de reabilitação que alia eficiência tecnológica e baixo custo de aplicação e manutenção é a fitorremediação (ANDRADE et al., 2009). A técnica agrega valor por ser menos cara que as tecnologias atuais e simultaneamente inicia tanto a desintoxicação de resíduos perigosos, como a restauração do local (BHARGAVA et al., 2012). A estimativa das despesas com remediação de uma área contaminada usando aterros convencionais comumente praticados nos Estados Unidos custa em média US\$ 150-350,00/tonelada. No entanto, a utilização de plantas na remediação de solos pode ter um custo de US\$ 20-80/ tonelada, o que torna a abordagem economicamente atraente para a recuperação de solos contaminados com metais pesados (NASCIMENTO & XING, 2006).

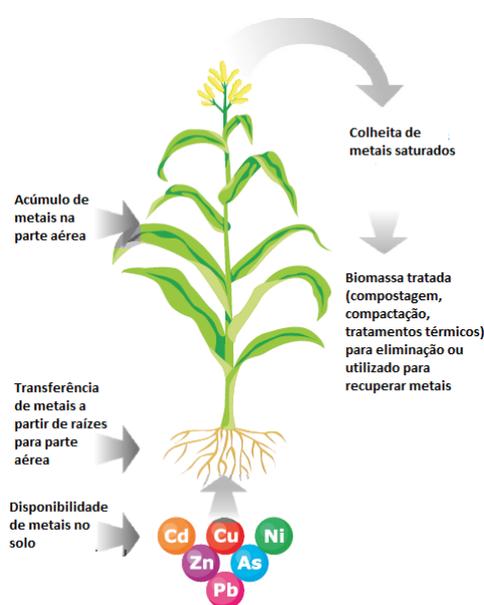
A fitorremediação (fito = planta e remediação = corrigir), desde 1991, é a tecnologia que utiliza plantas para degradar, extrair, conter ou imobilizar contaminantes do solo e da água (VASCONCELLOS; PAGLIUSO; SOTOMAIOR, 2012). Por causa de seus custos

relativamente baixos, a fitorremediação representa uma abordagem viável para a limpeza de solos nos países em desenvolvimento, bem como, em países onde fundos disponíveis para a recuperação ambiental são escassos (NASCIMENTO & XING, 2006). Segundo Marques et al. (2011), o Brasil apresenta grande potencial de uso da fitorremediação na recuperação de áreas contaminadas, devido à grande biodiversidade e ao clima, que favorecem os processos biológicos no tratamento da poluição.

A efetividade da fitorremediação está limitada pela capacidade da planta em sorver os metais das superfícies das partículas do solo e da solubilidade dos mesmos (VASCONCELLOS; PAGLIUSO; SOTOMAIOR, 2012). Inclusive, a vantagem do uso das plantas é manter a estrutura do solo, garantindo trocas gasosas e o desenvolvimento dos microrganismos, inclusive os biorremediadores (MARQUES et al., 2011).

No Brasil, as pesquisas sobre fitorremediação têm focalizado principalmente em solos contaminados por metais (ROMEIRO et al., 2007). Por sua vez, pesquisadores ambientais há muito tempo se esforçam para desenvolver variedades de plantas que podem ser utilizadas para uma fitoextração mais eficaz (BHARGAVA et al., 2012). A fitoextração refere-se ao uso de plantas acumuladoras, que conseguem extrair poluentes do solo e transportá-los para a parte aérea (BOURLEGAT et al., 2007), cuja biomassa poderá ser tratada por compostagem, compactação e tratamentos térmicos ou utilizado para recuperar metais (NASCIMENTO & XIANG, 2006), (Figura 2):

**Figura 2** - Esquema representativo do processo de fitoextração de metais pesados no solo.



Fonte: Adaptado Nascimento & Xiang (2006).

Essa técnica se apresenta produtiva apenas se o contaminante for absorvido pelas raízes das plantas (VASCONCELLOS; PAGLIUSO; SOTOMAIOR, 2012). Segundo Nascimento & Xiang (2006), o objetivo da fitoextração é reduzir a concentração de metais em solos contaminados em níveis regulamentadores, no âmbito de um prazo razoável, contemplando plantas com capacidade de acumular naturalmente metais, as chamadas hiperacumuladoras, ou utilizando culturas de plantas de alta produção de biomassa aliado aos métodos químicos de aprimoramento de fitoextração.

É importante enfatizar que as espécies apresentam capacidade de acumulação diversificada (vários contaminantes) ou específica (um ou poucos contaminantes) (VASCONCELLOS; PAGLIUSO; SOTOMAIOR, 2012). Várias plantas apresentam mecanismos de tolerância à presença de metais, porém esses mecanismos ainda não estão bem definidos (SILVA et al., 2013). Destas espécies vegetais, poucas são consideradas hiperacumuladoras de Pb (Tabela 2). Cerca de 450 espécies de angiospermas foram identificadas até agora como acumuladoras de metais pesados (As, Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb, Sb, Se, Zn), representando menos de 0,2% de todas as espécies conhecidas (RASCIO; NAVARI-IZZO, 2011). De acordo com os autores, as espécies hiperacumuladoras são distribuídas numa grande variedade de famílias distintas, mostrando que a evolução das mesmas ocorreu de forma independente sob a seleção de fatores ecológicos.

**Tabela 2** - Espécies de plantas hiperacumuladoras de chumbo (Pb).

<b>Espécies de Plantas Hiperacumuladoras de Pb</b>	<b>Família</b>	<b>Referência</b>
<i>Sesbania drummondii</i>	Fabaceae	Sahi, et al. (2002); Sharma, et al. (2004)
<i>Hemidesmus indicus</i>	Apocynaceae	Chandra Sekhar, et al. (2005)
<i>Arabis paniculata</i>	Brassicaceae	Tang, et al. (2009)
<i>Plantago orbignyana</i>	Plantaginaceae	Bech, et al. (2012)

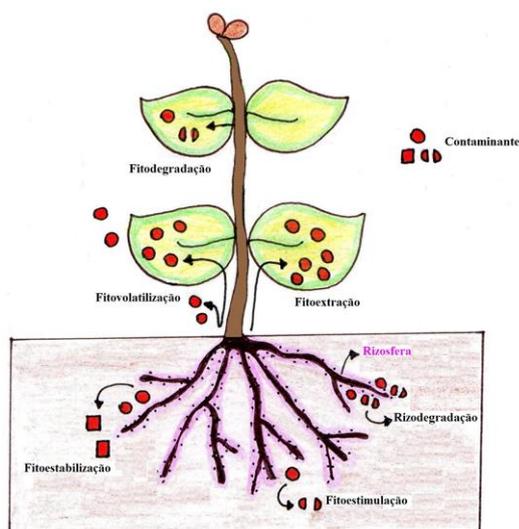
Fonte: Adaptado de Vasconcellos, Pagliuso, Sotomaior, 2012.

Sabe-se que o uso de ácidos orgânicos ou quelantes sintéticos, pode acelerar a translocação de metais para a parte aérea, como afirma Nascimento & Xiang (2006). Ácidos orgânicos de baixo peso molecular são provavelmente os mais utilizados em sistemas de fitoextração, pois influenciam a aquisição de metais pela formação de complexos com íons metálicos, ou através da diminuição do pH em torno das raízes, alterando as características do

solo. Ainda, segundo o autor, o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) tem sido utilizado com sucesso como quelantes de chumbo e outros metais de solos contaminados.

Além da fitoextração, existem várias técnicas de fitorremediação disponíveis, subdivididas segundo a Agência de Proteção do Meio Ambiente (U.S. Environmental Protection Agency – EPA, 2000), Figura 3:

**Figura 3** – Técnicas envolvidas na fitorremediação.



Fonte: PILON-SMITS, 2005.

a) Rizofiltração é uma técnica em que a adsorção ou precipitação ocorre nas raízes ou absorção de contaminantes que estão em solução aquosa, ao redor da zona de raízes, e a translocação na planta depende do contaminante (VASCONCELLOS; PAGLIUSO; SOTOMAIOR, 2012). A rizofiltração é útil na separação de metais em águas e resulta na retenção dos contaminantes, que são imobilizados ou acumulados dentro ou sobre as raízes, onde, posteriormente é realizada a remoção da planta (ANDRADE; TAVARES; MAHLER, 2007).

b) Fitoestabilização é um conjunto de mecanismos físicos, químicos ou físico-químicos. A fitoestabilização *física* evita a erosão superficial (eólico-hídrica) e a lixiviação do poluente e a fitoestabilização *química* ocorre por mudança química e/ou microbiológica da zona das raízes e, ainda pela alteração química do contaminante (ANDRADE; TAVARES; MAHLER, 2007). A imobilização do contaminante no solo, basicamente metais, através da absorção e acumulação pelas raízes, e no uso de plantas e suas raízes previne a migração do contaminante (VASCONCELLOS; PAGLIUSO; SOTOMAIOR, 2012).

c) Rizodegradação é a quebra de um contaminante orgânico no solo pela atividade microbiana, que é aumentada pela presença da zona radicial (ANDRADE; TAVARES; MAHLER, 2007).

d) Fitovolatilização consiste na captação e transpiração de um contaminante pela planta, com liberação do contaminante ou uma forma modificada do mesmo para a atmosfera (VASCONCELLOS; PAGLIUSO; SOTOMAIOR, 2012). A fitovolatilização é vantajosa, pois o contaminante é removido do ecossistema aquático e terrestre, entretanto, existe o risco das plantas liberarem concentrações muito elevadas de contaminantes tóxicos na atmosfera (ANDRADE; TAVARES; MAHLER, 2007).

e) Fitoestimulação é uma técnica no qual os microrganismos estão associados, direta ou indiretamente, na degradação dos contaminantes (ANDRADE; TAVARES; MAHLER, 2007). Ocorre a liberação de aminoácidos e polissacarídeos pela raiz, que caracteriza um estímulo para a atividade microbiana (VASCONCELLOS; PAGLIUSO; SOTOMAIOR, 2012).

f) Fitotransformação ou fitodegradação emprega o uso de raízes bem desenvolvidas, porém utiliza a absorção com subsequente volatilização ou, então, a degradação de forma parcial ou completa, transformando o composto em menos tóxico (VASCONCELLOS; PAGLIUSO; SOTOMAIOR, 2012). É empregado, principalmente, na remediação de compostos orgânicos (ANDRADE; TAVARES; MAHLER, 2007).

As técnicas de fitorremediação possuem diversas vantagens, de acordo com Andrade, Tavares e Mahler (2007), como: ser utilizada no local contaminado, limitando as perturbações do meio, além de possuir custos reduzidos, como também promover a colonização vegetal, e permitir o desenvolvimento de plantas em ambientes poucos propícios ao desenvolvimento microbiológico; viabiliza a remediação de vários contaminantes simultaneamente, incluindo metais, pesticidas, e como benefício indireto, permite a melhoria da qualidade do solo, com o aumento da sua porosidade, favorecendo a infiltração de água, permitindo a ciclagem de nutrientes.

No entanto, possuem limitações, como o tempo para a recuperação do ambiente, já que os resultados da fitorremediação não são imediatos, podendo levar semanas, meses e até anos para que o efeito esperado seja alcançado (VASCONCELLOS; PAGLIUSO; SOTOMAIOR, 2012). Além disso, a concentração do poluente e a presença de outras toxinas devem permanecer dentro dos limites de tolerância da planta (ANDRADE; TAVARES; MAHLER, 2007). Outro fator relevante são as barreiras socioeconômicas, que envolvem falta de informação no meio técnico e na sociedade em geral; ausência de instrumentos reguladores

que promovam a fitorremediação; competição com métodos mais conhecidos, dominados e aceitos por empresas de consultoria e investimentos limitados para o desenvolvimento de tratamentos inovadores (MARQUES et al., 2011).

## **2.4 Nutrição Mineral de Plantas**

O solo é o meio que atua como reservatório de minerais necessários às plantas. Sendo assim, a solução do solo é o compartimento de onde a raiz retira ou absorve os elementos essenciais. Os elementos minerais essenciais são geralmente classificados como macro e micronutrientes, de acordo com suas concentrações relativas no tecido vegetal (TAIZ; ZEIGER, 2013). Além do Carbono, Oxigênio e Hidrogênio (orgânicos), treze elementos (minerais) são considerados essenciais para o desenvolvimento das plantas, sendo estes divididos em dois grupos: Macronutrientes: N, P, K, Ca, Mg e S e Micronutrientes: B, Cl, Cu, Fe, Mn, Mo e Zn.

Sendo organismos sésseis, as plantas são constantemente expostas durante o seu ciclo de vida às condições adversas do ambiente, que podem afetar negativamente o crescimento, desenvolvimento ou produtividade (HOSSAIN et al., 2012). Assim, as plantas absorvem do solo, tanto os elementos essenciais, como os benéficos e os tóxicos. Alguns metais pesados, incluindo Cu, Zn, e Mn, são micronutrientes requeridos para uma ampla variedade de processos fisiológicos, no entanto, podem ser tóxicos em concentrações elevadas. Além disso, metais pesados como Cd, Pb ou Hg, não possuem nenhuma função conhecida para as plantas e são altamente tóxicos, devido à sua reatividade com átomos de S e N presentes nos aminoácidos e proteínas (CLEMENS, PALMGREN; KRÄMER, 2002).

A grande área da superfície das raízes e a sua capacidade em absorver íons inorgânicos, em baixas concentrações, da solução solo aumentam a efetividade da absorção pelas plantas. Epstein (1975), apresentou as concentrações médias dos nutrientes minerais na matéria seca, suficientes para um adequado desenvolvimento das plantas (Anexo A, Tabela 18), porém, existem variações dependendo da planta e do órgão analisado. Depois de terem sido absorvidos pelas raízes, esses elementos são translocados para diversas partes das plantas, os quais são utilizados em numerosas funções biológicas (TAIZ; ZEIGER, 2013).

O suprimento inadequado de um elemento essencial provoca um distúrbio nutricional que se manifesta por sintomas de deficiências característicos (TAIZ; ZEIGER, 2013). Um meio alternativo de seleção de plantas com potencial para fitoextração é através do uso de soluções nutritivas para o crescimento das mesmas, tal procedimento permite um controle

adequado de metais e uma interpretação uniforme da resposta da planta (ROMEIRO et al., 2006). A Solução de Hoagland modificada, por exemplo, contém todos os elementos minerais conhecidos necessários ao rápido crescimento das plantas, sem produzir sintomas de toxicidade ou estresse salino (TAIZ; ZEIGER, 2013).

## 2.4 Plantas Tolerantes a Metais Pesados

De acordo com, Ali, Khan e Sajad (2013), plantas especificamente adaptadas para se desenvolver em solos com abundância de metais pesados, são denominadas metalófitas, sendo a maioria pertencente à família Brassicaceae, divididas em 3 categorias: exclusoras, indicadores e hiperacumuladoras de metais:

- a) **Exclusoras de metais:** acumulam metais pesados do substrato nas raízes, e restringi o seu transporte para partes aéreas (SHEORAN et al, 2011; MALIK e BISWAS, 2012), tais plantas têm um baixo potencial de extração de metal, mas pode ser eficaz para fins de fitoestabilização (LASAT, 2002).
- b) **Indicadoras de metais:** Acumulam metais pesados em suas partes aéreas, geralmente refletem as concentrações de metais pesados do substrato (SHEORAN et al., 2011).
- c) **Hiperacumuladora de metais:** São plantas que concentram metais pesados em seus tecidos a níveis muito superiores aos contidos no solo.

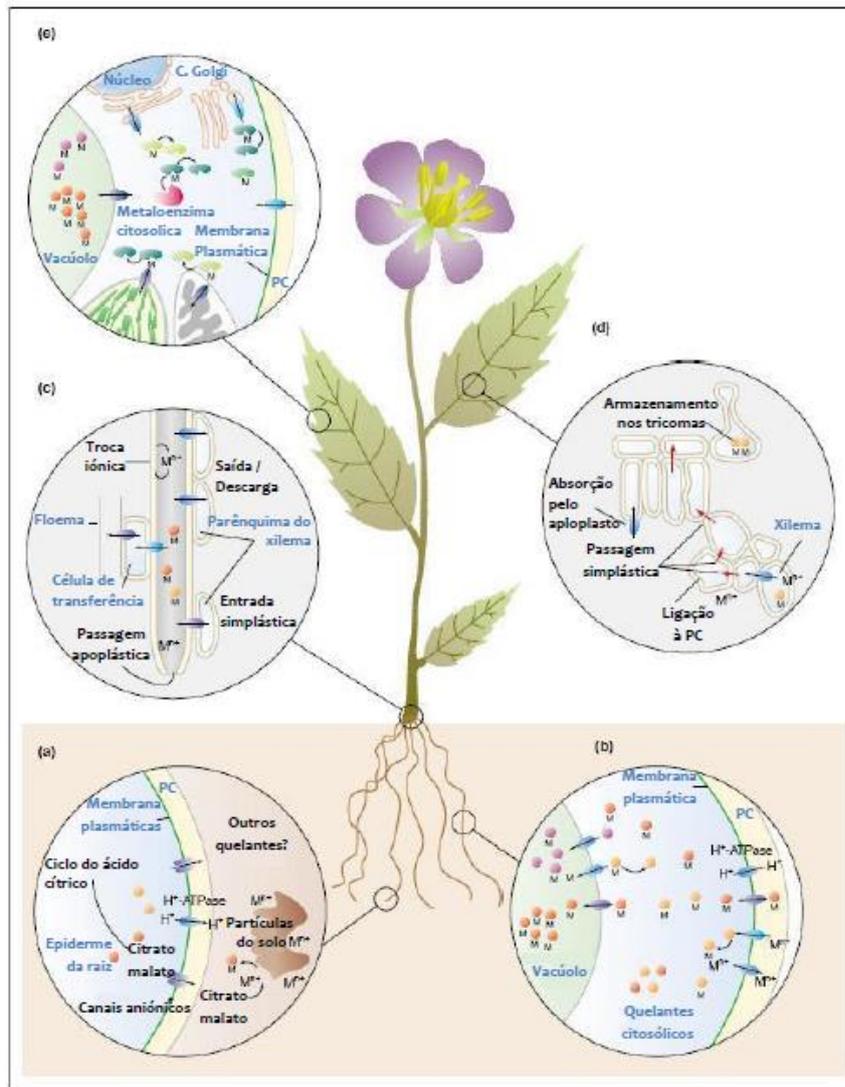
Os metais pesados afetam o crescimento, a distribuição e o ciclo biológico das espécies, sendo o uso de plantas tolerantes uma alternativa importante do ponto de vista ambiental, na recuperação de áreas, e econômico com uso de espécies cultivadas que suportam condição adversa (SOUZA; SILVA; FERREIRA, 2011). No Brasil, nos últimos dez anos, as pesquisas nessa área têm se intensificado, na procura por espécies fitorremediadoras (VASCONCELLOS; PAGLIUSO; SOTOMAIOR, 2012). Em condições de estresse por metais pesados, as plantas podem adquirir tolerância devido ao desenvolvimento de mecanismos que as tornam adaptadas a este estresse, porém, uma planta pode ter vários mecanismos de tolerância (SOUZA; SILVA; FERREIRA, 2011). Em resposta ao excesso de metais pesados, as plantas podem ser receptoras passivas, como também, podem exercer controle sobre a translocação e rejeição de alguns elementos, incluindo a redução do transporte através da membrana, exclusão, formação de peptídios ricos em grupos tiólicos

(fitoquelatina), quelação por ácidos orgânicos e compartimentalização de metal em estruturas subcelulares (SANTOS et al., 2006).

Segundo Romeiro et al. (2006) apesar de não ser um elemento essencial, o Pb é facilmente absorvido e acumulado em diferentes partes das plantas em baixas concentrações. Move-se na raiz, predominantemente, via apoplasto através do córtex e acumula-se perto da endoderme. De acordo com o autor, a endoderme age como uma barreira parcial para a translocação do Pb das raízes para a parte aérea. Já em altas concentrações, a parede celular é danificada e grande quantidade do metal pesado entra nas células.

Segundo Clemens, Palmgren e Krämer (2002), de um modo geral, a acumulação de um determinado metal na planta, acontece em função da capacidade de absorção celular. Assim, por ser um organismo multicelular, esse mecanismo é dificultado devido às diferenças entre tecidos e células específicas, como também por envolver transporte intracelular. A figura 4 ilustra os processos que possivelmente podem influenciar as taxas de acúmulo de metais em plantas, como: a) mobilização e absorção do solo, b) compartimentação e remoção na raiz, c) eficiência da entrada e transporte no xilema, d) distribuição entre o metal dissipado na parte aérea, e) remoção e o armazenamento nas células da folha.

**Figura 4** - Desenho dos possíveis mecanismos moleculares envolvidos na acumulação de metais de transição em plantas. (a) mobilização no solo e na planta, (b) absorção e entrada através da membrana, (c) transporte através do xilema, (d) transporte e armazenamento, (e) distribuição intracelular de metais.



Fonte: Adaptada de Clemens, Palmgren e Krämer (2002). M: Metal PC: Parede Celular.

Plantas sensíveis às substâncias tóxicas podem ser utilizadas como organismos teste para a avaliação e monitoramento de contaminantes ambientais (PEREIRA et al., 2013). Tendo em vista que nem todas as espécies vegetais desenvolvem-se em ambientes contaminados, o primeiro passo é a identificação das espécies que, além de apropriadas às condições locais, sejam tolerantes ao contaminante (MARQUES et al., 2011).

*Batis maritima* C. Linnaeus é uma dicotiledônea de ciclo de vida perene, pertencente à família Bataceae. É caracterizada como arbusto de baixo porte de regiões tropicais e subtropicais, sendo encontrada em zonas costeiras, como em margens de salinas. Os altos níveis

de sódio e cloreto indicam que *B. maritima* é uma planta xeromórfica e halófito por acumulação de sais (LONARD; JUDD; STALTER, 2011). São plantas C3 (LONARD; JUDD; STALTER, 2011), possuindo cerca de 1m de altura, 2m de extensão lateral e 5 cm de diâmetro basal (FRANCIS, 2004). Pouco se sabe sobre a produção e germinação de sementes, e o processo de propagação de hastes se dá por mergulhia (LONARD; JUDD; STALTER, 2011).

As plantas apresentam ou possuem raízes fibrosas, folhas verde-amareladas, suculentas, decíduas, simples, opostas, sésseis, diminutas, com margem inteira e estípulas vestigiais nas folhas e brácteas. Suas inflorescências apresentam-se em espigas, racemosas, axilares, cônica, com flores em quatro fileiras, unissexuais (dioica), pequenas localizadas nas axilas das folhas. A flor estaminada (masculina) diclamídea, 4-estames, 4-estaminóides, deiscência longitudinal, 4-pétalas (SANDOVAL, DELGADILO, 2008). Há muita controvérsia na literatura com relação à estrutura tubular da flor, no entanto, estudos feitos por Craene (2005) com organismos em fase inicial de desenvolvimento, dão evidências e confirmam que a estrutura tubular é obtida a partir de quatro sépalas com lobos fundidos, com três lobos anteriores altamente reduzidos.

A flor pistilada (feminina) aclamídea, possui ovário súpero, placentação ereta, bicarpelar, 2-lóculos separados por falsos septos, 4-óvulos embutidos no tecido da inflorescência. Suas inflorescências podem ser comparadas a um abacaxi, pois surgem alternando pares de brácteas na axila sobre um crescente eixo principal, que se agregam dando a inflorescência um formato de cone. Essas brácteas caem rapidamente deixando uma cicatriz que permanece visível sobre a inflorescência. Os frutos são múltiplos, devido à fusão de pistilos na maturidade, drupóides, carnudos, com aspecto esponjoso (quando em senescência), dicotiledonar e com embrião reto (SANDOVAL, DELGADILO, (2008), LONARD et al., (2011).

**Figura 5** - Foto da *Batis maritima* L. em ambiente natural.



Fonte: Arquivo pessoal, 2014.

A *Batis maritima* pode tolerar condições que a tornam uma espécie pioneira, com potencial para solos salobros e salinos, sendo importante para estabilização do substrato, devido à alta densidade nas raízes (LONARD; JUDD; STALTER, 2011). Os benefícios da espécie incluem a utilização de cinzas para a produção de vidros e sabões (FRANCIS, 2004), como também suas folhas são consumidas em saladas. A espécie também é aplicada na medicina, uma vez que é utilizada para tratar doenças de pele, distúrbios de reumatismo e tireóide, gota, e problemas no sangue (LOARD; JUDD; STALTER, 2011). Também, é uma rica fonte de proteína, agregando valor nutricional à alimentação. Sementes de *B. maritima* contêm (1,6 vezes) níveis mais elevados de proteína bruta que aqueles dos mais convencionais cereais, tais como trigo, arroz, milho e cevada (KENT; EVERS, 1994). Por ser uma planta halófito, cresce em áreas com grandes concentrações de sais, sequestrando-os em vacúolos presentes nas folhas, combatendo assim, o efeito deletério dos mesmos (LONARD, JUDD, STALTER, 2011). Assim, por ser tolerante à salinidade, retirando do solo os íons resultantes da dissolução do NaCl, a investigação dessa planta como fitorremediadora de metais pesados, dentre eles o Pb, tem o intuito de conhecer a adaptação da espécie a esse metal.

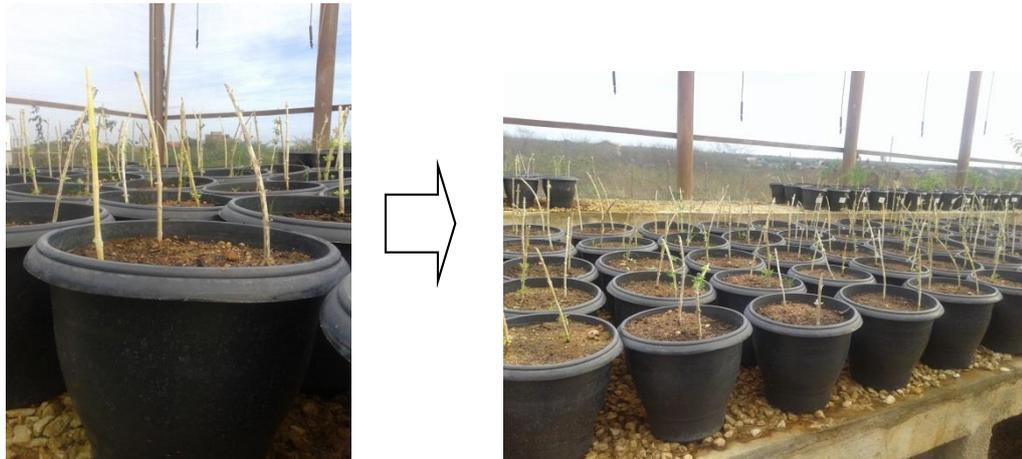
### **3.0 MATERIAIS E MÉTODOS**

O experimento foi realizado em 2014 na casa de vegetação, na Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, em Mossoró, RN. A espécie avaliada foi *Batis maritima* L., da família Bataceae.

### 3.1 Obtenção do Material Vegetal

As plantas, da espécie *B. maritima* L., foram coletadas no dia 15.01.2014, na cidade de Areia Branca-RN, as margens de uma estrada sem pavimentação, em uma área de mangue localizada a latitude 04° 55' 55.6" S e longitude de 37° 05' 58.6" W nas proximidades da praia do Paraíso. Posteriormente, as plantas foram conduzidas para casa de vegetação, anexo ao Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV), da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte (UERN) localizado na cidade de Mossoró/RN. Após a coleta, foram preparadas estacas, com aproximadamente 15 cm de altura, com auxílio de uma tesoura de poda. Em seguida, três estacas foram inseridas em vasos de polietileno com capacidade para 8L contendo substrato composto por areia+argila+polifétil®, na proporção de 1:1:1 (Figura 6). O período de aclimação das estacas ocorreu em dois meses (janeiro a março) e durante esse período as plantas foram irrigadas manualmente obedecendo à capacidade de vaso previamente estabelecida.

**Figura 6** - Estaquia da *Batis maritima* L. em casa de vegetação, UERN. Mossoró/RN.



Fonte: Arquivo pessoal, 2014.

### 3.2 Instalação do Experimento

O experimento foi conduzido em Casa de vegetação, anexo ao Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV), da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte (UERN), Campus de Mossoró, localizado pelas coordenadas geográficas, latitude 04°55'55.6"

S e longitude de 37°05'58.6" W. Gr. com 18m de altitude, com temperatura média máxima de 36°C e mínima de 27°C e umidade relativa de 78%, no período de janeiro a julho de 2014.

Após a uniformização em tamanho, as plantas foram transferidas para vasos de polietileno com capacidade para 9L contendo substrato composto por areia + argila + polifétil® (1:1:1). Cada vaso foi colocado sobre outro vaso (com capacidade para 6L) que serviram como suporte e cujo objetivo era coletar o lixiviado contendo o metal pesado. Em seguida, as plantas foram etiquetadas com a identificação dos tratamentos e distribuídas ao acaso sobre uma bancada central na casa de vegetação, totalizando 60 plantas.

Durante o cultivo, os vasos foram irrigados mantendo o limite mínimo de 70% da capacidade de vaso e durante esse procedimento, a água de lixiviação coletada nos vasos suporte foi reutilizada na irrigação.

A aplicação dos tratamentos iniciou-se após 3 meses de estabilização e uniformização das plantas, nas quais foram tratadas com diferentes doses de Pb, utilizando o Acetato de Chumbo trihidratado  $[Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O]$  em solução nutritiva de Hoagland & Arnon modificada, aplicando-se 100mL dessa solução em cada vaso. A aplicação dos tratamentos transcorreu em 2 etapas: na primeira etapa, as 60 plantas foram submetidas ao estresse por um período total de 30 dias e no final desse período 30 plantas (3 de cada tratamento) foram coletadas para realização das análises bioquímicas e de crescimento. As plantas que restaram, foram submetidas a um maior tempo de exposição ao metal. No entanto, antes da continuidade das aplicações de Pb, as plantas permaneceram 3 semanas sem exposição ao estresse, sendo irrigadas apenas com água. Após esse intervalo, as 30 plantas restantes foram submetidas novamente aos tratamentos por mais 30 dias, ou seja, a segunda etapa foi constituída de 30 plantas que permaneceram 60 dias de estresse pelo metal. Na primeira etapa, as plantas foram expostas a solução nutritiva de Hoagland & Arnon modificada com acetato de chumbo no intervalo de 4 dias e na segunda fase, foram submetidas a exposição ao Pb diariamente. No final do experimento, as plantas foram coletadas para análise. A solução nutritiva utilizada foi a de Hoagland e Arnon (1950), modificada seguindo os respectivos tratamentos (Quadro 1), segundo a metodologia utilizada por (SILVA et al., 2013).

**Quadro 1** - Volume utilizado da Solução estoque (mL) para compor 1L de solução nutritiva modificada com as respectivas doses de chumbo.

		Solução Final (ml) da Solução "Stock"/L				
		Doses de Chumbo (mg L <sup>-1</sup> )				
Solução Estoque (concentração mol L <sup>-1</sup> )		0	51,8	103,6	207,2	414,4
Soluções de Macronutrientes	Dihidrogenofosfato de Potássio (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) (1M)	2	2	2	2	2
	Nitrato de Cálcio Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (1M)	10	10	10	10	10
	Sulfato de Magnésio (MgSO <sub>4</sub> ) (1M)	4	4	4	4	4
	Nitrato de Potássio (KNO <sub>3</sub> ) (1M)	10	10	10	10	10
Soluções de Micronutrientes	Ácido Bórico (1M)	1	1	1	1	1
	Cloreto de Manganês (1M)	1	1	1	1	1
	Sulfato de Zinco (1M)	1	1	1	1	1
	Sulfato de Cobre (1M)	1	1	1	1	1
	Molibdato de Amônio (1M)	1	1	1	1	1
	Cloreto de Ferro (1M)	1	1	1	1	1
Acetato de Chumbo (PbCH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> .3H <sub>2</sub> O		0	0,5	1	2	4
EDTA 0,1 mol L <sup>-1</sup> (T6 à T10)		1	1	1	1	1

Fonte: Adaptado de Silva, et al. 2013.

### 3.3 Tratamentos

Durante o experimento as plantas foram submetidas à solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) modificada com chumbo. O metal pesado empregado foi puro para análise (P.A.) sendo o acetato de chumbo trihidratado [Pb(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>.3H<sub>2</sub>O], a fonte de Pb. O agente quelatizante utilizado foi o EDTA, aplicado na concentração de 0,1 mol L<sup>-1</sup>.

Os tratamentos avaliados foram:

Tratamento 1 (T<sub>1</sub>): solução nutritiva de Hoagland sem EDTA;

Tratamento 2 (T<sub>2</sub>): solução nutritiva de Hoagland e 51,8 mg L<sup>-1</sup> de Pb sem EDTA;

Tratamento 3 (T<sub>3</sub>): solução nutritiva de Hoagland e 103,6 mg L<sup>-1</sup> de Pb sem EDTA;

Tratamento 4 (T<sub>4</sub>): solução nutritiva de Hoagland e 207,2 mg L<sup>-1</sup> de Pb sem EDTA;

Tratamento 5 (T<sub>5</sub>): solução nutritiva de Hoagland e 414,4 mg L<sup>-1</sup> de Pb sem EDTA;

Tratamento 6 (T<sub>6</sub>): solução nutritiva de Hoagland com EDTA;

Tratamento 7 (T7): solução nutritiva de Hoagland e 51,8 mg L<sup>-1</sup> de Pb com EDTA;  
 Tratamento 8 (T8): solução nutritiva de Hoagland e 103,6 mg L<sup>-1</sup> de Pb com EDTA;  
 Tratamento 9 (T9): solução nutritiva de Hoagland e 207,2 mg L<sup>-1</sup> de Pb com EDTA;  
 Tratamento 10 (T10): solução nutritiva de Hoagland e 414,4 mg L<sup>-1</sup> de Pb com EDTA.

### 3.4 Análises de Crescimento

Três plantas de cada tratamento foram avaliadas semanalmente, ao longo do experimento. Para tanto, foi medido o comprimento do maior ramo, expresso em centímetros (cm), o qual foi obtido com auxílio de uma fita métrica.

Aos 30 e 60 dias após o estresse (DAE) foram realizadas coletas para obtenção de massa seca das partes aérea e radicular. Assim, após a coleta, as plantas foram lavadas para remoção do substrato e em seguida, parte aérea e raiz foram individualmente colocados em sacos de papel tipo kraft e postos a secar em estufa de circulação forçada de ar a 70 °C até massa constante. Em seguida foi registrado individualmente o peso (em gramas) da parte aérea e raiz de cada tratamento, em balança analítica de precisão.

O teor relativo de água (TRA) foi obtido segundo a metodologia de Costa (2010) com modificações. Com auxílio de uma tesoura de poda, três folhas foram retiradas (entre a 4ª e 10ª folha) a partir do ápice do maior ramo. As folhas frescas foram pesadas para determinação do peso fresco (Pf) e em seguida foram colocados em placa de Petri forrada com papel de filtro embebida com 3mL de água destilada, onde permaneceram por 24 horas no escuro em BOD. Após esse período as folhas foram novamente pesadas para determinação do peso túrgido (Pt) e em seguida, foram inseridas em papel tipo kraft e submetidas a 70°C em estufa até atingir peso constante, para obtenção do peso seco (Ps). O Teor Relativo de Água (TRA) foi calculado conforme descrito por Costa (2010) utilizando a Equação 1:

$$TRA (\%) = \left( \frac{Pf - Ps}{Pt - Ps} \right) \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Onde,

TRA (%) = Teor Relativo de Água em porcentagem.

Pf = Peso fresco em gramas.

Ps = Peso Seco em gramas.

Pt = Peso túrgido em gramas.

### 3.5 Extração e quantificação de clorofila *a*, *b* e *totais*, carotenóides, proteínas totais e carboidratos solúveis totais nas folhas de *B. maritima*

A extração dos pigmentos fotossintéticos (clorofilas *a*, *b*, *totais* e carotenóides) foram realizados conforme descrito por Hiscox & Tsraelstam (1979) com modificações. Para essas análises, utilizou-se 100 mg de material vegetal fresco, o qual foi posto em tubo de ensaio envolto com papel alumínio, sendo adicionados a esses, 5ml de Dimetilsulfóxido (DMSO). Os tubos foram agitados por 24h utilizando um agitador e em seguida, as amostras foram analisadas imediatamente, com a transferência do material para uma cubeta, e posterior leitura no espectrofotômetro. Os cálculos para quantificação da clorofila *a* ( $C_a$ ) (Equação 2), clorofila *b* ( $C_b$ ) (Equação 3), clorofila total ( $C_{a+b}$ ) (Equação 4) e carotenóides ( $C_{x+c}$ ) (Equação 5) foram realizados de acordo com Lichtenthaler (1987). A partir das absorvâncias obtidas foram calculados os respectivos valores de carotenóides (470 nm), clorofila *a* (663 nm), clorofila *b* (645 nm), clorofila *total* e razão clorofila *a/b*, expressas em  $\mu\text{g}$  por mL de extrato, sendo posteriormente convertidos em  $\mu\text{g g}^{-1}$  MF utilizando a equação 6.

$$C_a = (12,7A_{663} - 2,69A_{645}) \quad \text{Equação 2}$$

$$C_b = (22,9A_{645} - 4,68A_{663}) \quad \text{Equação 3}$$

$$C_{a+b} = (7,05A_{663} + 18,09A_{645}) \quad \text{Equação 4}$$

$$C_{x+c} = (1000A_{470} - 1,90Chl_a - 63,14Chl_b)/214 \quad \text{Equação 5}$$

$$C (\mu\text{g g}^{-1} \text{ MF}) = \frac{C(\mu\text{g L}^{-1}) \times V(\text{mL})}{M(\text{g})} \quad \text{Equação 6}$$

Onde,

$C_a$  = Concentração de Clorofila *a* em  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

$C_b$  = Concentração de Clorofila *b* em  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

$C_{a+b}$  = Concentração de Clorofila Total em  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

$C_{x+c}$  = Concentração de Carotenóides em  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

$A_{663}$  = Absorvância 663 nm.

$A_{645}$  = Absorbância 645 nm.

$A_{470}$  = Absorbância 470 nm.

$C$  ( $\mu\text{g g}^{-1}$  MF) = Concentração em  $\mu\text{g g}^{-1}$  Matéria fresca.

$C$  ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) = Concentração em  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

$V$ (mL) = Volume do extrato (mL)

$M$  = massa (em gramas)

A extração de carboidratos solúveis totais foi realizada conforme descrito por Dubois (1956) com modificações. Primeiramente, 0,3 g da matéria fresca de folhas foi macerado em gral de porcelana juntamente com 4 mL de etanol a 80%. O extrato resultante foi transferido para tubo de ensaio e em seguida, as amostras foram submetidas à temperatura de 60 °C em banho-maria durante 30 minutos. Após aquecimento, as amostras permaneceram em repouso sob temperatura ambiente e posteriormente 3 mL da amostra foram transferidos para tubos eppendorf para centrifugação a uma temperatura de 4 °C a 1.180g, por 30 minutos. Após a centrifugação, 1000 $\mu\text{L}$  do sobrenadante foi transferido para tubos de ensaio identificados e em cada tubo foram adicionados 1 mL de clorofórmio e 1mL de água deionizada, deixando a mistura em repouso durante 1 hora, para obtenção da separação de fases. Em outro tubo de ensaio, foram transferidos 0,2 mL da fase aquosa obtida, e adicionado 1,8mL de água deionizada. Dessa solução, retirou 0,5 mL que foram transferidos para outro tubo de ensaio, no qual foi adicionado 0,5 mL de fenol (5%) e 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado. Em seguida, as amostras foram agitadas em vórtex e submetidas a leitura em espectrofotômetro a 485 nm para obtenção da absorbância da solução. Para a quantificação de carboidratos foi utilizado o espectrofotômetro Bell SP2000. Os cálculos para quantificação de carboidratos solúveis totais foram posteriormente convertidos em  $\mu\text{g g}^{-1}$  MF (equação 6). A curva de calibração foi realizada a partir de uma solução aquosa de glicose a uma concentração de 100 mg/100 mL (Apêndice A, Figura 8).

A extração de Proteínas totais foi realizado conforme descrito por Stefanuto (2002) e para tanto, utilizou-se 500 mg de material vegetal fresco (folhas), o qual foi macerado em gral de porcelana com 4 mL da solução de extração, constituída de 4mL de tampão tris-HCl, 1,6 mL de 2-mercaptaetanol; 6,4 mL de Dodecil sulfato de sódio (SDS-10%), 6,4 mL de glicerol; 3,2 mL de Dimetilsulfóxido (DMSO), 1g de Polivinilpirrolidona (PVP); 10,4 mL de água deionizada a pH 6,8. Após maceração, o material vegetal foi transferido para tubos de ensaio, onde permaneceram em repouso por 1 hora a temperatura ambiente. Posteriormente, a mistura

foi aquecida em banho-maria até ferver e em seguida, as amostras permaneceram em repouso a temperatura ambiente por 3 minutos para resfriamento. Logo após o resfriamento, as amostras contidas nos tubos de ensaio, foram transferidas para eppendorfs, e centrifugadas a rotação de 2.582 g por 300 s, obtendo dessa forma, o extrato bruto. A quantificação dos teores de proteínas totais nas amostras foi determinada adicionando-se 0,05 mL da amostra a 4,5 mL de solução de Coomassie Brilliant Blue, sendo em seguida efetuada a leitura em espectrofotômetro a 595nm. Os cálculos para quantificação de proteínas totais foram posteriormente convertidos em  $\mu\text{g g}^{-1}$  de matéria fresca (equação 6). A curva analítica de calibração foi realizada por albumina bovina (BSA), com solução padrão 100 mg/50 mL (Apêndice A, Figura 9).

### **3.6 Digestão úmida em forno de microondas**

O tecido vegetal foi digerido com  $\text{HNO}_3$  65% em vaso de Teflon fechado, por ser um material que não absorve a energia de microondas e que resiste aos ácidos oxidantes a quente (EMBRAPA, 2009). Foram determinados nesse trabalho utilizando esse método de digestão: P (fósforo) e Pb (chumbo).

As amostras de tecido vegetal seco (folhas e raízes) foram maceradas em gral de porcelana. Em seguida, foram adicionados em frascos confeccionados em Politetrafluoretileno (PTFE), 500 mg (com precisão de 1 mg) do material vegetal seco (raízes e folhas) com 20 mL de água deionizada + 6 mL de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$  65%) + 2 mL Peróxido de Hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 30% (EMBRAPA, 2009).

As amostras de solo foram secas em estufa a  $70^\circ\text{C}$ , e após seco, o solo foi peneirado em peneira com 2,0 mm de abertura de malha. Em seguida, foram transferidos para frascos confeccionados em Politetrafluoretileno (PTFE), 500mg de solo seco e peneirado, com 20 mL de água deionizada + 6 mL de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$  65%) e 2 mL de ácido clorídrico ( $\text{HCl}$  30%) (EMBRAPA, 2009).

Os frascos fechados foram inseridos no rotor do aparelho de microondas de digestão ácida (Milestone, ETHOS ONE). As condições de digestão em microondas foram: 10 minutos de rampa (aquecimento); manutenção da temperatura em  $150^\circ\text{C}$  (15 minutos), sob potência de 1400 W, e resfriamento por 20 minutos, até temperatura ambiente. Após a digestão, as amostras foram transferidas para balão volumétrico de 100 mL e o volume final completado com água destilada. Posteriormente, as amostras digeridas foram transferidas para recipientes plásticos com tampa para posterior análise.

### 3.7 Determinação de Fósforo (P)

Para determinação de Fósforo (P) foi utilizado o método Amarelo-de-vanadato, método pelo qual o ânion  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  reage com  $\text{MoO}_4^{2-}$  e  $\text{VO}_3^{2-}$ , em meio ácido, formando um complexo de coloração amarela que absorve a luz na região de 420nm (EMBRAPA, 2009). Para isso, as amostras foram preparadas utilizando 1 mL da amostra (extrato de digestão úmida em microondas) + 4 mL de água deionizada + 2 mL do reativo de molibdato vanadato de amônio. Em seguida, as amostras ficaram em repouso por 10 minutos e foi realizado a leitura no espectrofotômetro UV-VIS = 420nm (EMBRAPA, 2009). Para a curva de calibração de fósforo (P) utilizou-se a solução padrão de P, a partir da solução de 1000 mg L<sup>-1</sup> (Apêndice A, Figura 10).

Os resultados obtidos em mg L<sup>-1</sup> de P foram transformados em g Kg<sup>-1</sup> de matéria seca (Equação 7):

$$C(\text{g Kg}^{-1}) = C(\text{mg L}^{-1}) \times 0,2 \quad \text{Equação 7}$$

Onde,

$C(\text{g Kg}^{-1})$  = Concentração do fósforo em g Kg<sup>-1</sup>

$C(\text{mg L}^{-1})$  = Concentração do fósforo em mg L<sup>-1</sup>

### 3.8 Determinação do Chumbo

Para as folhas, alíquotas das amostras digeridas (8 mL) foram misturadas com 2 mL de EDTA a 5 mol/L e 0,5 mL de hidróxido de sódio a 15 mol/L. Para solos e raízes não houve a necessidade da adição de EDTA e da alcalinização, conforme Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (EATON et al., 2005).

O chumbo foi determinado por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS) (Varian, SpectrAA 50), utilizando uma lâmpada de cátodo oco (HCL) com linha de ressonância 217 nm, fenda 1,0 nm e uma chama estequiométrica de ar-acetileno para as folhas e acetileno/ óxido nitroso para as raízes e solo. Como padrão de calibração foi utilizada solução estoque de Pb 1000 mg L<sup>-1</sup> (Apêndice A, Figura 11). Os resultados obtidos foram expressos em mg kg<sup>-1</sup> (Equação 8).

$$[\text{mg Kg}^{-1}] = \text{mg L}^{-1} \times \text{L Kg}^{-1} \quad \text{Equação 8}$$

Onde:

$\text{mg kg}^{-1}$ : concentração em  $\text{mg kg}^{-1}$  do extrato lixiviado ou solubilizado, considerando a diluição dos contaminantes;

$\text{mg L}^{-1}$ : concentração em  $\text{mg L}^{-1}$  do extrato lixiviado ou solubilizado;

$\text{L kg}^{-1}$ : relação entre volume do extrato lixiviado ou solubilizado e a massa da amostra usada no ensaio de lixiviação ou solubilização.

### 3.9 Fator de Translocação (FT) e Fator de Bioacumulação (FB)

O fator de translocação (FT) indica a eficiência da planta de translocar metais pesados da raiz à parte aérea, e o fator de bioacumulação (FB) indica a eficiência de uma planta em extrair metais pesados a partir do solo, acumulando em seus tecidos (ALI; NASEER; SAJAD, 2012). Assim, essas duas variáveis foram estimadas utilizando a Equação 9 e Equação 10, respectivamente (REZVANI; ZAEFARIAN, 2011).

$$\text{FT} = \frac{\text{CPb parte aérea}}{\text{CPb raiz}} \quad \text{Equação 9}$$

$$\text{FB} = \frac{\text{CPb planta (folha+raiz)}}{\text{CPb no solo}} \quad \text{Equação 10}$$

Onde,

FT = Fator de Translocação

FB = Fator de Bioacumulação

CPb= Concentração de chumbo em  $\text{mg Kg}^{-1}$

### 3.10 Análises Estatísticas

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 5 x 2 (Cinco doses de Pb x presença e ausência de EDTA) em 6 repetições, sendo cada repetição representada por uma planta, totalizando 60 unidades experimentais. As amostras foram submetidas à análise de variância e as médias comparadas pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de significância pelo software Assistat® versão 7.7.

## 4.0 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 Avaliação do crescimento

#### 4.1.1 Altura (ALT) e Teor Relativo de Água (TRA)

As plantas em estudo apresentaram crescimento vigoroso, sem sintomas visuais de toxicidade, sob doses crescentes de Pb (Figura 7). O mesmo não foi observado nos estudos de Romeiro e colaboradores (2007), que verificaram nas doses de 200 e 400  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Pb (acetato de Pb) em hidroponia, clorose e posterior necrose nas folhas mais velhas de feijão-deporco e, em alguns casos, a queda do órgão. De acordo com o autor, o excesso de chumbo causa uma variedade de sintomas de toxicidade em vegetais, tais como: redução de crescimento, clorose e escurecimento do sistema radicular. É importante ressaltar que as doses que causaram sintomas no trabalho realizado com feijão-deporco, foram equivalentes às maiores doses testadas no presente trabalho e estas não induziram toxicidade na *B. maritima*.

**Figura 7** - Espécie *Batis maritima* em diferentes estádios de desenvolvimento, sob concentrações crescentes de Pb aplicados separadamente ao solo. (A) uma semana após aplicação da solução nutritiva modificada, (B) 60 dias após aplicação do metal.



Fonte: Arquivo Pessoal, 2014.

A altura (ALT) das plantas analisadas não apresentou diferença significativa entre os tratamentos avaliados nem aos 30 e nem aos 60 dias (Tabela 3), comprovando que o Pb nas doses testadas, não afetou o crescimento em altura das plantas. Almeida et al. (2008), também demonstraram que o crescimento em altura das plantas de feijão-de-porco expostas ao Pb por 27 dias não diferiram estatisticamente, porém foram observados sintomas de fitotoxicidade nas raízes. Já Silva et al. (2013), verificaram variação de altura nas plantas de girassol e isso foi demonstrado através de um comportamento linear decrescente da altura em função do aumento das doses de Pb e a dose que promoveu maior redução foi 414,4 mg L<sup>-1</sup> de Pb. Alves et al. (2008), também observaram reduções lineares em três espécies (jureminha, vetiver e algaroba), após 27 dias em solução nutritiva com 50, 100 e 200 mg L<sup>-1</sup> de Pb.

**Tabela 3-** Médias e desvios padrões das alturas de plantas de *B. maritima* em (cm) com e sem EDTA e diferentes doses de chumbo (Pb) e 30 e 60 dias.

	Quelante	Doses de Chumbo (mg L <sup>-1</sup> )					Total
		0	51,8	103,6	207,2	414,4	
30 dias	Sem EDTA	61,8±7,3 (ns)	74,6±21,0 (ns)	59±14,8 (ns)	59,5±13,4 (ns)	74±15,0 (ns)	65,8 (a)
	Com EDTA	60,2±7,8 (ns)	60,5±8,3 (ns)	65,7±12,5 (ns)	67,9±14,5 (ns)	74±7,3 (ns)	65,7 (a)
	Total	61,0 (A)	67,5 (A)	62,4 (A)	63,7 (A)	74,0 (A)	
60 dias	Sem EDTA	168,8±23,7 (ns)	155,8±10,2 (ns)	163,8±22,1 (ns)	157,8±17,7 (ns)	162,2±14,7 (ns)	161,7 (a)
	Com EDTA	156,5±13,2 (ns)	142,2±15,2 (ns)	152,6±15,0 (ns)	151,3±2,08 (ns)	127,9±64,8 (ns)	146,1 (a)
	Total	162,7 (A)	149,0 (A)	158,2 (A)	154,6 (A)	145,1 (A)	

C.V% 30 dias = 19,6. C.V% 60 dias = 16,59. (ns)=não significativo. As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Fonte: Assistat ® versão 7.7 (2014).

A variação do teor relativo de água (TRA), que estima a quantidade de água armazenada nas folhas, não houve diferença estatística a 5% de probabilidade entre os tratamentos, ou seja, as plantas submetidas ao estresse causado pela exposição ao metal, durante 30 dias, apresentaram média de 73,72% (Tabela 4). Assim, mesmo nas condições de estresse causado pelo metal pesado, a planta manteve o nível de água ideal para realização das suas atividades metabólicas, mesmo aos 60 dias, os valores de TRA, sem e com EDTA (Tabela 4), não apresentaram diferenças significativas. Esses resultados são diferentes dos apresentados por Sridhar et al (2005), os quais observaram uma diminuição significativa do teor relativo de água em plantas de mostarda indiana (*Brassica juncea*) em plantas tratadas com zinco e cádmio. Sendo assim, o metal pode interferir no processo de expansão e no teor relativo de água das células (GOMES et al., 2011). A influência do Pb no balanço hídrico

deve-se ao fato do metal se ligar às proteínas dos canais de água e íons causando obstrução física do fluxo de água, promovendo alteração no balanço hídrico da planta (SHARMA e DUBEY, 2005).

**Tabela 4** - Médias e desvios padrões de teor relativo de água (%) em plantas de *B. maritima* com e sem EDTA e diferentes doses de chumbo em 30 e 60 dias.

	Quelante	Doses de Chumbo (mg L <sup>-1</sup> )					Total
		0	51,8	103,6	207,2	414,4	
30 dias	Sem EDTA	73,2±4,9 (ns)	75,9±2,7 (ns)	72,9±5,2 (ns)	71,2±7,1 (ns)	71,1±5,2 (ns)	72,9 (a)
	Com EDTA	72,5±2,0 (ns)	67,1±9,6 (ns)	75,6±3,3 (ns)	79,4±2,3 (ns)	77,7±2,2 (ns)	74,5 (a)
	Total	72,9 (A)	71,5 (A)	74,3 (A)	75,3 (A)	74,4 (A)	
60 dias	Sem EDTA	49,8±7,3 (ns)	63,8±3,6 (ns)	77,4±13,3 (ns)	46,2±15,6 (ns)	52,3±17,2 (ns)	57,9 (a)
	Com EDTA	57,8±18,0 (ns)	49,5±22,3 (ns)	44,9±20,2 (ns)	53,8±3,4 (ns)	41±10,6 (ns)	49,4 (a)
	Total	53,8 (A)	56,6 (A)	61,2 (A)	50,0 (A)	46,6 (A)	

C.V % 30 dias= 6,89. C.V% 60 dias = 27,31. (ns)=não significativo. As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Fonte: Assistat ® versão 7.7 (2014).

#### 4.1.2 Produção de Matéria Seca

A matéria seca da parte aérea nas plantas aos 30 e 60 dias de aplicação de doses de Pb não foi afetada, ou seja, não houve diferença significativa a nível de 5%, entre os tratamentos com e sem EDTA e entre as doses testadas (Tabela 5). O maior tempo de estresse, maior dose de Pb e uso de quelante, não foram suficiente para comprometer a produção da biomassa vegetal, demonstrando que o Pb afetou pouco a produção de matéria seca da parte aérea, não havendo assim, grande impacto desse metal no desenvolvimento das plantas, evidenciando a possibilidade do uso de *B. maritima* como fitoextratora. Em experimento com plantas de feijão-de-porco, o aumento das doses de Pb no solo não teve influência sobre a produção da massa de matéria seca da parte aérea de plantas de feijão-de-porco, uma vez que a dose do agente quelante (1,66 mmol kg<sup>-1</sup> de EDTA dissódico) que foi adicionada não foi suficiente para solubilizar o metal (SANTOS et al., 2012).

**Tabela 5** - Médias e desvios padrões de matéria seca da parte aérea (g) de plantas de *B. maritima* com e sem EDTA e diferentes doses de chumbo durante 30 e 60 dias.

	Quelante	Doses de Chumbo (mg L <sup>-1</sup> )					Total
		0	51,8	103,6	207,2	414,4	
30 dias	Sem EDTA	40,1±7,0 (ns)	53,7±16,5 (ns)	39,5±4,4 (ns)	43,0±26,2 (ns)	40,1±16,2 (ns)	43,0 (a)
	Com EDTA	34,3±8,9 (ns)	39±10,4 (ns)	49,4±16,1 (ns)	43,5±12,7 (ns)	45,8±45,4 (ns)	42,4 (a)

	Total	37,1 (A)	45,8 (A)	44,5 (A)	43,2 (A)	43,0 (A)	
60 dias	Sem EDTA	110,1±9,4 (ns)	99,4±10,0 (ns)	95,4±10,9 (ns)	88,1±23,4 (ns)	100,5±19,6 (ns)	98,7 (a)
	Com EDTA	108,9±14,1 (ns)	86,8±35,4 (ns)	81,8±25,7 (ns)	100,8±18,9 (ns)	60,3±17,5 (ns)	87,7 (a)
	Total	109,5 (A)	93,1 (A)	88,6 (A)	94,5 (A)	80,4 (A)	

C.V% 30 dias= 33,29. C.V% 60 dias= 21,52. (ns)=não significativo. As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Fonte: Assistat ® versão 7.7 (2014).

Quanto a produção de matéria seca da raiz, as plantas submetidas ao Pb durante 30 dias, não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos aplicados, porém, a produção de matéria seca foi, significativamente diferente a 5%, nos tratamentos com crescentes doses de Pb na presença de EDTA, quando submetidas a 60 dias de exposição ao metal (Tabela 6). Nos tratamentos com EDTA, as diferentes doses de Pb (51,8; 103,6; 207,2; 414,4 mg L<sup>-1</sup>), induziu uma menor produção de matéria seca de raiz comparadas as plantas testemunhas, apresentando uma menor média total sob a dose 103,6 mg L<sup>-1</sup> de Pb. Em estudos com plantas de cenoura e couve, o Pb promoveu redução significativa na produção de matéria seca das raízes da cenoura, em respostas as doses crescentes de Pb aplicados no solo, onde a maior dose avaliada (200 mg Kg<sup>-1</sup>) proporcionou menor produção de matéria seca. Porém, para o couve, o Pb não promoveu efeito negativo na produção de biomassa de nenhum órgão da planta (LIMA et al, 2013). A redução da matéria seca pode ser atribuída a diminuição de cálcio nas extremidades das raízes, o que leva a uma redução na divisão ou alongamento celular (ROMEIRO et al., 2006).

**Tabela 6** - Médias e desvios padrões de matéria seca de raízes (g) de plantas de *B. maritima* com e sem EDTA e diferentes doses de chumbo em 30 e 60 dias.

Quelante	Doses de Chumbo (mg L <sup>-1</sup> )					Total	
	0	51,8	103,6	207,2	414,4		
30 dias	Sem EDTA	29,9±9,8 (ns)	14,1±5,4 (ns)	14,1±8,8 (ns)	19,6±10,0 (ns)	15,8±7,7 (ns)	18,7 (a)
	Com EDTA	16,7±8,4 (ns)	14,3±3,2 (ns)	22,5±8,4 (ns)	10,1±3,6 (ns)	19,5±8,2 (ns)	16,6 (a)
	Total	23,3 (A)	14,2 (A)	18,3 (A)	14,8 (A)	17,7 (A)	
60 dias	Sem EDTA	38,6±1,5 (bA)	50,4±6,8 (aA)	34,3±7,4 (aA)	36±11,1 (aA)	38,8±7,4 (aA)	39,6 (a)
	Com EDTA	51,9±3,8 (aA)	23,9±3,8 (bB)	25,2±2,7 (aB)	37,7±8,0 (aAB)	34,9±9,1 (aAB)	34,7 (a)
	Total	45,3 (A)	37,1 (AB)	29,8 (B)	36,9 (AB)	36,8 (AB)	

C.V% 30 dias= 43,75. C.V% 60 dias= 18,79. (ns)=não significativo. As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Fonte: Assistat ® versão 7.7 (2014).

## 4.2 Análises Bioquímicas

### 4.2.1 Clorofila *a*, *b* e *totais* e carotenóides

Como principal pigmento responsável pela captação da energia luminosa, a clorofila, é frequentemente utilizada como um indicador do efeito dos estresses ambientais em plantas (TAIZ; ZEIGER, 2013). As plantas quando submetidas a ambientes contaminados por metais pesados, apresentam uma série de distúrbios fisiológicos e nutricionais, dentre eles, baixas concentrações de clorofilas, carotenóides e proteínas, comparadas com plantas não estressadas por metais (ROSSI, 2007).

A determinação de clorofila *a*, *b*, totais, em *B. marítima* L. submetidas a diferentes doses de Pb, com e sem EDTA, permitiu investigar o estresse da planta ao metal. A interação entre as diferentes doses de Pb com e sem EDTA durante 30 e 60 dias de tratamentos, não apresentaram diferenças significativas a nível de 5% de probabilidade em clorofila *a* (Tabela 7), clorofila *b* (Tabela 8), clorofila *totais* (Tabela 9). No entanto, a média total de clorofila *a* em plantas de *B. marítima*, apresentou diferença significativa, na ausência e presença de EDTA. A ausência do quelante induziu uma menor concentração de clorofila *a*, nas plantas aos 60 dias de aplicação (Tabela 7). Rossi (2007), também verificou que os teores de clorofila *a* em plantas de leguminosas não variaram significativamente com as doses de Cádmio (Cd) aplicadas em plantas de feijão-de-porco.

**Tabela 7** - Médias e desvios padrões de clorofila *a* em ( $\mu\text{g g}^{-1}$  MF) de plantas de *B. marítima* com e sem EDTA e diferentes doses de chumbo (Pb) em 30 e 60 dias.

Quelante	Doses de Chumbo ( $\text{mg L}^{-1}$ )					Total	
	0	51,8	103,6	207,2	414,4		
30 dias	Sem EDTA	13769,9 $\pm$ 7710,9 (ns)	16002,8 $\pm$ 8465,7 (ns)	17808 $\pm$ 5476,8 (ns)	14684 $\pm$ 4107,2 (ns)	15592,6 $\pm$ 5715,2 (ns)	15571,5 (a)
	Com EDTA	11429,2 $\pm$ 4152,1 (ns)	16398,1 $\pm$ 6073,3 (ns)	12253,3 $\pm$ 2534,3 (ns)	15208,4 $\pm$ 1774,3 (ns)	17309 $\pm$ 3299,5 (ns)	14519,6 (a)
	Total	12599,5(A)	16200,4 (A)	15030 (A)	14946,2 (A)	16450,8 (A)	
60 dias	Sem EDTA	26438,3 $\pm$ 6890,6 (ns)	26671,8 $\pm$ 7275,4(ns)	32642,6 $\pm$ 10335,8(ns)	31262,2 $\pm$ 8848,5(ns)	26861,1 $\pm$ 8409,5(ns)	28775,2 (b)
	Com EDTA	24974 $\pm$ 6803,5(ns)	32677,4 $\pm$ 2646,8(ns)	38752,1 $\pm$ 11260,1(ns)	40379,9 $\pm$ 4399,0(ns)	36715,3 $\pm$ 5397,1(ns)	34699,8 (a)
	Total	25706,1 (A)	29674,6(A)	35697,4 (A)	35821,0 (A)	31788,2 (A)	

C.V% 30 dias = 35,50. C.V% 60 dias= 24,10. (ns)=não significativo. As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Fonte: Assistat ® versão 7.7 (2014).

O teor de clorofila *b*, com e sem EDTA, durante 30 e 60 dias (Tabela 8) também não apresentaram diferenças significativas. Diante dos resultados obtidos dos pigmentos fotossintéticos, a presença de Pb nas doses avaliadas não desencadeou uma inibição da enzima envolvida na via de síntese das clorofilas, ou seja, o aparato fotossintético das plantas de *B. maritima* não foi afetado. Os resultados obtidos no presente trabalho contradizem Hossain et al. (2012), os quais afirmam que níveis elevados de metais pesados podem influenciar a fotossíntese, devido seu efeito direto sobre o aparelho fotossintético, substituindo Mg na clorofila *a* interferindo dessa forma, em sua síntese.

**Tabela 8** - Médias e desvios padrões de clorofila *b* em ( $\mu\text{g g}^{-1}$  MF) em plantas de *B. maritima* com e sem EDTA e diferentes doses de chumbo (Pb) em 30 e 60 dias.

Quelante	Doses de Chumbo ( $\text{mg L}^{-1}$ )					Total	
	0	51,8	103,6	207,2	414,4		
30 dias	Sem EDTA	3976,2 $\pm$ 4407,8 (ns)	5932,4 $\pm$ 4797,1 (ns)	4275,7 $\pm$ 4139,2 (ns)	4367,3 $\pm$ 185,1 (ns)	3399,11 $\pm$ 1132,3 (ns)	4390,1 (a)
	Com EDTA	1620,4 $\pm$ 1251,4 (ns)	3458,5 $\pm$ 2457,2 (ns)	3676,8 $\pm$ 531,2 (ns)	4881,4 $\pm$ 1161,4 (ns)	2332 $\pm$ 1619,7 (ns)	3193,8 (a)
	Total	2798,3(A)	4695,5 (A)	3976,3 (A)	4624,4 (A)	2865,5 (A)	
60 dias	Sem EDTA	34910,1 $\pm$ 1967,9(ns)	36024,6 $\pm$ 3897,7(ns)	35282,9 $\pm$ 2767,3(ns)	37209,4 $\pm$ 5413,4(ns)	36716,1 $\pm$ 3337,4(ns)	36028,6 (a)
	Com EDTA	35936,7 $\pm$ 4491,0(ns)	39125 $\pm$ 2830,7(ns)	38678,9 $\pm$ 4081,5(ns)	36420,4 $\pm$ 5376,8(ns)	38868,7 $\pm$ 3832,6(ns)	37805,9 (a)
	Total	35423,4 (A)	37574,8 (A)	36980,9 (A)	36814,9 (A)	37792,4 (A)	

C.V% 30 dias =71,13. C.V% 60 dias= 10,69. (ns)=não significativo. As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Fonte: Assisat @ versão 7.7 (2014).

Variações nos teores de clorofila *total* não foram observadas no nosso trabalho nem aos 30 e nem aos 60 dias, pois sob estresse por Pb, com e sem EDTA, as concentrações de clorofilas *totais* foram semelhantes (Tabela 9). Rossi (2007), verificou diminuição do teor de clorofila *total* em plantas de feijão-de-porco com o aumento da concentração de Cádmio (Cd) em solução.

**Tabela 9** - Médias e desvios padrões de clorofila *totais* em ( $\mu\text{g g}^{-1}$  MF) em plantas de *B. maritima* com e sem EDTA e diferentes doses de chumbo (Pb) em 30 e 60 dias.

Quelante	Doses de Chumbo ( $\text{mg L}^{-1}$ )					Total	
	0	51,8	103,6	207,2	414,4		
30 dias	Sem EDTA	17742,1 $\pm$ 12100,3(ns)	21929,8 $\pm$ 13194,0(ns)	22078,9 $\pm$ 9100,6(ns)	19046,9 $\pm$ 4285,9(ns)	18987,6 $\pm$ 4646,6(ns)	19957,1 (a)
	Com EDTA	13047 $\pm$ 4962,4(ns)	19852,4 $\pm$ 8527,2(ns)	15926,4 $\pm$ 2313,9(ns)	20085,1 $\pm$ 2101,0(ns)	19637,1 $\pm$ 3910,7(ns)	17709,6 (a)
	Total	15394,5 (A)	20891,1 (A)	19002,7 (A)	19566,0 (A)	19312,3 (A)	
60 dias	Sem EDTA	61328 $\pm$ 8855,7 (ns)	62675,4 $\pm$ 11135,1(ns)	67904 $\pm$ 12897,3 (ns)	68449,4 $\pm$ 13812,2 (ns)	63556 $\pm$ 11346,1 (ns)	64782,6 (a)
	Com EDTA	60890,2 $\pm$ 10572,4 (ns)	71779,1 $\pm$ 4850,2 (ns)	77406,9 $\pm$ 15331,8 (ns)	76776,9 $\pm$ 7010,0 (ns)	75560,1 $\pm$ 5413,0 (ns)	72482,6 (a)
	Total	61109,1 (A)	67227,3 (A)	72655,4(A)	72613,1 (A)	69558,1 (A)	

C.V% 30 dias = 39,92. C.V% 60 dias= 15,54. (ns)=não significativo. As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Fonte: Assisat ® versão 7.7 (2014).

Os carotenóides tanto podem atuar na manutenção do mecanismo de dissipação do excesso de energia luminosa como atuar como agentes antioxidantes protegendo os lipídios de membrana do estresse oxidativo (SACRAMENTO et al., 2014). Com relação aos valores médios totais de carotenóides em plantas de *B. maritima* L. (Tabela 10), submetidas a 60 dias de estresse ao metal, houve diferença significativa apenas entre o controle e a dose de 103,6 mg L<sup>-1</sup>, as demais concentrações avaliadas desse pigmento não diferiram estatisticamente nem do controle e nem do T3 (equivalente a 103,6 mg L<sup>-1</sup>). De acordo com Santos et al. (2011b), foram observados danos no sistema fotossintético das plantas de *Brachiaria decumbens* após contaminação com Cd e Zn, principalmente pela redução nos níveis de clorofila e *b*-caroteno.

**Tabela 10** - Médias e desvios padrões de carotenóides em ( $\mu\text{g g}^{-1}$  MF) em plantas de *B. Maritima* com e sem EDTA e diferentes doses de chumbo (Pb) em 30 e 60 dias.

Quelante	Doses de Chumbo (mg L <sup>-1</sup> )					Total
	0	51,8	103,6	207,2	414,4	
60 dias						
Sem EDTA	4421±1638,7 (ns)	4431,6±2221,3(ns)	5548,1±1426,4(ns)	4379±760,6(ns)	4706,9±1573,9(ns)	4697,3 (a)
Com EDTA	3491,2±1149,2(ns)	5484,4±1602,0(ns)	3459,3±711,0(ns)	4257,4±574,1(ns)	5549,8±818,7(ns)	4448,4 (a)
Total	3956,1 (A)	4958,0 (A)	4503,7 (A)	4318,2 (A)	5128,4 (A)	
30 dias						
Sem EDTA	7241,6±1716,7 (ns)	6957,5±1611,8 (ns)	9067,5±2662,5 (ns)	7999,6±1910,1 (ns)	7204,9±2725,7 (ns)	7694,26 (a)
Com EDTA	4966,2±934,2 (ns)	8420,8±433,8 (ns)	10811,8±4018,2 (ns)	10847,3±1837,2 (ns)	9361,1±1154,3 (ns)	8881,48 (a)
Total	6103,9 (B)	7689,2 (AB)	9939,7 (A)	9423,4 (AB)	8283,0 (AB)	

C.V% 30 dias =29,42 . C.V% 60 dias= 25,77. (ns)=não significativo. As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Fonte: Assisat ® versão 7.7 (2014).

#### 4.2.2 Proteínas e Carboidratos

A exposição das plantas a níveis tóxicos de metais pesados desencadeia uma gama de alterações fisiológicas e metabólicas, exemplo disso, é o desencadeamento da liberação de proteínas de tilacóides (HOSSAIN et al., 2012) e formação de peptídios ricos em grupos tióicos, como Fitoquelatinas e Metalotioneínas (SANTOS et al., 2011b), sintetizadas a partir de mecanismos para restringir o excesso de metais pesados.

Proteínas *totais* de plantas de *B. maritima* submetidas ao estresse por Pb, não apresentaram diferença significativa ao nível de 5% entre os tratamentos durante o período experimental (Tabela 11). De acordo, Mendes et al. (2011) o acúmulo de proteínas de baixa

massa molar podem ser usadas como fonte de armazenamento de nitrogênio que seriam mobilizados para diminuição do estresse nas plantas.

**Tabela 11** - Médias e desvios padrões de proteínas totais em ( $\mu\text{g g}^{-1}$  MF) em plantas de *B. maritima* com e sem EDTA e diferentes doses de chumbo (Pb) em 30 e 60 dias.

Quelante	Doses de Chumbo ( $\text{mg L}^{-1}$ )					Total	
	0	51,8	103,6	207,2	414,4		
30 dias	Sem EDTA	18,6 $\pm$ 4,0 (ns)	21,6 $\pm$ 3,0 (ns)	20,2 $\pm$ 2,1 (ns)	23,1 $\pm$ 2,0 (ns)	21,5 $\pm$ 2,0 (ns)	21,0 (a)
	Com EDTA	20,2 $\pm$ 2,3 (ns)	24,2 $\pm$ 4,0 (ns)	19,9 $\pm$ 2,0 (ns)	19,6 $\pm$ 2,1 (ns)	21,6 $\pm$ 0,9 (ns)	21,2 (a)
	Total	19,4 (A)	23,0 (A)	20,1 (A)	21,4 (A)	21,5 (A)	
60 dias	Sem EDTA	120 $\pm$ 0,7 (ns)	120,6 $\pm$ 2,0 (ns)	123,4 $\pm$ 3,0 (ns)	119 $\pm$ 0,6 (ns)	121,5 $\pm$ 5,0 (ns)	120,9 (a)
	Com EDTA	119,9 $\pm$ 3,3 (ns)	117,4 $\pm$ 9,4 (ns)	125,7 $\pm$ 3,7 (ns)	123 $\pm$ 2,6 (ns)	121,3 $\pm$ 0,6 (ns)	121,5 (a)
	Total	119,9 (A)	119,0 (A)	124,6 (A)	121,0 (A)	121,4 (A)	

C.V% 30 dias= 12,43. C.V% 60 dias= 3,32. (ns)= não significativo. As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Fonte: Assistat © versão 7.7 (2014).

A síntese de solutos orgânicos, como carboidratos, por exemplo, restabelece o equilíbrio osmótico celular, devido ao excesso de sais no meio externo (MUNNS et al., 2002). Os resultados de carboidratos solúveis totais não diferem estatisticamente entre si (Tabela 12), durante 30 e 60 dias de aplicação dos tratamentos. Portanto, acredita-se que as doses de Pb testadas não foram demasiadamente elevadas para causar um aumento na síntese de carboidratos na planta. Em estudos utilizando 0,8 mM de Pb foi diagnosticado um aumento de 72% nos teores destes compostos nas folhas de plantas de girassol, pois a presença do chumbo na solução nutritiva altera a concentração dos principais grupos de solutos orgânicos celulares, causando alterações metabólicas em virtude da presença deste metal pesado na célula (ABREU et al., 2014a). Então, plantas de *B. maritima* sob as doses de Pb avaliadas, aos 30 e 60 dias permaneceram sem grandes alterações no que diz respeito aos níveis de carboidratos .

**Tabela 12** - Médias e desvios padrões de carboidratos solúveis totais em ( $\mu\text{g g}^{-1}$  MF) em plantas de *B. maritima* com e sem EDTA e diferentes doses de chumbo (Pb) em 30 e 60 dias.

Quelante	Doses de Chumbo ( $\text{mg L}^{-1}$ )					Total	
	0	51,8	103,6	207,2	414,4		
30 dias	Sem EDTA	7874,9 $\pm$ 1846,8 (ns)	7168,7 $\pm$ 2017,6 (ns)	6822,6 $\pm$ 4307,3 (ns)	9941,9 $\pm$ 4458,0 (ns)	10360,3 $\pm$ 1616,8 (ns)	8433,7 (a)
	Com EDTA	8384,4 $\pm$ 1562,6 (ns)	6544,1 $\pm$ 3397,5 (ns)	8206,9 $\pm$ 5083,3 (ns)	8923 $\pm$ 4547,0 (ns)	9321,7 $\pm$ 2735,9 (ns)	8276,0 (a)
	Total	8129,7 (A)	6856,4 (A)	7514,7 (A)	9432,5 (A)	9841,0 (A)	
60 dias	Sem EDTA	6909 $\pm$ 1688,6 (ns)	5312,4 $\pm$ 2057,1 (ns)	8431 $\pm$ 1636,8 (ns)	6996,5 $\pm$ 492,4 (ns)	9445,2 $\pm$ 1110,1 (ns)	7418,8 (a)
	Com EDTA	6821,5 $\pm$ 1772,4 (ns)	7216,1 $\pm$ 4332,1 (ns)	8612,1 $\pm$ 1041,4 (ns)	6940,8 $\pm$ 1669,0 (ns)	6640,4 $\pm$ 992,7 (ns)	7246,2 (a)

Total	6865,3 (A)	6264,3 (A)	8521,5 (A)	6968,7 (A)	8042,8 (A)
C.V% 30 dias= 40,85. C.V% 60 dias= 27,64 . (ns)= não significativo. As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Fonte: Assistat ® versão 7.7 (2014).					

### 4.3 Concentração de fósforo (P) e Chumbo (Pb)

O fósforo compõe as células vegetais, incluindo fosfato-açúcares (intermediários da respiração e fotossíntese), como também os fosfolipídeos (compõem as membranas vegetais) (ABREU et al., 2014b). Tem sido demonstrado que altas concentrações de Pb no solo podem desequilibrar os teores de nutrientes minerais nas plantas (Sharma e Dubey 2005). Neste trabalho, as plantas apresentaram concentrações de fósforo com média de 3,1 e 3,4 mg Kg<sup>-1</sup> por matéria seca, sem e com EDTA, respectivamente, sendo assim, não houve diferença estatística ao nível de 5% de probabilidade entre os tratamentos (Tabela 13). Plantas de girassol tratadas com 0,6 mM de Pb não apresentaram decréscimo na sua concentração de fósforo (ABREU et al., 2014b). Outros estudos com presença de Pb em solução nutritiva induziram ao aumento linear do teor de P em plantas de tomate, esse aumento no teor de P pode ser explicado pela precipitação do fósforo na forma de fosfato de chumbo, pela facilidade de combinação do Pb<sup>2+</sup> com ânions H<sub>2</sub>PO<sup>-4</sup>, forma predominante de absorção do P (BERTOLI et al. 2011).

**Tabela 13** - Médias e desvios padrões de fósforo em plantas de *B. maritima*.

Quelante	Doses de Chumbo (mg L <sup>-1</sup> )					Total
	0	51,8	103,6	207,2	414,4	
Sem EDTA	2,4±0,2 (ns)	3,5±0,9 (ns)	3,4±0,9 (ns)	2,9±0,3 (ns)	3,4±0,6 (ns)	3,1 (a)
Com EDTA	3,2±1,0 (ns)	2,7±0,5 (ns)	3,4±0,6 (ns)	4,0±0,6 (ns)	3,8±1,2 (ns)	3,4 (a)
Total	2,8 (A)	3,1 (A)	3,4 (A)	3,5 (A)	3,6 (A)	

C.V% =23,12. (ns)= não significativo. As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Fonte: Assistat ® versão 7.7 (2014).

Após 60 dias de exposição a diferentes tratamentos, o nível de Pb das plantas de *B. maritima* não diferiu estatisticamente entre si (Tabela 14). As plantas submetidas às doses 414,2 mg L<sup>-1</sup> com EDTA resultou em 245,7 mg Kg<sup>-1</sup> do metal na matéria seca vegetal. Os resultados obtidos foram semelhantemente ao de Batista (2013), o qual detectou concentração

de 250,80 mg kg<sup>-1</sup> de Pb na biomassa aérea de vetiver. De acordo com LAKE (1987) o nível fitotóxico para o Pb está estabelecido entre 35-400 mg kg<sup>-1</sup>, no entanto, apesar uso de valores nessa faixa, a espécie não apresentou sintomas de fitotoxicidade.

As concentrações de Pb nas raízes das plantas, no entanto, apresentaram-se estatisticamente diferentes (Tabela 14). As doses de 103,6 e 414,4 mg L<sup>-1</sup> com EDTA, promoveram um maior acúmulo de Pb na raiz. Esses resultados evidenciam que o EDTA favoreceu o aumento na concentração de chumbo nas raízes das plantas. A retenção de Pb em raízes envolve a ligação à parede celular e precipitação extracelular, principalmente sob a forma de carbonato de chumbo, que é depositado na parede da célula (ROMEIRO et al., 2006). Segundo, Gabos (2008), existe a maior mobilidade de metais nas plantas, quando estas são submetidas à aplicação de EDTA no solo. No entanto, os valores de Pb nas raízes foram inferiores ao encontrado na parte aérea, o que nos leva a crer que a absorção de Pb pelas raízes não restringiu a translocação do metal para região superior do vegetal. Por outro lado, Alves et al. (2008), verificaram que nas plantas de Vetiver, Jureminha e Algaroba o Pb se acumulou mais nas raízes das plantas, sendo a vetiver a planta que acumulou maior quantidade de Pb (14.706 mg kg<sup>-1</sup>) na dose de 200 mg L<sup>-1</sup> submetida.

**Tabela 14** - Médias e desvios padrões de chumbo em parte aérea e raízes de plantas (mg Kg<sup>-1</sup>) de *B. maritima* com e sem EDTA e diferentes doses de Pb após 60 dias.

Quelante	Doses de Chumbo (mg L <sup>-1</sup> )					Total	
	0	51,8	103,6	207,2	414,4		
Folhas	Sem EDTA	218,5±57,0 (ns)	236,1±17,5 (ns)	172,0±26,5(ns)	256,2±15,8 (ns)	217,6±54,3(ns)	220,1 (a)
	Com EDTA	178,1±30,7(ns)	236,9±14,6 (ns)	219±88,6(ns)	226,4±58,2(ns)	245,7±38,3 (ns)	221,3 (a)
	Total	198,3 (A)	236,5 (A)	195,7 (A)	241,3 (A)	231,7 (A)	
Raízes	Sem EDTA	87,7±20,1 (aAB)	97,1±19,3 (aA)	47,5±11,0 (bB)	79,0±10,1 (aAB)	83,7±23,2 (aAB)	79,0 (a)
	Com EDTA	76,3±28,4 (aAB)	78,3±15,9 (aAB)	101,8±8,1 (aA)	52,2±34,1(aB)	101,1±3,0 (aA)	82,0 (a)
	Total	82,0 (A)	87,7 (A)	74,7 (A)	65,6 (A)	92,4 (A)	

C.V% P.A.= 20,93. C.V% Raízes= 24,38. (ns) = não significativo. As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Fonte: Assisat ® versão 7.7 (2014).

#### 4.3.3 Fator de Translocação (FT) e Fator de Bioacumulação (FB)

Espécies tolerantes nem sempre são hiperacumuladoras, além do metal na planta, são utilizados outros fatores que avaliam o comportamento do metal na mesma, como o Fator de Translocação (FT) e Fator de Bioacumulação (FB).

O fator de translocação demonstra a eficiência da planta em transportar um elemento da raiz para a parte aérea, enquanto que o fator de bioacumulação avalia a eficiência da planta em acumular o metal em relação à concentração do solo (SHEORAN et al., 2011).

Sabe-se que em muitas espécies de plantas, dentre as quais o tomateiro, o chumbo acumula-se preferencialmente nas raízes, tendo baixa translocação para a parte aérea (BERTOLI et al., 2011). Nesse trabalho, o fator de translocação não apresentou diferença significativa a nível de 5% de probabilidade (Tabela 15). Os resultados também mostraram que fator de translocação de Pb foi maior que um, evidenciando assim a característica fitoextratora dessa espécie ao metal pesado. O mesmo foi apresentado em estudos com a espécie *Aeluropus littoralis* que mostrou uma translocação incremental de Cd para seus brotos, quando expostas ao Cd em solo, indicando um grande desempenho desta planta para fitoextração Cd (REZVANI; ZAEFARIAN, 2011).

**Tabela 15** - Médias e desvios padrões do fator de translocação de chumbo em plantas de *B. maritima*.

Quelante	Doses de Chumbo (mg L <sup>-1</sup> )					Total
	0	51,8	103,6	207,2	414,4	
Sem EDTA	2,6±1,3 (ns)	2,4±0,4 (ns)	3,6±0,4 (ns)	3,2±0,5 (ns)	2,7±1,1 (ns)	2,9 (a)
Com EDTA	2,7±1,6 (ns)	3,0±0,5 (ns)	2,1±0,8 (ns)	6,6±6,1 (ns)	2,4±0,3 (ns)	3,4 (a)
Total	2,7 (A)	2,7 (A)	2,8 (A)	4,9 (A)	2,5 (A)	

C.V% = 66,46. (ns) = não significativo. As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Assistat ® versão 7.7 (2014).

No fator de bioacumulação, observou-se diferença significativa a nível de 5% de probabilidade na interação entre as doses de Pb utilizadas e o uso do quelante (Tabela 16). O melhor resultado foi encontrado na presença de EDTA na dose de Pb (103 mg L<sup>-1</sup>), com FB igual a 5,1, diferindo das plantas testemunhas, no entanto, a menor acumulação de Pb acontece na mesma dose, sem EDTA, apesar disso, os resultados mantiveram maiores que 1. Rezvani e Zaefarian (2011), confirmam a característica de hiperacumulação da planta quando ambos os fatores de translocação e bioacumulação são maiores que 1. Nesse estudo, a espécie apresenta valores maiores que 1, tanto para o Fator de Translocação como para o de Fator de Bioacumulação, caracterizando a *Batis maritima* como planta hiperacumuladora de Pb. Em estudo com plantas da espécie *Trifolium alexandrinum*, o fator de bioacumulação de 1,544, classifica a espécie utilizada em programas de fitorremediação (ALI; NASEER; SAJAD, 2012).

**Tabela 16** - Médias e desvios padrões do fator de bioacumulação de chumbo em plantas de *B. maritima*.

Quelante	Doses de Chumbo (mg L <sup>-1</sup> )					Total
	0	51,8	103,6	207,2	414,4	
Sem EDTA	3,2±0,4 (aABC)	4,4±0,4 (aA)	1,9±0,3 (bC)	4,2±0,1 (aAB)	2,8±0,5 (aBC)	3,3 (a)
Com EDTA	2,6±0,2 (aB)	3,7±0,3 (aAB)	5,1±1,5 (aA)	2,8±0,7 (bB)	3,3±0,3 (aB)	3,5 (a)
Total	2,9 (A)	4,1 (A)	3,5 (A)	3,5 (A)	3,1 (A)	

C.V% = 18,38. (ns) = não significativo. As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Assistat ® versão 7.7 (2014).

## 5.0 CONCLUSÃO

- *Batis maritima* L. não apresentou sintomas de toxidez ao chumbo. Associado a isso, houve manutenção do crescimento, do Teor Relativo de Água, da matéria seca de parte aérea e raiz, que é fator fundamental para sua utilização como agente fitorremediador;
- O uso do metal não interferiu na síntese de clorofila *a*, *b*, *totais*, proteínas *totais* e carboidratos;
- Nas condições do trabalho, a *Batis maritima* é uma planta com potencial fitoextrator de Pb, apresentando valores de FT>1. A maior eficiência de bioacumulação foi sob a dose de 103,6 mg L<sup>-1</sup> de Pb com EDTA, devido a solubilização facilitada do metal pelo uso do quelante;
- A espécie tem característica hiperacumuladora, uma vez que o fator de translocação e bioacumulação foram maiores que 1, segundo literatura (REZVANI, ZAEFARIAN (2011)).

## 6.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, C. B. de et al. Teores de solutos orgânicos em plantas de girassol sob estresse por chumbo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GESTÃO AMBIENTAL, Belo Horizonte. Instituto Brasileiro de Estudos Ambientais. Minas Gerais: Belo Horizonte, 2014a. p. 1 - 4. Disponível em: <<http://www.ibeas.org.br/congresso/Trabalhos2014/I-022.pdf>>. Acesso em: 22 jan. 2015.

\_\_\_\_\_. Teores de N, P e K em plantas de girassol cultivadas em presença de chumbo, Belo Horizonte. **Instituto Brasileiro de Estudos Ambientais**. Belo Horizonte, 2014b. p. 1 - 4. Disponível em:

<<http://www.ibeas.org.br/congresso/Trabalhos2014/I-021.pdf>>. Acesso em: 22.jan. 2015.

ALI, Hazrat; NASEER, Muhammad; SAJAD, Muhammad Anwar. Phytoremediation of heavy metals by *Trifolium alexandrinum*. **International Journal Of Environmental Sciences**, Pakistan, v. 2, n. 3, p.1459-1469, fev. 2012. Disponível em:

<<http://www.ipublishing.co.in/ijesarticles/twelve/articles/voltwo/EIJES3136.pdf>>. Acesso em: 19 out. 2014.

ALI, Hazrat; KHAN, Ezzat; SAJAD, Muhammad Anwar. Phytoremediation of heavy metals – concepts and applications. **Chemosphere.**, v. 91., n 7., p. 869-881, 2013. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653513001914>>. Acesso em: 13 ago 2014.

ALMEIDA, E. L. et al. Crescimento de feijão-de-porco na presença de chumbo. **Bragantia**, v. 67, n. 3, p. 569–576, 2008. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0006-87052008000300003&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0006-87052008000300003&script=sci_arttext)> Acesso em: 19 abr.2014

ALVES, J. C. et al. Absorção e distribuição de chumbo em plantas de vetiver, jureminha e algaroba. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa, v. 3, n. 32, p.1329-1336, jun. 2008. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-06832008000300040](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832008000300040)>. Acesso em: 10 dez. 2013.

ANDRADE, J. C. M.; TAVARES, S. R. L.; MAHLER, C. F. **Fitorremediação: O uso de plantas na melhoria da qualidade ambiental**. Oficina de Textos, p. 176, 2007.

ANDRADE, M. G. de et al. Metais pesados em solos de área de mineração e metalurgia de chumbo I. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Curitiba, v. 33, n. 1, p.1879-1888, mar. 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbcs/v33n6/a37v33n6.pdf>>. Acesso em: 11 jul. 2014.

ARAÚJO, J. B. S.; PINTO FILHO, J. L. O. Identificação de fontes poluidoras de metais pesados nos solos da bacia hidrográfica do rio Apodi-Mossoró/rn, na área urbana de Mossoró-RN. **Revista Verde**, Mossoró, v. 5, n. 2, p.80-94, jun. 2010. Disponível em: <<http://gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/view/277/277>>. Acesso em: 25 maio 2014.

BAIRD, Colin. **Química Ambiental**. Colin Baird; trad. Maria Angeles Lubo Rocio e Luiz Carlos Marques Carrera. 2 ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

BARROS, Y. J. et al. Indicadores de qualidade de solos de área de mineração e metalurgia de chumbo. II - Mesofauna e plantas. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa, v. 34, n. 4, p.1413-1426, ago. 2010.

Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbcs/v34n4/37.pdf>>. Acesso em: 11 jul. 2014.

BAKER, A.J.M.; BROOKS, R.R.. Terrestrial Higher Plants which Hyperaccumulate Metallic Elements - A Review of their Distribution, Ecology and Phytochemistry. **Biorecovery**, Britain, v. 1, n. 10, p.81-126, dez. 1989. Disponível em:

<[http://www.researchgate.net/publication/247713966 Terrestrial Higher Plants Which Hyp eraccumulate Metallic Elements A Review of Their Distribution E](http://www.researchgate.net/publication/247713966_Terrestrial_Higher_Plants_Which_Hyp_eraccumulate_Metallic_Elements_A_Review_of_Their_Distribution_E)>. Acesso em: 10 jan. 2015.

BATISTA, A. A. **Seleção de espécies com potencial fitorremediador de chumbo**. 57f. 2013. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Cruz das Almas, Bahia, 2013. Disponível em: <[http://www.ufrb.edu.br/ecosimpa/images/Documentos\\_para\\_o\\_site/Disserta%C3%A7%C3%A3o\\_SQE\\_-\\_Adriana\\_Alves\\_Batista.pdf](http://www.ufrb.edu.br/ecosimpa/images/Documentos_para_o_site/Disserta%C3%A7%C3%A3o_SQE_-_Adriana_Alves_Batista.pdf)>. Acesso em: 11 jan 2015.

BECH, J. et al. Shoot accumulation of several trace elements in native plant species from contaminated soils in the Peruvian Andes. **J. Geochem**, v. 113, p. 106-111. fev.2012. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0375674211000653>>. Acesso em: 13 ago.2014.

BERTOLI, A. C. et al. Toxidez do chumbo no teor e translocação de nutrientes em tomateiro. **Biotemas**, Lavras, v. 4, n. 24, p.7-15, 13 set. 2011. Disponível em: <<https://periodicos.ufsc.br/index.php/biotemas/article/view/2175-7925.2011v24n4p7>>. Acesso em: 12 mai.2014.

BERTON, R.S. Fertilizantes e poluição. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 20, Piracicaba, 1992. **Anais**, Piracicaba, SBCS/Fundação Cargill, p.299-313. 1992.

BERGMANN, W. **Nutritional disorders of plants: developments, visual and analytical diagnosis**. New York: Gustav Fischer Verlag Jena, p. 741, 1992.

BHARGAVA, A. et al. Approaches for enhanced phytoextraction of heavy metals. **Journal of Environmental Management**, v. 105, p. 103-120, 2012. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479712001831>> Acesso em: 11 mar.2014.

BOURLEGAT, J. M. G. L. et al. Tolerância de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. ao Metal Pesado Chumbo. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p.1017-1019, jul. 2007. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/viewFile/821/694>>. Acesso em: 12 jun. 2014.

CAMILOTTI, F. et al. Acúmulo de metais pesados em cana-de-açúcar mediante a aplicação de lodo de esgoto e vinhaça. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 1, n. 27, p.284-293, abr. 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/eagri/v27n1/23.pdf>>. Acesso em: 24 jul. 2014.

CETESB. **Ficha de informação toxicológica Chumbo e seus compostos**. Divisão de Toxicologia, Genotoxicidade e Microbiologia Ambiental. Rio de Janeiro, 2012. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/>. Acesso em: 10 nov.2014.

CHANDRA, S. et al. Potential of *Hemidesmus indicus* for phytoextraction of lead from industrially contaminated soils. **Chemosphere**, v. 58, 2005. Disponível em:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004565350400791X>. Acesso em: 13 ago.2014.

CHAVES, L. et al. Acúmulo e distribuição de cobre e zinco em mamoneira cultivar brs paraguaçu e crescimento da planta. **Engenharia Ambiental**, Espírito Santo do Pinhal, v. 7, n. 3, p.263-277, set. 2010. Disponível em: <[http://journaldatabase.org/download/pdf/acumulo\\_distribuicao\\_cobre\\_zinco](http://journaldatabase.org/download/pdf/acumulo_distribuicao_cobre_zinco)>. Acesso em: 17 jun. 2014.

CLEMENS, S.; PALMGREN, M. G.; KRÄMER, U. A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. **Plant Science**, Germany, v. 7, n. 7, p.309-315, jul. 2002. Disponível em: <[http://www.ufv.br/DBV/PGFVG/BVE684/htms/pdfs\\_revisao/Molecularplantnutrition/understanding\\_and\\_engineering\\_plant\\_metal\\_accumulation.pdf](http://www.ufv.br/DBV/PGFVG/BVE684/htms/pdfs_revisao/Molecularplantnutrition/understanding_and_engineering_plant_metal_accumulation.pdf)>. Acesso em: 02 out. 2014.

COELHO, M. R. et al. Solos: tipos, suas funções no ambiente, como se formam e sua relação com o crescimento das plantas. **Embrapa Solos**. 2013. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/94212/1/Ecosystema-cap3C.pdf>. Acesso em: 19 abr.2014.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=620>>. Acesso em: 17 jul. 2013.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Decisão de Diretoria 045/2014/E/C/I, de 20-02-2014**. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/institucional/do/2014/DD-045-2014-P53.pdf>>. Acesso em: 17 set. 2014.

COSTA, V. P. **Influência do deficit hídrico no crescimento, acúmulo de carboidratos de reserva e na anatomia e ultra-estrutura do rizoma de *Costus arabicus* L. (Costaceae, Monocotiledônea)**. 2010. 91 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências, Departamento de Escola Superior de Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11144/tde-22102010-091421/pt-br.php>>. Acesso em: 25 set. 2014.

CRAENE, L. P. Floral developmental evidence for the systematic position of *Batis* (Bataceae). **American Journal of Botany**, v. 92, n.4, p. 752–760. 2005.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. **Analytical chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.

EATON A.D., Clesceri, L.S., Rice E.W., Greenberg A.E. (Eds.). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21<sup>st</sup> Edition, 2005.

EPA, Introduction of phytoremediation. *EPA/600/ R-99/107*, 2000. Disponível em: <<http://clu-in.org/download/remed/introphyto.pdf>>. Acesso em: 30. Abr. 2014.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. 2ª edição revista e ampliada. Brasília, DF: Embrapa Informação tecnológica, 2009.

ENZWEILER, J.; BOSSO, S. T. Ensaio para determinar a (bio)disponibilidade de chumbo em solos contaminados: revisão. **Química Nova**, Campinas, v. 31, n. 2, p.394-400, fev. 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v31n2/a36v31n2.pdf>>. Acesso em: 12 jun. 2014.

EPSTEIN, E. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. São Paulo / Rio de Janeiro, Ed. da Universidade de São Paulo e Livros Tec. e Cient. Editora, 1975. 34p.

FRANCIS, J. K.. *Batis maritima* L.: BATACEAE. **Wildland Shrubs of the United States and Its Territories: Thamnium Descriptions: Volume 1**. San Juan: Forest Service, p. 107, 2004. (United States Department of Agriculture). Disponível em: <[http://www.fs.fed.us/rm/pubs\\_other/iitf\\_gtr026.pdf](http://www.fs.fed.us/rm/pubs_other/iitf_gtr026.pdf)>. Acesso em: 15 jul. 2014.

FREITAS, E. V. S.; NASCIMENTO, C. W. A.; GOULART, D. F.; SILVA, J. P. S. Disposição do Cádmio e Chumbo para milho em solo adubado com fertilizantes fosfatados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, n. 6, p. 1899-1907, dez. 2009. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-06832009000600039](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832009000600039)>. Acesso em: 10 nov. 2014.

GABOS, M. **Lixiviação e absorção de chumbo pelo feijão-de-porco assistido pela aplicação de EDTA no solo**. Campinas, 2008. Diss. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical)-Instituto Agrônomo (IAC). São Paulo: Campinas, 2008. Disponível em: <http://www.iac.sp.gov.br/areadoinstituto/posgraduacao/dissertacoes/pb1212106.pdf>. Acesso em: 23 ago.2014

GOMES, M. P. et al. Efeitos dos rejeitos da indústria de zinco na anatomia e crescimento de plantas jovens de *Salix humboldtiana* Willd. (salgueiro). **Hoehnea**, São Paulo, v. 38, n. 1, p.135-142, mar. 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/hoehnea/v38n1/a12v38n1.pdf>>. Acesso em: 01 fev. 2015.

HISCOX, J. D.; TSRAELSTAM, G.F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Can J. Bot.** v. 57, p. 1332-1334, 1979.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. **California Agricultural Experimental Station**, Berkeley, n. 347, 1950. Disponível em: < <https://archive.org/details/watercultureme3450hoag>>. Acesso em: 11.01.2014.

HOSSAIN, M. A., et al. Molecular Mechanism of Heavy Metal Toxicity and Tolerance in Plants: Central Role of Glutathione in Detoxification of Reactive Oxygen Species and Methylglyoxal and in Heavy Metal Chelation. **Journal Of Botany**, Japan, v. 2012, n. 2012, p.1-37, dez. 2011. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/jb/2012/872875/>>. Acesso em: 11 jan. 2015.

LAKE, D.L. Sludge disposal to land. In: LESTER, J.N. Heavy metals in wastewater and sludge treatment process. Boca Raton: CRC Press, v.2, p.91-130, 1987.

LASAT, M.M. Phytoextraction of toxic metals: a review of biological mechanisms. **J. Environ. Qual.**, v. 31, 2002. Disponível em: [http://clu.in.org/download/remed/lasat\\_article.pdf](http://clu.in.org/download/remed/lasat_article.pdf). Acesso em: 13 ago.2014.

LEAL, Paulo Vitor Brandão et al. Chumbo: Uma introdução à extração e a fitorremediação. **Journal Of Biotechnology And Biodiversity**, Gurupi, p. 1-6. nov. 2012. Disponível em: <<http://revista.uft.edu.br/index.php/JBB/article/view/391/273>>. Acesso em: 13 jul. 2013.

LICHTENTHALER, H.K. **Chlorophylls and carotenoids: pigment photosynthetic biomembranes**. Methods Enzymology. San Diego, v.148, p. 362-385, 1987.

LIMA, F. S. et al. Bioconcentração de chumbo e micronutrientes em hortaliças cultivadas em solo contaminado. **Rev. Ciênc. Agron.**, Fortaleza, v. 44, n. 2, p.234-241, jun. 2013. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1806-66902013000200004&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1806-66902013000200004&script=sci_arttext)>. Acesso em: 20 jun. 2014.

LONARD, R. I.; JUDD, F. W.; STALTER, R. The Biological Flora of Coastal Dunes and Wetlands: *Batis maritima* C. Linnaeus. **Journal Of Coastal Research**, West Palm Beach, Florida, p. 441-449, mai. 2011. Disponível em: <<http://www.bioone.org/doi/full/10.2112/JCOASTRES-D-10-00142.1>>. Acesso em: 01 jul. 2013.

KENT, N.L.; Evers, A.D. Chemical components in technology of cereal. Pergamon Elsevier Science Ltd: Oxford, 1994.

MALIK, N., Biswas, A.K. Role of higher plants in remediation of metal contaminated sites. **Sci. Rev. Chem. Commun.**, v. 2, p. 141, 2012. Disponível em: <[http://www.sadgurupublications.com/ContentPaper/2012/6\\_134\\_SRCC\\_2%282%292012\\_P.pdf](http://www.sadgurupublications.com/ContentPaper/2012/6_134_SRCC_2%282%292012_P.pdf)>. Acesso em: 13 ago.2014.

MARCONE, Massimo F. *Batis maritima* (Saltwort/Beachwort): a nutritious, halophytic, seed bearings, perennial shrub for cultivation and recovery of otherwise unproductive agricultural land affected by salinity. **Elsevier Science**, Canada, p.123-130, abr. 2003. Disponível em: <<http://www.deepdyve.com/lp/elsevier/batis-maritima-saltwort-beachwort-a-nutritious-halophytic-seed-3Y7zmyiOeI>>. Acesso em: 13 mai. 2013.

MARQUES, M.; AGUIAR, C. R.; SILVA, SOARES, J. J. L. Desafios técnicos e barreiras sociais, econômicas e regulatórias na fitorremediação de solos contaminados. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Maracanã, v. 1, n. 35, p.1-11, jan. 2011. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-06832011000100001&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-06832011000100001&script=sci_arttext)>. Acesso em: 18 jul. 2014.

MARTINS, Camila Aparecida da Silva et al. A dinâmica de metais-traço no solo: dynamics of soil trace metal. **R. Bras. Agrocência**, Pelotas, v. 17, n. 3-4, p.383-391, ago. 2011. Disponível em: <<http://www2.ufpel.edu.br/faem/agrociencia/v17n3/artigo12.pdf>>. Acesso em: 11 nov. 2013.

MATOS, Carlos Henrique Lima de et al. **Recuperação de planossolos nátricos salinos em juazeiro-ba através do cultivo de espécies nativas da caatinga**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REFLORESTAMENTO AMBIENTAL, 2012, Guarapari: Cedagro, 2012. Disponível em:

<[http://www.cedagro.org.br/downloads/20121122\\_reflorestamento/VASCONCELOS\\_Osvald\\_o2.pdf](http://www.cedagro.org.br/downloads/20121122_reflorestamento/VASCONCELOS_Osvald_o2.pdf)>. Acesso em: 14 jul. 2013.

MAZZUCO, K. T. M. **Uso da *Canavalia ensiformis* como fitorremediador de solos contaminados por chumbo**. 2008. 187 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008. Disponível em:

<<http://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/91305>>. Acesso em: 11 fev.2014.

MELO, E. E. C.; NASCIMENTO, C. W. A.; SANTOS, A. C. Q. Poluição do solo e qualidade ambiental: solubilidade, fracionamento e fitoextração de metais pesados após aplicação de agentes quelantes. **R. Bras. Ci. Solo**, Recife, v. 6, n. 30, p.1051-1060, jun. 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbcs/v30n6/a14v30n6.pdf>>. Acesso em: 18 jun. 2014.

MENDES, Alessandra M. S. et al. Acúmulo de metais pesados e alterações químicas em Cambissolo cultivado com meloeiro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande-PB, v. 14, n. 8, p.791-796, 26 fev. 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbeaa/v14n8/v14n08a01.pdf>>. Acesso em: 17 jul. 2013.

MENDES, Bruna Santana da Silva et al. MECANISMO FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DO ABACAXI ORNAMENTAL SOB ESTRESSE SALINO. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 24, n. 3, p.71-77, set. 2011. Disponível em:

<<http://periodicos.ufersa.edu.br/revistas/index.php/sistema/article/view/1956/4745>>. Acesso em: 01 dez. 2014.

MUNNS, Rana et al. Avenues for increasing salt tolerance of crops, and the role of physiologically based selection traits. **Plant And Soil**, Australia, v. 23, n. 2, p.93-105, out. 2002. Disponível em:

<[http://www.plantstress.com/Articles/salinity\\_m/salinity\\_m\\_files/Salt\\_tolerance.pdf](http://www.plantstress.com/Articles/salinity_m/salinity_m_files/Salt_tolerance.pdf)>.

Acesso em: 01 dez. 2014.

NASCIMENTO, C. W. A.; XING, B. Phytoextraction: a review on enhanced metal availability and plant accumulation. **Sci. Agric.**, Piracicaba, v. 63, n. 3, p.299-311, jun. 2006. Disponível em:

<[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-90162006000300014](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90162006000300014)>.

Acesso em: 04 out. 2014.

PEREIRA, M. P. et al. Fitotoxicidade do chumbo na germinação e crescimento inicial de alface em função da anatomia radicular e ciclo celular: Lead phytotoxicity on germination and early growth of lettuce as a function of root anatomy and cell cycle. **Revista Agro@mbiente On-line**, Boa Vista, v. 7, n. 1, p.36-43, abr. 2013. Disponível em: <<http://revista.ufrb.br/index.php/agroambiente/article/view/895>>. Acesso em: 12 dez. 2013.

PILON-SMITS, E. Phytoremediation. **Annual Review of Plant Biology**, v. 56, p. 15-59, jan. 2005.

PINTO FILHO, Jorge Luis De Oliveira. **Metais pesados em Argissolo Acinzentado após a utilização de rejeito de Mineração como Fertilizante para Culturas Anuais**. 2011. 57 f. Dissertação (Mestrado) - Ufersa, Mossoró, 2011.

RASCIO, N.; NAVARI-IZZO, F. Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? **Plant Science**, Italy, v. 1, n. 180, p.169-181, 2011. Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168945210002402>>. Acesso em: 11 jun. 2014.

REZVANI, M.; ZAEFARIAN. Bioaccumulation and translocation factors of cadmium and lead in *Aeluropus litoralis*. **Journal Of Agricultural Engineering**, Australian, v. 4, n. 2, p.114-119, 2011. Disponível em:

<[http://www.sciencej.com/rezvani\\_2\\_4\\_2011\\_114\\_119.pdf](http://www.sciencej.com/rezvani_2_4_2011_114_119.pdf)>. Acesso em: 10 jan. 2015.

ROCHA, Julio Cesar; ROSA, André Henrique; CARDOSO, Arnaldo Alves. **Introdução a Química Ambiental**. Porto Alegre: Bookman, 256 p., 2009.

ROMEIRO, Solange et al. Absorção de chumbo e potencial de fitorremediação de *Canavalia ensiformes* L.. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 2, p.327-334, 07 dez. 2007. Disponível em:

<<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90866217>>. Acesso em: 13 mar. 2014.

\_\_\_\_\_. Lead uptake and tolerance of *Ricinus communis* L. **Braz. J. Plant Physiol**, Campinas, v. 18, n.4, p.483-489, 2006. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1677-04202006000400006](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1677-04202006000400006). Acesso em: 12 abr. 2014.

ROSSI, Sarita Carneiro. **Fisiologia de leguminosas com potencial fitoextrator para o metal pesado cádmio**. 2007. 60 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Curso de PÓS-graduação em Agricultura Tropical e Subtropical, Instituto Agronômico, Campinas, 2007. Disponível em: <<http://www.iac.sp.gov.br/areadoinstitutoposgraduacao/dissertacoes/pb1206105.pdf>>. Acesso em: 29 nov. 2014.

SACRAMENTO, B. L. et al. Pigmentos e teores de solutos orgânicos em plantas de aguapé sob estresse salino. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 18, n. 10, p.3344-3354, jul. 2014.

Disponível em: <[http://www.conhecer.org.br/enciclop/2014a/CIENCIAS\\_BIOLOGICAS/pigmentos.pdf](http://www.conhecer.org.br/enciclop/2014a/CIENCIAS_BIOLOGICAS/pigmentos.pdf)>. Acesso em: 01 dez. 2014.

SAHI, S.V., et al. Characterization of a lead hyperaccumulator shrub, *Sesbania drummondii*, **Environ. Sci. Technol.** 36, 2002. Disponível em:

<<http://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/es020675x>>. Acesso em: 10 set. 2014.

SANDOVAL, F. J. R.; DELGADILLO, R. R. **Bataceae**. Flora de Jalisco y áreas colindantes, fasc. 23, 22p. 2008.

SANTOS, K. C. F., et al. Atividade biológica em solo salino sódico saturado por água sob cultivo de *Atriplex nummularia*. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza- CE, p.619-627, 28 set. 2011a. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rca/v42n3/07.pdf>>. Acesso em: 09 jul. 2013.

SANTOS, F. S. et al. Resposta antioxidante, formação de fitoquelatinas e composição de pigmentos fotoprotetores em *Brachiaria decumbens* S. submetida à contaminação com Cd e Zn. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 1, p.16-20, jun. 2011b. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v34n1/v34n1a04.pdf>>. Acesso em: 11 jan. 2015.

SANTOS, C. H. et al. Utilização da mucuna preta (*Mucuna aterrima* Piper & Tracy) para a fitorremediação de solo contaminado por chumbo. **Revista Agro@mbiente On-line**, Boa Vista, v. 6, n. 3, p.215-221, nov. 2012. Disponível em: <<http://revista.ufr.br/index.php/agroambiente/article/viewFile/705/958>>. Acesso em: 11 jan. 2014.

SANTOS, F. S.; SOBRINHO AMARAL, N. M. B.; MAZUR, N. Mecanismos de Tolerância de Plantas a Metais Pesados. In: FERNANDES, Manlio Silvestre, Editor. **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo; 2006. 432 p.

SCHIFER, Tiago dos Santos; BOGUSZ JUNIOR, Stanislaw; MONTANO, Marco Aurélio Echart. ASPECTOS TOXICOLÓGICOS DO CHUMBO. **Infarma**, Brasília, v. 17, n. 6, p.67-72, maio 2005. Disponível em: <<http://www.cff.org.br/sistemas/geral/revista/pdf/18/chumbo.pdf>>. Acesso em: 11 abr. 2014.

SHARMA, P.; DUBEY, R. S. Lead toxicity in plants. **Braz. J. Plant Physiol.**[online]., vol.17, n.1, pp. 35-52. 2005. Disponível em:< <http://dx.doi.org/10.1590/S1677-04202005000100004>>. Acesso em: 23 ago.2014.

SHARMA, N.C., et al. Chemical speciation of lead in *Sesbania drummondii*. **Environ. Toxicol. Chem.** 2004. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15378980>. Acesso em: 23 ago.2014.

SHEORAN, V.; SHEORAN, A. S.; POONIA, P.. Role of Hyperaccumulators in Phytoextraction of Metals From Contaminated Mining Sites: A Review. **Environmental Science And Technolo**, India, v. 1, n. 41, p.168-214, 2011. Disponível em: <[Role of Hyperaccumulators in Phytoextraction of Metals From Contaminated Mining Sites: A Review](#)>. Acesso em: 10 jan. 2015.

SILVA, P. C. C., et al. Crescimento de plantas de girassol cultivadas em ambiente contaminado por chumbo. **Biosci.J.**, Uberlândia, v.29, Supplement 1, p. 1576-1586, nov.2013. Disponível em: <http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/15091> Acesso em: 12 jan.2014.

SOUZA, E. P.; SILVA, I. F.; FERREIRA, L. E. Mecanismos de tolerância a estresses por metais pesados em plantas: tolerance mechanisms the stresses for heavy metals in plants. **R. Bras. Agrociência**, Pelotas, v. 17, n. 4, p.167-173, jun. 2011. Disponível em: <<http://www2.ufpel.edu.br/faem/agrociencia/v17n2/artigo01.pdf>>. Acesso em: 11 jul. 2013.

SPIRO, Thomas G.; STIGLIANI, William M.. **Química Ambiental**. 2º edição São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2009. 334 p.

SRIDHAR, B.b. Maruthi et al. Anatomical changes due to uptake and accumulation of Zn and Cd in Indian mustard (*Brassica juncea*). **Environmental And Experimental Botany**, Mississipi, v. 54, n. 1, p.131-141, jun. 2005. Disponível em: <<http://ac.els->

[cdn.com/S0098847205000250/1-s2.0-S0098847205000250-main.pdf?\\_tid=6a0aec66-b079-11e4-ba7b-00000aab0f6b&acdnt=1423499804\\_476db1c941e88676ef62814d590defbc](http://cdn.com/S0098847205000250/1-s2.0-S0098847205000250-main.pdf?_tid=6a0aec66-b079-11e4-ba7b-00000aab0f6b&acdnt=1423499804_476db1c941e88676ef62814d590defbc)>.  
Acesso em: 01 fev. 2015.

STEFANUTO, V. A. **Efeito do cálcio na homeostase de brotações de um clone de *Eucalyptus grandis* Hill (ex Maiden) sob condições de deficiência hídrica induzida *in vitro***. Escola Superior Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2002. 65p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2013.

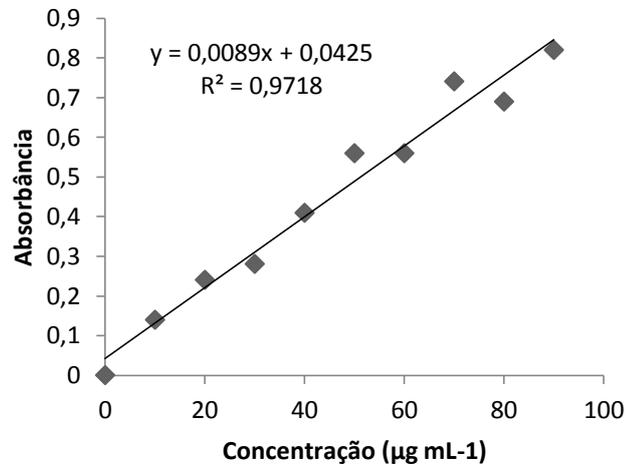
TANG, Y.-T., Qiu, R.-L., Zeng, X.-W., Ying, R.-R., Yu, F.-M., Zhou, X.-Y., 2009. Lead, zinc cadmium accumulation and growth simulation in *Arabis paniculata* Franch. **Env. Exp. Bot.** 66, 126e134. Disponível em:  
<[http://sese.sysu.edu.cn/Teacher/UploadFiles\\_1675/201203/2012033110245698.pdf](http://sese.sysu.edu.cn/Teacher/UploadFiles_1675/201203/2012033110245698.pdf)>.  
Acesso em: 13 ago.2014.

TEIXEIRA, J. A. A. B.; SILVA, B. C. E. (in memoriam). Chumbo. Departamento Nacional de Produção Mineral. 2008. Disponível em:  
<[https://sistemas.dnpm.gov.br/publicacao/mostra\\_imagem.asp?IDBancoArquivoArquivo=3981](https://sistemas.dnpm.gov.br/publicacao/mostra_imagem.asp?IDBancoArquivoArquivo=3981)>. Acesso em: 05 out.2014.

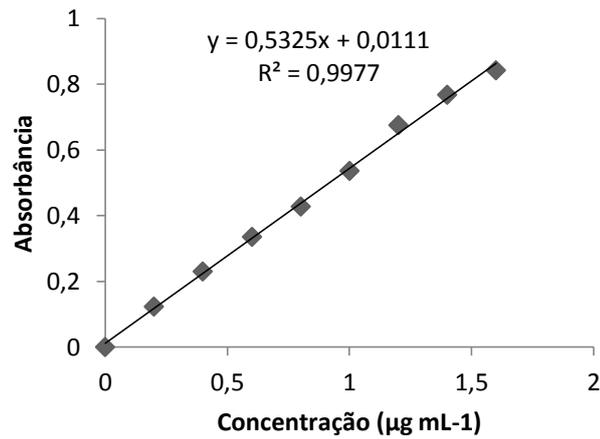
VASCONCELLOS, Maria Cristina; PAGLIUSO, Débora; SOTOMAIOR, Vanessa Santos. Fitorremediação: Uma proposta de descontaminação do solo: Phytoremediation: A proposal of soil decontamination. **Estudos de Biologia: Ambiente Divers.**, Curitiba, v. 83, n. 34, p.261-267, jul. 2012. Disponível em:  
<<http://www2.pucpr.br/reol/index.php/BS?ddl=7338&dd99=pdf>>. Acesso em: 14 abr. 2014.

VARENNE, Amarilis de. **Produtividade dos Solos e Ambiente**. Lisboa: Escolar Editora, 2003.

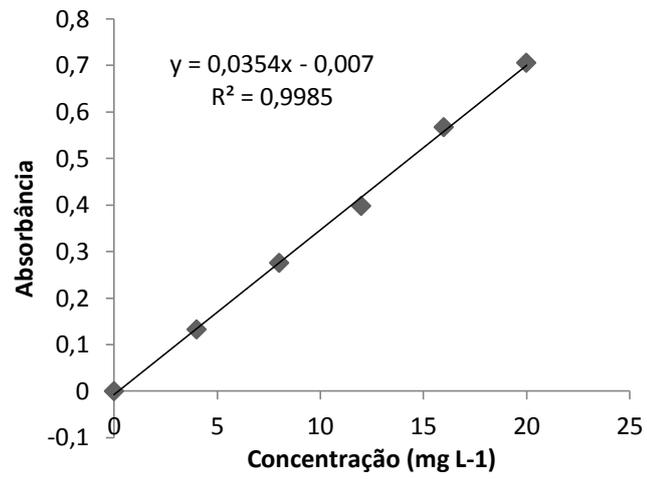
## **APÊNDICES**

**APÊNDICE A – Curvas padrões utilizadas para determinação bioquímica e minerais.****Figura 8 -** Curva padrão para carboidratos solúveis totais.

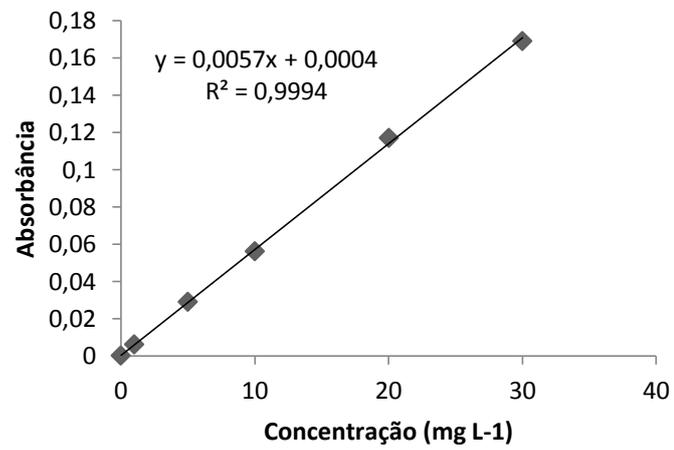
Fonte: Autoria Própria (2014).

**Figura 9 -** Curva Padrão de Proteínas Totais.

Fonte: Autoria Própria (2014).

**Figura 10 - Curva Padrão de Fósforo.**

Fonte: Autoria Própria (2014).

**Figura 11 - Curva Padrão de Chumbo.**

Fonte: Autoria Própria (2014).

## **ANEXOS**

## ANEXO A

**Tabela 17** - Faixas de Concentrações de metais pesados em fertilizantes fosfatados.

Produto	Cd	Pb	Ni	Cu	Zn
ppm					
Fertilizantes Fosfatados	0,1 - 170	7 - 225	7 - 30	1 - 300	50 - 1450

Fonte: BERTON (1992).

**Tabela 18** - Concentração média dos nutrientes minerais na matéria seca suficientes para um adequado desenvolvimento das plantas.

Elementos	Concentração da Matéria Seca
	$\mu$ moles/g
Mo	0,001
Cu	0,1
Zn	0,3
Mn	1
Fe	2
B	2
Cl	3
S	30
P	60
Mg	80
Ca	126
K	250
N	1000

Fonte: EPSTEIN (1975).