



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



YÁSKARA KARINE FERNANDES SARAIVA BRANDÃO

**TOLERÂNCIA E POTENCIAL FITORREMEIADOR DE *Lippia gracilis* SCHAUER
EM SUBSTRATO CONTAMINADO COM CHUMBO**

MOSSORÓ-RN
2016

YÁSKARA KARINE FERNANDES SARAIVA BRANDÃO

**TOLERÂNCIA E POTENCIAL FITORREMEIADOR DE *Lippia gracilis* SCHAUER
EM SUBSTRATO CONTAMINADO COM CHUMBO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte – UERN, como parte das exigências para obtenção do título de *Scientiae Magister* em Ciências Naturais/Área de concentração: Recursos Naturais (Linha de Pesquisa Tecnologia Ambiental).

Orientador (a): Profa. Dra. Cynthia Cavalcanti de Albuquerque

Mossoró – RN
2016

Catálogo da Publicação na Fonte.

Universidade do Estado do Rio Grande do Norte.

Brandão, Yáskara Karine Fernandes Saraiva

Tolerância e Potencial Fitorremediador De *Lippia gracilis* Schauer Em Substrato Contaminado Com Chumbo. / Yáskara Karine Fernandes Saraiva Brandão – Mossoró, RN, 2016.

75 f.

Orientador(a): Prof. Dra. Cynthia Cavalcanti de Albuquerque

Dissertação (Mestrado) Universidade do Estado do Rio Grande do Norte. Campus Central. Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais, da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte,

1. Metal pesado. Fitorremediação. EDTA. I. Albuquerque, Cynthia Cavalcanti de. II. Universidade do Estado do Rio Grande do Norte. III. Título.

UERN/ BC

CDD 630

YÁSKARA KARINE FERNANDES SARAIVA BRANDÃO

**TOLERÂNCIA E POTENCIAL FITORREMEIADOR DE *Lippia gracilis* SCHAUER
EM SUBSTRATO CONTAMINADO COM CHUMBO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte – UERN, como requisito parcial à obtenção do título de *Scientiae Magister* em Ciências Naturais/Área de concentração: Tecnologia Ambiental (Foco em Fisiologia do estresse e produção de metabólitos em plantas).

A reprodução e/ou utilização de quaisquer fragmentos textuais deste trabalho é lícito, contanto que as contribuições de todos os autores sejam consideradas, conforme os preceitos éticos e morais, conforme preconiza a Lei de Direitos Autorais nº 9.610 de 1998.

Aprovada em 11 de março de 2016.

BANCA EXAMINADORA

Dra. Cynthia Cavalcanti de Albuquerque - UERN
(ORIENTADORA)

Dra. Márcia Regina Farias da Silva – UERN
(MEMBRO INTERNO)

Dr. Daniel Freitas Freire Martins - UFERSA
(MEMBRO EXTERNO)

Ao Grande Arquiteto do Universo

OFEREÇO

Aos meus pais Saraiva e Rita, pelo incentivo, apoio e compreensão nos momentos de
ausência.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me deu a grande oportunidade de mais uma vez estudar, mostrando-me que sempre é possível.

A Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, especialmente ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais pela conquista desse mérito. E a todos os professores pelos quais adquiri novos conhecimentos.

A prof^ª. Dra. Cynthia Cavalcanti de Albuquerque, minha orientadora, pela paciência e zelo com que me orientou, além da amizade que fortaleceu meu crescimento como ser humano e como profissional.

Ao técnico de laboratório do Departamento de Ciências Biológicas da UERN, biólogo e colega de turma Francisco Fábio Mesquita Oliveira que me orientou em todas as análises laboratoriais, não poupando seu tempo, atenção, além de valiosas contribuições.

Ao técnico de laboratório de Eletroquímica e Química Analítica – LECA, Dr. Thiago Mielle, a química e colega de turma Crislânia pela disposição e auxílio nas análises experimentais.

Aos profs. Dr. Francisco Arnaldo Viana e MSc. Jaécio Carlos Diniz, do laboratório de cromatografia, além do químico e colega de turma Adriano, pela valiosa contribuição nas análises do óleo essencial.

Aos professores que aceitaram o convite para participar da banca examinadora do presente trabalho.

Aos nobres colegas do Laboratório de Cultura de Tecido Vegetal – LCTV, Valdiglêzia Arruda, Mônica Danielle, Vanilse Sampaio, Gessyka Silva, Keithy Andrade, Julyanna Arruda e Marcos Emanuel, os quais contribuíram para que a execução desse trabalho fosse realizada, com o apoio fundamental de uma equipe que interage do começo ao fim.

Aos competentes Wagner Argolo de Paiva, Gerente Geral, e Fernando Barreto de Melo, Gerente Executivo da Central de Análise de Projetos de Médio Porte do Banco do Nordeste em Natal-RN, pela imensa compreensão e apoio, imprescindíveis para a realização desse estudo, oportunizando mais um passo na minha carreira profissional.

A minha estimada família pelo incentivo e compreensão nos momentos de ausência familiar, e também a Paulo Giovanni, pela paciência para me acompanhar durante todo o tempo em que estive envolvida com esse estudo.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização e conclusão deste árduo trabalho.

Tenho a todos vocês uma imensa gratidão. Muito obrigada!

Aquele que habita no esconderijo do Altíssimo,
à sombra do Onipotente descansará. Direi do Senhor:
Ele é o meu Deus, o meu refúgio, a minha fortaleza, e nele confiarei.
Salmo 91 (Bíblia Sagrada)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diversas fontes de poluição do Pb no solo e na água.....	21
Figura 2 - Molécula do EDTA	28
Figura 3 - Técnicas da fitorremediação	34
Figura 4 - Foto da <i>Lippia gracilis</i> em seu ambiente natural	36

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Valores orientadores para solo e água subterrânea no Estado de São Paulo - 201423
- Tabela 2** - Área foliar em cm² (média ± desvio padrão, mg kg⁻¹) de *Lippia gracilis* S. sem EDTA e com EDTA durante 30 dias, Mossoró, RN, 2015..... 56
- Tabela 3** - Concentrações de chumbo (média ± desvio padrão mg kg⁻¹) em folhas de *Lippia gracilis* S. sem EDTA e com EDTA durante 30 dias, Mossoró, RN, 2015.....60
- Tabela 4** - Concentrações de chumbo (média ± desvio padrão mg kg⁻¹) em raízes de *Lippia gracilis* S. sem EDTA e com EDTA durante 30 dias, Mossoró, RN, 2015.....61
- Tabela 5** - Fator de Translocação (FT) de chumbo (médias^{1,2} e desvios padrões) em plantas de *Lippia gracilis* S. sem EDTA e com EDTA durante 30 dias, Mossoró, RN, 2015.....62
- Tabela 6** - Fator de Bioacumulação (FB) de chumbo (médias^{1,2} e desvios padrões) em plantas de *Lippia gracilis* S. sem EDTA e com EDTA durante 30 dias, Mossoró, RN, 2015.....62
- Tabela 7** - Teor de Óleo (médias^{1,2} e desvios padrões) em plantas de *Lippia gracilis* S. sem EDTA e com EDTA durante 30 dias, Mossoró, RN, 2015.....63

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -Principais fontes ocupacionais e não ocupacionais de contaminação individual por compostos à base de chumbo (Pb)	25
Quadro 2 -Espécies de plantas hiperacumuladoras de chumbo (Pb)	32

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1** - (a) Fitomassa parte aérea e (b) Fitomassa seca radicular em plantas de *Lippia gracilis* S. submetidas a diferentes doses de Pb na ausência e na presença de EDTA,56
- Gráfico 2** - Teor Relativo de Água (TRA) em plantas de *L. gracilis* S. submetidas a diferentes doses de Pb na ausência e na presença de EDTA,59

LISTA DE ABREVIATURAS

AC – Antes de Cristo

Ag - Prata

Al - Alumínio

As - Arsênio

B - Boro

Ba - Bário

Ca - Cálcio

Cd - Cádmi

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

Co – Cobalto

Cr – Cromo

Cs - Césio

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

CTC - Capacidade de Troca de Cátions

Cu - Cobre

DIC – Delineamento Inteiramente Casualizado

DNPM – Departamento Nacional de Produção Mineral

DTPA – Ácido Dietilenotriaminopentacético

EDTA – Ácido Etilenodiaminotetraacético

FAO – Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação

Fe – Ferro

FB – Fator de Bioacumulação

FT - Fator de Translocação

HNO₃ – Ácido Nítrico

Hg – Mercúrio

IBMP – Índice Biológico Máximo Permitido

K - Potássio

mg – Miligrama

mL – Mililitro

Mn - Manganês

Mo - Molibdênio

mt – mil toneladas

NaCl – Cloreto de sódio

Ni - Níquel

Pb - Chumbo

pH – Potencial de Hidrogênio Iônico

PVC – Policloreto de Vinila

S – Enxofre

Se – Selênio

Sr – Estrôncio

Sn - Estanho

TRA – Teor Relativo de Água

U - Urânio

VI – Valor de Intervenção

VP – Valor de Prevenção

Zn - Zinco

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo geral	18
2.2 Objetivos específicos	18
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
3.1 Metais pesados: contaminação	19
3.2 Chumbo (Pb)	24
3.3 Chumbo (Pb): absorção pelas plantas	25
3.4 Agentes quelantes: uso do EDTA	27
3.5 Fitorremediação de solos: uma alternativa promissora	29
3.6 Técnicas da fitorremediação	31
3.6.1 Fitoextração	31
3.6.2 Fitoestabilização	32
3.6.3 Fitovolatilização	32
3.6.4 Fitoestimulação	33
3.7 Nutrição mineral de plantas	34
3.8 <i>Lippia gracilis</i> Shauer: espécie alternativa para trabalhos de fitorremediação	36
4 REFERÊNCIAS	38
5 CAPÍTULO II: Absorção de chumbo e potencial fitoextrator de <i>Lippia gracilis</i> S.	47
5.1 Resumo	47
5.2 Abstract	48
5.3 Introdução	49
5.4 Material e métodos	51
5.5 Resultados e discussão	54
5.6 Conclusões	64
5.7 Considerações finais	66
5.8 Referências	67
Apêndices	73
Apêndice A	74
Apêndice B	75

1 INTRODUÇÃO

O crescimento contínuo da população mundial aliado à necessidade da utilização dos recursos naturais para oferecer bens e serviços na mesma proporção, tem contribuído substancialmente para a degradação acelerada do meio ambiente (JI et al., 2000; ALVES et al., 2008). O impacto do homem sobre a biosfera remonta desde o período Neolítico. No entanto, os problemas de deterioração dos ecossistemas tornaram-se mais evidentes durante as últimas décadas do século XX (KABATA – PENDIAS e PENDIAS, 1992).

Os processos naturais de decomposição de rochas, o uso intensivo de defensivos e fertilizantes agrícolas, aliada à intensa industrialização e diversas ações antropogênicas tem favorecido à deposição de elementos potencialmente tóxicos no ecossistema água-solo-plantas, causando inúmeros efeitos nocivos sobre todos os organismos vivos, incluindo seres humanos, além de afetar grandes áreas de terras agricultáveis com danos quase irreversíveis e de difícil recuperação (GUILHERME et al., 2005; BHARGAVA et al., 2012).

Sabe-se que os metais pesados ou metais-traço representam um grande risco ambiental devido a sua estabilidade na natureza. Nos solos, trata-se de um grave problema, a nível mundial, devido à capacidade de retenção desses elementos, que em função de suas características, podem ser facilmente lixiviados, pondo em riscos seres vivos, plantas e meio aquático. Assim, altos níveis de metais pesados disponíveis no solo podem comprometer o equilíbrio ecológico, incluindo o desenvolvimento das plantas e a qualidade de vida no planeta. Dentre os metais pesados, o chumbo (Pb) tem destaque devido às suas inúmeras utilizações. Esse metal é componente principal nas inovações tecnológicas, como protetor radiológico, na indústria automobilística e na fabricação de baterias, por exemplo (BOCCHIET et al., 2000).

Apesar das inúmeras utilidades, mesmo em pequenas quantidades, os metais pesados podem causar problemas à saúde humana, principalmente quando se acumulam em tecidos moles e ósseos, no sistema nervoso central e cardiovascular, em órgãos vitais, como os rins e nas células do sangue, acarretando sérios efeitos fisiológicos, levando inclusive à morte (GONÇALVES et al., 2012).

Além da ocorrência natural do chumbo nas rochas fosfatadas, como a apatita, empregada como matéria prima para essa classe de fertilizantes, há diferentes formas de contaminação de solo por esse metal, resultam também de ações antrópicas tais como adubações sucessivas, principalmente dos fertilizantes fosfatados, deposição de lodos e esgotos não tratados e escapes de veículos (HOODA, 2010). Essa problemática tem despertado a atenção, não só de pesquisadores e organizações governamentais, mas também da população mundial.

Diante disso, é preciso desenvolver alternativas que alterem a disponibilidade do chumbo, reduzindo a contaminação do solo.

Sabe-se que o uso de plantas em áreas contaminadas por metais pesados pode acelerar o processo de recuperação do solo, pois no sistema radicular é possível ocorrer liberação de substâncias quelatizantes. Algumas plantas tem a capacidade de absorver quantidades elevadas de metais pesados, seja nas raízes ou em qualquer outra parte do tecido vegetal (DOUMETT et al., 2008).

Há inúmeros métodos para remoção de metais pesados em meio aquoso, ar ou solo poluídos que empregam processos físicos, químicos e bioquímicos. No entanto, a escolha do método depende de critérios como eficiência, custo e tempo (ANDRADE et al., 2007).

Uma alternativa promissora para tratar solos contaminados com metais pesados é a fitorremediação. Esta técnica utiliza plantas para remover, imobilizar ou tornar inofensivos esses elementos no ecossistema. Através da translocação e compartimentalização de metais pesados em órgãos vegetais que não comprometam o metabolismo das plantas, é possível, para algumas espécies de plantas, absorverem os metais e os removerem do solo. Esse processo de remoção dos metais do solo pode ser facilitado pela presença de agentes quelantes inorgânicos ou orgânicos, como o EDTA (ácido etilenodiaminotetracético), por exemplo, que tem se mostrado eficiente em elevar o potencial de fitorremediação de espécies vegetais (PEREIRA, 2005).

Por essa razão, é importante estudar espécies com potencial fitoextrator que sejam adaptadas às condições climáticas locais, uma vez que não necessitam de tratamentos culturais onerosos e não desenvolvem, facilmente, problemas de sanidade, como o ataque de pragas e doenças, e, além disso, que sejam conhecidas pela população no geral.

As condições de baixa disponibilidade de água, temperatura e luminosidade intensas a que são submetidas às plantas da Caatinga no Nordeste brasileiro, fizeram com que estas desenvolvessem adaptações anatômicas e bioquímicas para mitigar diversas situações de estresses abióticos.

Dessa forma, identificar espécies vegetais nativas com potencialidade para fitorremediar metais pesados contidos no solo é de extrema importância para a manutenção do equilíbrio ecológico, principalmente em regiões com características de semiaridez. Sabe-se que doses de EDTA aliadas às espécies fitorremediadoras selecionadas em diversos países, dificilmente terão sucesso em solos com elevados teores de ferro (Fe) e alumínio (Al), como é o caso dos solos brasileiros (PEREIRA, 2005). Isto indica que há necessidade de estudos sobre fitorremediação utilizando espécies vegetais adaptadas ao nosso clima e aos solos do Brasil.

Dentre os numerosos grupos de plantas que são estudados pelos pesquisadores na bioprospecção de novos compostos, destaca-se o gênero *Lippia*, composto na sua maioria por espécies aromáticas que são utilizadas na produção de fármacos, cosméticos, herbicidas, inseticidas e outros. Além disso, estudos recentes com a *Lippia gracilis* mostraram que esta possui potencial de tolerância a sais (RAGAGNIN et al., 2014). Sendo assim, considerando que a *L. gracilis* é uma espécie que ocorre naturalmente na Caatinga e que tem sido atribuída a ela certa resistência a estresses abióticos, objetivou-se avaliar o seu comportamento quando submetido a estresse provocado pela presença de um metal pesado.

2. Objetivos

2.1. Geral

Avaliar a tolerância da *Lippia gracilis* S. ao chumbo (Pb), bem como determinar seu potencial fitorremediador em relação a este metal.

2.2 Específicos

- Quantificar a biomassa seca de *L. gracilis* submetida a diferentes doses de Pb;
- Avaliar o teor relativo de água (TRA) nas plantas submetidas aos tratamentos com doses crescentes de Pb mediante o estresse causado pelo metal;
- Determinar o Fator de translocação (FT) do Pb da raiz para a parte aérea;
- Determinar o Fator de Bioacumulação (FB);
- Avaliar o rendimento do óleo essencial das plantas tratadas com Pb;
- Avaliar a influência do EDTA na disponibilidade do Pb às plantas.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Os metais são elementos que abrangem aproximadamente 80% dos elementos químicos, com características de boa condutibilidade elétrica, maleabilidade, ductibilidade, alto ponto de fusão e ebulição (SHRIVER e ATKINS, 2008). Dos metais disponíveis, nem todos provocam toxicidade, pois do total dos 80 metais conhecidos, cerca de 30 são tóxicos para os seres humanos. Dentre eles, o chumbo (Pb) é um dos principais metais poluentes que age maleficamente em ecossistemas terrestre e aquático, além de afetar de modo significativo a saúde humana (SHARMA e DUBEY, 2005; ENZWEILER e BOSSO, 2008).

Acredita-se que por volta de 2000 a.C., grandes quantidades de chumbo foram obtidas de minérios como subprodutos da fusão da prata (Ag). Com essa prática, provavelmente, deu-se o início da utilização deste metal pela humanidade, sendo dessa forma disseminado no ambiente. No entanto, apesar de uma longa história de seu uso benéfico pela humanidade, não é conhecida função biológica nos seres vivos (MAESTRI et al., 2010).

A distribuição dos metais nos solos é influenciada por propriedades como: pH, potencial redox, textura, composição mineral (conteúdo e tipos de argilas, óxidos de Fe, Al e Mn), características próprias do perfil, capacidade de troca catiônica (CTC), quantidade e tipos de componentes orgânicos no solo e na solução, presença de outros metais pesados, temperatura, água, e outros fatores que afetam a atividade microbiana. Esses fatores controlam a solubilidade, mobilidade no meio e disponibilidade às plantas (KABATA-PENDIAS e PENDIAS, 1992). As contaminações podem ocorrer através de diversas formas como emissões aéreas (material particulado), lixiviado, erosão superficial e aplicação de fertilizantes agrícolas (BAIRD, 2002).

3.1 Metais Pesados: contaminação

O desenvolvimento tecnológico ocorrido nas últimas décadas aliado ao crescimento demográfico tem contribuído substancialmente para a deposição de poluentes no ambiente. Estima-se que em 2050 a população mundial supere 9,1 bilhões de pessoas, segundo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), havendo assim, a necessidade em aumentar a produção mundial de alimentos em 70% e de dobrar nos países em desenvolvimento (FAO, 2009). Esse incremento na população será acompanhado pelo aumento na demanda por produtos diferenciados que, por sua vez, exigirão mais uso de componentes tecnológicos, bem como de recursos naturais.

Essa realidade afeta diretamente o meio ambiente e a saúde humana, culminando com uma série de implicações. Os resíduos e componentes químicos, oriundos das diversas atividades antropogênicas, acabam se depositando nos solos, nas águas e no ar. Dentre os diversos tipos de insumos necessários ao atendimento dessa demanda, os metais pesados destacam-se devido as suas inúmeras utilidades, sendo, portanto bastante requisitados.

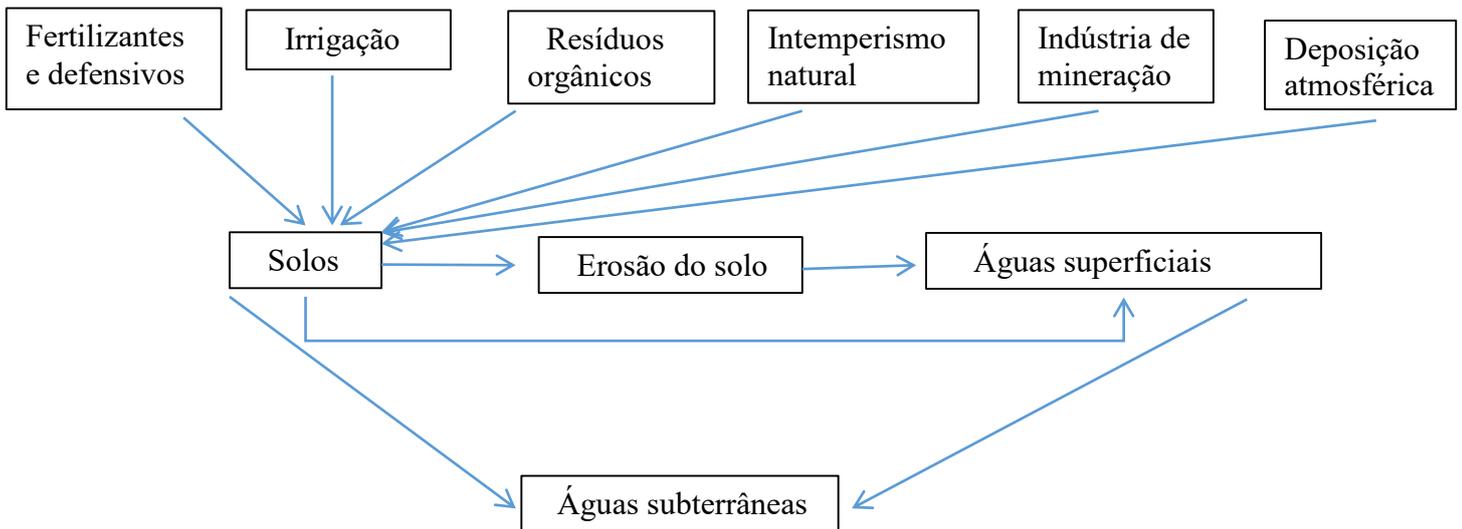
Os metais pesados são elementos químicos também conhecidos como “metais-traço”. Apresentam densidade superior a 5 mg cm^{-3} , número atômico maior que 20, estabilidade com cátions e pelo fato de serem encontrados no ambiente em baixas concentrações, podem vir a constituir uma fonte potencial para a poluição ambiental (MARTINS et al., 2011). Estão situados na tabela periódica, com densidades altas em comparação com outros materiais comuns (BAIRD, 2002).

Esses elementos quando são depositados no meio ambiente sem tratamento prévio, não obedecendo às legislações vigentes podem contaminar ambientes marinhos e estuarinos por meio da adição de resíduos industriais e esgotos, por exemplo. Peixes contaminados com metais pesados apresentam distúrbios no crescimento e na reprodução, imunossupressão, mudanças histopatológicas na pele, brânquias, fígado e rins, além de deformações esqueléticas (VITEK et al., 2007). Apesar do elevado teor protéico, o pescado quando contaminado é fonte de risco para a saúde humana, principalmente para populações costeiras (MANTOVANI, 2005).

A contaminação do ambiente provocada pelo acúmulo de metais pesados tornou-se um problema mundial, afetando o rendimento de diversas culturas agrícolas, a fertilidade dos solos, os organismos que habitam o ecossistema e a bioacumulação na cadeia alimentar (GRATÃO et al., 2005).

Os metais são diferenciados dos compostos orgânicos tóxicos por serem absolutamente não degradáveis. A maioria dos metais não sofre degradação química ou microbiana e suas concentrações permanecem no solo durante muito tempo, manifestando sua toxicidade. A ocorrência de áreas afetadas por tais elementos, no Brasil, torna-se cada vez mais frequente e preocupante (ALVES et al., 2008). As concentrações de metais pesados no ambiente variam e podem proceder de diferentes aportes: (1) pelo intemperismo natural das rochas e seus fragmentos em leitos de rios; (2) pela precipitação ou solubilização de substâncias adsorvidas e, consequentes, mudanças das características físico-químicas das águas; (3) originados de resíduos biológicos e produtos de decomposição de substâncias orgânicas, de conchas calcárias e silicosas; (4) a precipitação atmosférica próxima às áreas urbanas e industriais; (5) decorrentes de processos de descargas dos dejetos urbano-industriais e ainda (6) uso intensivo de defensivos agrícolas (ZEITOUNI, 2003) (Figura 1).

Figura 1 – Diversas fontes de poluição do Pb no solo e na água.



Fonte: SINGH e STEINNES (1994). Adaptado pela autora.

Especificamente, nas últimas décadas, devido à expansão das áreas agrícolas no Estado do Rio Grande do Norte, com o desenvolvimento da fruticultura irrigada, grandes quantidades de micronutrientes e fósforo foram utilizados nessa atividade, adicionando metais pesados aos solos, na camada superficial, principalmente com relação aos teores totais de Ni, Pb, Mn e Cu em decorrência do tempo de cultivo no solo (MENDES et al., 2010).

Fernandes et al. (2007) encontraram em solos cultivados com olerícolas, no Estado de Minas Gerais, teor de Cd, Cr e Ni superiores aos valores de intervenção agrícola preconizados pela CETESB (2005).

Notadamente em áreas agrícolas irrigadas por poços tubulares, deve-se haver um monitoramento da qualidade da água subterrânea. Salviano et al. (2005) realizaram um estudo no município de Baraúna (RN) e mostraram que 81 e 100% das amostras de água subterrânea utilizadas para irrigação apresentaram, respectivamente, teores de Cd e Pb acima dos limites máximos permitidos pela Resolução 20/86 do Conselho Nacional do Meio Ambiente -

CONAMA, para águas destinadas ao consumo humano e para irrigação de hortaliças e frutíferas.

Além dos fertilizantes minerais, a água também poderá ser outra fonte de contaminação, dependendo da sua origem. Segundo Paula (2011), a presença dos metais pesados nos corpos hídricos inicia uma rota de contaminação e expõe a população aos riscos efetivos da contaminação por metais, principalmente através da ingestão da água, peixes e produtos oriundos de uma irrigação comprometida em função da contaminação hídrica.

Sendo assim, percebe-se que os riscos de contaminação por estes metais aumentam, considerando-se à falta de adoção de critérios quanto ao manejo da água de irrigação e do uso contínuo de defensivos e fertilizantes agrícolas. Para reduzir as concentrações destes compostos nas fontes hídricas são necessárias estratégias que envolvam todos os processos de produção agrícola, devendo ser analisado dentro do contexto de um sistema integrado (SILVA, 2006).

Brito et al. (2004) analisaram sedimentos depositados em fontes hídricas distantes de áreas irrigadas e verificaram que este material não se torna perigoso ao ambiente aquático, porém, nas fontes próximas às áreas irrigadas, o material particulado apresentou elevados níveis de zinco, cobre e chumbo, podendo causar sérios impactos a biota aquática e afetar negativamente o homem. Avaliando-se os resultados dos parâmetros físico-químicos da qualidade da água na secção do Rio São Francisco no segmento entre Três Marias e Pirapora, entre os dois centros urbanos e a jusante de Pirapora, foram observadas alterações para os metais pesados (Cd, Cu, Cr, Co e Ni), que evidenciaram a necessidade de um estudo de contaminação dos solos agrícolas, principalmente irrigados, nesta localidade (RIBEIRO et al., 2012).

A Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) publicou os valores orientadores (valor de prevenção-VP e valor de intervenção-VI) de qualidade dos solos e águas subterrâneas para o gerenciamento de áreas contaminadas. Os valores de intervenção informam que na amostra de solo ou água contém um determinado elemento químico que está no limite máximo permitido para os usos residencial, agrícola e industrial. A partir desses valores é demandada uma série de tomada de decisões pela CETESB, a fim de aplicar o monitoramento nas áreas afetadas pelo excesso de contaminação.

A publicação deu-se através do DD 045/2014/E/C/I de 20.02.2014, onde estabelece a substituição dos valores preconizados em 2005 para os seguintes valores: solos agrícolas 150; áreas residenciais 240 e áreas industriais 4.400 mg kg⁻¹ de peso seco para o chumbo (Tabela 1).

Tabela 1. Valores orientadores para solo e água subterrânea no Estado de São Paulo – 2014.

Substância	Solo (mg kg ⁻¹ de peso seco)				
	Valor de Prevenção (VP)	Valor de Intervenção (VI)			
		Agrícola	Residencial	Industrial	Água Subterrânea (µg L ⁻¹)
Bário	120	500	1300	7300	700
Cádmio	1,3	3,6	14	160	5
Chumbo	72	150	240	4400	10
Cobalto	25	35	65	90	70
Cobre	60	760	2100	10000 ^(a)	2000
Mercúrio	0,5	1,2	0,9	7	1
Prata	2	25	50	100	50
Zinco	86	1900	7000	10000 ^(a)	1800

Fonte: Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) - Adaptado segundo a Decisão de Diretoria 045/2014/E/C/I, de 20-02-2014. ^(a) Adotado valor limite de 1% do peso seco do solo (10.000 mg kg⁻¹).

Pruvot et al. (2006) verificaram que, com relação à contaminação humana, os metais pesados presentes nos solos, em partículas (poeira) ou plantas de jardins, gramados ou *playgrounds*, próximos a uma antiga área de mineração no Norte da França, poderiam ser potencialmente transferíveis para os utilizadores, e em particular para as crianças, tendo em vista a ingestão direta de partículas ou o consumo de plantas. Estudos ambientais realizados nesta localidade, pelo Ministério da Saúde, mostraram que mais de 10% das crianças que viviam em torno de uma fundição de chumbo tinham níveis de chumbo superiores a 100 mg L⁻¹ de sangue.

Devido à influência negativa na saúde humana ocasionada pela contaminação de solos agrícolas com metais pesados, foram realizadas na Província de Shandong (China) pesquisas envolvendo concentrações dos elementos Cd, Hg, As, Pb, Cr, Cu, Zn e Ni em solos destinados à produção de vegetais em pequenas e grandes propriedades (LIU et al., 2011). Estes autores verificaram que o principal elemento de poluição no solo de pequenos agricultores era o Cd, enquanto outros solos mostravam o Cu como elemento principal. Elementos como Hg e Pb foram associados às atividades antropogênicas, ou seja, oriundos de emissões de gases em indústrias e veículos automotores, enquanto que concentrações de Cd, Cu e Zn foram associados ao uso de agroquímicos.

Sendo assim, o conhecimento das quantidades totais e formas biodisponíveis dos metais presentes no solo ou na água são essenciais no diagnóstico da contaminação e, a partir de então definir as estratégias de remediação a serem desenvolvidas (SILVA, 2006).

3.2 Chumbo (Pb)

O elemento chumbo (Pb) é um metálico sólido de cor cinza-azulado, maleável, sensível ao ar, resistente à corrosão, inodoro e pertence ao grupo IVA da Tabela Periódica. Seu símbolo químico é Pb, possui número atômico 82 e massa atômica $207,21 \text{ g mol}^{-1}$. Este metal é relativamente abundante na crosta terrestre e é inerente ao material de origem, quase sempre como sulfeto de chumbo (QUITÉRIO et al., 2006).

Em 2013, as reservas mundiais alcançaram 89 Mt (mega toneladas) e as brasileiras somaram 163 mt (mil toneladas), representando 0,1% da reserva global. Os principais produtores de chumbo primários são os países detentores das maiores reservas do mundo: China, Austrália, Estados Unidos e México (DNPM, 2014).

O aumento dos níveis de Pb no ambiente foi ocasionado, principalmente, com o uso de gasolina aditivada como composto desse metal (KUNO, 2009). Devido à sua ampla utilização industrial, o Pb tem-se destacado dentre os metais pesados como sendo um dos maiores poluentes do meio (MORAES, 2010). Uma série de problemas ambientais pode ocorrer devido à contaminação do solo pelo Pb, como perda da vegetação, contaminação de águas superficiais e subterrâneas, além de toxicidade para microrganismos, animais e humanos (ALVES et al., 2008).

Gonçalves Jr. et al. (2009) afirmam que metais considerados essenciais como o cobre (Cu), zinco (Zn), níquel (Ni) e cromo (Cr) são utilizados no metabolismo biológico, enquanto que o chumbo (Pb) e o cádmio (Cd) não são essenciais, portanto são tóxicos, mesmo em níveis traços.

O chumbo também não é metabolizado pelos animais e ainda sofre o processo de bioacumulação, afetando mais aos animais do topo da cadeia alimentar, dentre os quais está o homem (LOURENÇO e LANDIM, 2005).

O referido metal é potencialmente carcinogênico, teratogênico e tóxico para o sistema reprodutivo. Os sintomas de contaminação iniciais são sutis envolvendo o sistema nervoso (fadiga, cefaléia, irritabilidade), gastrointestinais (cólicas abdominais, diarreia) e dores nos membros inferiores. Sabe-se que altos níveis de chumbo no sangue podem causar intoxicação aguda ou crônica em crianças ou adultos. Podendo até interferir no afastamento de trabalhadores quando o percentual do metal no sangue ultrapassa o permitido. O limite superior de normalidade legal é de $40 \mu\text{g/dl}$ e o Índice Biológico Máximo Permitido (IBPM) é de $60 \mu\text{g/dl}$ para o Pb no sangue que é o parâmetro mais utilizado no Brasil (BRASIL, 2006).

O nível de contaminação pode ocorrer de forma individual, sendo assim, há fontes ocupacionais e não ocupacionais por compostos ou derivados de chumbo (Quadro 1).

Quadro 1. Principais fontes ocupacionais e não ocupacionais de contaminação individual por compostos à base de chumbo

Fontes Industriais	Fontes não industriais ou não ocupacionais
Fundições Primárias (refino de minério de chumbo) e Secundárias (fusão de sucatas ou barras de chumbo para fins variados)	Bebidas alcoólicas (vinhos e destilados)
Produção de ligas (bronze, latão)	Uso de cristais finos e porcelana esmaltada
Produção de compostos orgânicos de chumbo	Utensílios de PVC
Solda eletrônica (Sn + Pb)	Fabricação caseira de “chumbadas” de pesca e cartuchos
Esmaltação de cerâmicas	Tinturas de cabelo
Operação de corte e solda de peças e chapas metálicas	Prática de tiro ao alvo
Indústria de borracha	Cerâmica artística caseira
Fabricação de PVC e outros plásticos	Projétil de arma de fogo alojado em articulações ou canal medular
Fabricação de cabos elétricos (elemento dielétrico)	Alimentos industrializados
Fabricação e recuperação de baterias	Tintas em brinquedos
Operação de corte e solda de peças e chapas metálicas contendo chumbo	Medicina chinesa e indiana

Capitani et al. (2009). Adaptado pela autora.

3.3 Chumbo (Pb): absorção pelas plantas

O Pb não é considerado um nutriente vegetal, por isso não possui nenhum papel no metabolismo das plantas. Porém, este metal pode ser absorvido juntamente com outros micronutrientes Fe, Cu, Mn, Zn e Ni (TAN, 2000). Como o chumbo não pode ser metabolizado, facilmente pode ser acumulado em diversas partes das plantas e esse acúmulo pode ser mais expressivo quando são adicionados agentes complexantes ao solo ou ao meio de cultivo (SCHNOOR, 2002; ROMEIRO et al., 2007).

A absorção de metais pesados pelas raízes pode ser de maneira passiva com a difusão de íons da solução externa para a endoderme das raízes, ou ativa, requerendo energia metabólica e contra um gradiente químico (KABATA-PENDIAS e PENDIAS, 2002).

A absorção do elemento Pb, presente na solução do solo, pelas plantas dá-se, principalmente, pelas raízes através da membrana plasmática, movendo-se via apoplasto seguindo as correntes de água, e acumulando-se perto da endoderme que é uma barreira parcial para translocação de substâncias das raízes para outros órgãos. As raízes possuem a capacidade de acumular quantidades significativas desse metal e com isso restringir sua translocação para

a parte aérea (SHARMA e DUBEY, 2005). Por outro lado, há razões pelas quais o transporte desse metal via raízes é limitado. Essas razões incluem a imobilização por pectinas, a precipitação de sais de chumbo solúveis em espaços intercelulares, a acumulação na membrana plasmática, ou o sequestro em vacúolos de células rizodérmicas e corticais (KOPITTKKE et al., 2007; MALECKA et al., 2008; ARIAS et al., 2010; JIANG e LIU, 2010).

O Pb tem a capacidade de mover elementos como K, Ba, S e Ca em minerais e sítios de adsorção, devido a sua semelhança aos metais alcalinos terrosos, conferindo-lhe a característica de ser um dos metais pesados menos móveis e que se acumula, naturalmente, nos horizontes superficiais (BERTOLI et al., 2011).

Os metais pesados afetam, negativamente, de um modo geral, a fotossíntese, a mitose e a absorção de água, o alongamento da raiz, germinação de sementes, desenvolvimento de plântulas, transpiração, organização lamelar no cloroplasto, divisão celular, o crescimento, a distribuição dos nutrientes, bem como o ciclo biológico das espécies vegetais (SHARMA e DUBEY 2005; KRZESLOWSKA et al., 2009; GUPTA et al., 2009; MAESTRI et al., 2010; SOUZA et al., 2011). Como consequência, as plantas apresentam sintomas de coloração verde escura nas folhas, murchamento das folhas mais velhas, folhagem atrofiada, raízes com coloração escura e pouco desenvolvidas (ZEITOUNI, 2003).

Existem espécies vegetais que quando expostas ao chumbo não apresentam sintomas de toxicidade e, ainda, extraem enormes quantidades de chumbo, a partir de solos contaminados. *Pelargonium* e *Brassica napus* são caracterizadas como plantas hiperacumuladoras de Pb (ARSHAD et al., 2008; ZAIER et al., 2010). O que essas plantas apresentam são mecanismos naturais eficientes para aliviar a intoxicação.

Há vários fatores que afetam a disponibilidade dos metais pesados para os vegetais, entre eles, o tipo de solo, a espécie vegetal, o estágio de maturação, o rendimento, o manejo da cultura, o clima, além do potencial de absorção, específico e geneticamente fixado para os diferentes nutrientes e diferentes espécies vegetais (MENGEL e KIRKBY, 1987; MCDOWELL et al., 1993).

A tolerância ao chumbo pelas plantas acontece associada às propriedades das membranas, influenciando na plasticidade e elasticidade das paredes celulares, aumentando a rigidez da parede celular (ZEITOUNI, 2003). Foram observados por Kabata-Pendias e Pendias (2002) que as maiores bioacumulações de Pb ocorreram em plantas folhosas, a exemplo da alface, acumulando até 0,15% de Pb na massa seca. No entanto, apesar de algumas plantas apresentarem alto potencial para acumular quantidades significativas de Pb, como a mostarda indiana (*Brassica juncea*), o girassol (*Helianthus annuus* L.) e o milho (*Zea mays*), a indução

deste acúmulo só acontecerá mediante a adição de agentes quelantes, como o EDTA (GARBUSU e ALKORTA, 2001).

3.4 Agentes quelantes: uso do EDTA

Uma das principais limitações para uso da técnica da fitorremediação para áreas contaminadas com metais pesados, deve-se à baixa disponibilidade destes elementos no solo.

Em programas de fitorremediação de solos podem ser utilizadas espécies com considerável produção de matéria seca que, quando quimicamente induzidas, aumentam a eficiência na fitoextração de metais pela aplicação no solo de determinados agentes quelantes. Essas substâncias podem ser de origem natural (excretadas pelas raízes - p. ex., ácido acético, ácido cítrico) como também artificial (p.ex., EDTA, DTPA) (MEERS et al., 2004; MELO et al., 2006).

O ácido cítrico, quelante natural, é exudado de forma natural pelas plantas no solo rizosférico (MELO et al., 2008). No trabalho realizado por Melo et al. (2006) com plantas de milho (*Zea mays*) utilizando quelantes naturais (ácido cítrico, gálico e oxálico) com o objetivo de solubilizar, fracionar e fitoextrair metais pesados, foi verificado que o ácido cítrico foi o mais eficiente em induzir a fitoextração do Pb, Cu e Zn, por seu maior poder de quelação. Por outro lado, utilizando-se o ácido cítrico na fitoextração de Pb, Cd, Cr, Cu, Ni e Zn em plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.), aveia preta (*Avena strigosa* S.) e grama-batatais (*Paspalum notatum* F.) constatou-se que não houve efeito expressivo da aplicação de ácido cítrico aos solos na absorção de Pb por essas plantas (ANDRADE et al., 2009).

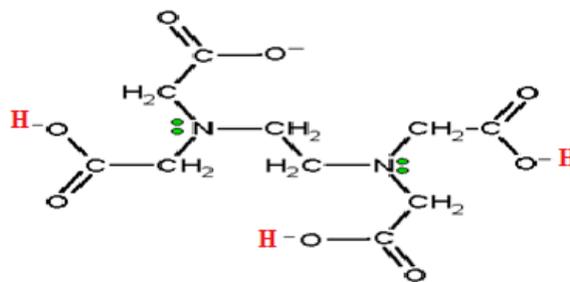
Agentes quelantes como o ácido etileno diamino tetraacético e o ácido etileno glicol tetraacético (EGTA) têm sido utilizados com sucesso nos processos de fitoextração induzida (PEREIRA et al., 2010). Dentre os agentes quelantes artificiais o mais utilizado comercialmente é o EDTA. É o sintético mais conhecido e utilizado para diferentes aplicações industriais, agrícolas, entre outras. É comercializado na forma de ácido e comumente são empregados sais de sódio como: NaH_2EDTA ou Na_4EDTA , que são solúveis em água.

No entanto, o uso desse sintético pode introduzir um risco ambiental em virtude da desvantagem de possuir elevada mobilidade no solo. O contaminante pode, nesse caso, percorrer áreas circunvizinhas não contaminadas. Esse movimento pode, potencialmente, tornar-se um problema devido à persistência no solo do complexo quelato-metal pesado (QUARTACCI et al., 2007).

Por outro lado, este agente quelante é utilizado para aumentar a biodisponibilidade dos metais para as plantas. Pereira (2005) verificou em *Canavalia ensiformis* e *Helianthus annuus* a eficiência no aumento da absorção de Pb, aplicando $0,5 \text{ kg}^{-1}$ de EDTA e ainda, mais de 90% do total das formas de Pb, Fe e Al presentes no solo foram complexados com o EDTA.

O EDTA se coordena a íons metálicos por meio de pares de elétrons não compartilhados, localizados nos átomos de nitrogênio dos dois grupos amino e nos átomos de oxigênio de cada um dos quatro grupos carboxílicos (Figura 2).

Figura 02 – Representação esquemática da molécula do EDTA.



Fonte: Félix (2005).

A aplicação desse quelante no solo tem mostrado eficiência para elevar o potencial de fitorremediação de espécies vegetais (PEREIRA, 2005). Estudando o potencial de EDTA no transporte e na acumulação de Pb em mostarda indiana (*Brassica juncea* L.) Vassil et al. (1998) notaram que o processo é baseado na habilidade que o EDTA tem em transportar Pb para o tecido da planta.

KHAN et al. (2000) e SHEN et al. (2002) sugerem que os quelantes desorvem o metal da matriz do solo para formar um complexo solúvel na solução do solo. Essa formação é muito estável e em geral, não libera o íon metálico para a forma livre, a menos que haja uma queda significativa no pH do solo. Para Garbisu e Alcorta (2001) o complexo quelato/metal previne a precipitação e a sorção do metal e mantém, portanto, sua disponibilidade para as plantas. Por outro lado, a presença do EDTA no ambiente pode causar preocupação por constituir uma forma de mobilização de metais pesados pela formação de complexos solúveis. Quando utilizado na fitorremediação, corre-se o risco de favorecer a passagem do complexo quelato metal para o lençol freático, antes que as plantas hiperacumuladoras de metais os absorvam (WU et al., 2004).

3.5 Fitorremediação de solos: uma alternativa promissora

Os compostos orgânicos no solo, de maneira geral, podem ser degradados. Já os metais precisam ser removidos, tratados ou imobilizados fisicamente (KHAN et al., 2000).

Há várias técnicas de descontaminação de solos, águas e sedimentos contendo metais pesados. Dentre elas destacam-se: a precipitação, as trocas iônicas e a fixação com produtos químicos (como o calcário), técnicas de alto impacto como a lixiviação do solo com produtos químicos ou agentes quelantes, completa remoção e transferência para aterros, além da vitrificação, que apesar de ser efetiva para contaminantes orgânicos e inorgânicos, imobilizando os metais em sólidos vitrificados, é uma técnica trabalhosa que apresenta altos custos (NEDELKOSKA e DORAN, 2000; GARBISU e ALKORTA, 2001).

Tais métodos apresentam sucesso em situações específicas, porém há dificuldades operacionais relacionadas ao tipo de solo, produção de metabólitos, destruição do local e um provável aumento do contaminante mobilizado que limita o seu uso, além do elevado custo de operação. Métodos convencionais de correção geralmente envolvem solidificação, estabilização, vitrificação, escavação e remoção da camada de solo contaminado ou a lavagem desse solo com ácidos fortes ou agentes quelantes (BHARGAVA et al., 2012).

Além desses métodos, o uso de plantas tolerantes a metais pesados pode ser uma alternativa importante do ponto de vista ambiental e econômico na recuperação de áreas degradadas (SOUZA et al., 2011). Essa prática, denominada fitorremediação, vem sendo desenvolvida como alternativa promissora para remediação de solos (PEUKE e RENNENBERG, 2005).

A fitorremediação (*fito* = planta e *remediação* = corrigir), conhecida desde 1991, é uma tecnologia que utiliza plantas e seus microorganismos associados em condições agronômicas otimizadas para remover, degradar, extrair, conter, estabilizar ou tornar inofensivos os contaminantes do solo e da água, incluindo compostos orgânicos e metais tóxicos (RASKIN e ENSLEY, 2000; VASCONCELOS et al., 2012). As pesquisas nessa área procuram compreender a interação da planta com o contaminante e vem atraindo atenção de cientistas, engenheiros ambientais e governos (EPA, 2000; BHARGAVA et al., 2012).

Essa técnica é uma alternativa limpa, menos agressiva ao ambiente e economicamente mais viável, possui baixo custo de investimento e de operação. Sua aplicabilidade é *in situ*, aplicável em áreas extensas, reduz a erosão e a lixiviação dos contaminantes, gera menos degradação e desestabilização da área objeto de estudo (GARDEA et al., 2005; CHAVES et al., 2010). Por se tratar de uma técnica que utiliza plantas, a fitorremediação utiliza a energia solar

para mover seus mecanismos de remediação apresentando um custo menor comparada às tecnologias convencionais. Conforme o estudo de Gerhardt e Bethan (2009) o custo para a fitorremediação de uma tonelada de solo contaminado fica em torno de 10 a 50 dólares enquanto que o custo estimado para escavação, transporte e disposição em aterros ou incineração está estimado entre 200 e 1500 dólares.

A efetividade desta técnica está limitada pela capacidade da planta em sorver os metais das superfícies das partículas do solo e da solubilidade desses metais. Para que a fitorremediação ocorra, os contaminantes devem estar ao alcance da zona de raízes das plantas, ou seja, estarem biodisponíveis e serem biologicamente absorvidos (KHAN et al., 2000). A ação dos agentes complexantes faz com que as plantas aumentem a captação dos metais do solo e facilitem o transporte das raízes a outros órgãos (DOUMETT et al., 2008). A adição de quelatos sintéticos, como o EDTA, pode aumentar os efeitos da fitoextração (KHAN et al., 2000).

Quanto aos limites do emprego da fitorremediação, sabe-se que um longo tempo é demandado para que cultivos sucessivos descontaminem uma área, pois a maioria das plantas hiperacumuladoras possui baixa penetração radicular, baixa produção de biomassa e lento desenvolvimento, há contaminação potencial da cadeia alimentar e a incerteza quanto o destino final da biomassa (KHAN et al., 2000). O processo depende da sazonalidade para o crescimento vegetal, pode não atingir 100% de remediação, e ainda, pode ser ineficiente para contaminantes fortemente adsorvidos (ACCIOLY e SIQUEIRA, 2000). Além destas limitações, ainda há os diferentes tipos de solos, climas, profundidade e concentração do elemento contaminante que aceleram ou retardam o processo de remediação.

A fitorremediação constitui um mercado que cresce anualmente nos EUA, na Europa e, mais recentemente, no Brasil. As companhias de consultoria ambiental já incluem a fitorremediação em seus pacotes de tecnologia, que consiste no uso de plantas e seus associados (microbiota) para limpeza de ambientes poluídos (PILON-SMITS, 2005).

Para programas de fitorremediação de solos é desejável que as espécies vegetais apresentem características de crescimento rápido, elevada produção de biomassa, competitividade, vigor e tolerância à poluição, além de fácil condução (LAMEGO e VIDAL, 2007). É importante ainda, que as referidas espécies possam absorver quantidades excessivas de metais em sua biomassa sem incorrer em danos para as funções metabólicas de base (ARSHAD et al., 2008; ZAIER et al., 2010).

Sendo assim, o uso da fitorremediação no Brasil, por ser um país de clima tropical com enorme biodiversidade, apresenta grande potencial, podendo ser aplicada mediante o

desenvolvimento de estudos que avaliem a tolerância das espécies vegetais aos níveis crescentes de contaminantes por metais, como o chumbo no solo, sob a influência de algum agente quelante.

3.6 Técnicas da fitorremediação

As técnicas da fitorremediação podem se subdivididas em fitoextração, fitoestabilização, fitovolatilização e fitodegradação.

3.6.1 Fitoextração

Trata-se de uma técnica cujas plantas captam e transportam contaminantes do solo ou da água, partindo das raízes para a parte aérea onde ficarão acumulados, podendo ser auxiliada por agentes quelantes (GARBUSU e ALKORTA, 2001). O sucesso depende da disponibilidade do metal para a captação. A taxa de remoção é dependente da biomassa coletada no final do ciclo, do número de cortes no ano e sua concentração na porção colhida (ACCIOLY e SIQUEIRA, 2000).

Esta técnica possui limitações, pois a concentração dos contaminantes não deve ser alta; as plantas acumuladoras de metais possuem crescimento lento, baixa produção de biomassa, os metais podem possuir efeitos fitotóxicos e os coeficientes de extração no campo são menores que os obtidos em laboratório (USEPA, 2000). Assim, plantas ideais para fitoextração devem possuir características múltiplas como crescimento rápido, alta produção de biomassa ($> 3000 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ de matéria seca), alto teor de metais pesados em diversos órgãos aéreos ($> 1000 \text{ mg kg}^{-1}$ de metal na matéria seca) após o corte (SCHNOOR, 2002; JABEEN et al., 2009; SETH, 2011).

Como é difícil encontrar uma planta que reúna essas características, manipular geneticamente uma espécie não acumuladora pode ser viável até que se consiga reunir os atributos acima mencionados, mas que cresça rapidamente. A fitoextração pode ser utilizada para Ag, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Zn, As, Se, Sr, Cs, U e B (USEPA, 2000). Esta técnica utiliza plantas denominadas de hiperacumuladoras (Quadro 2), que tem a capacidade de armazenar altas concentrações de metais específicos (0,1 % a 1% do peso seco, dependendo do metal).

Quadro 2: Espécies de plantas hiperacumuladoras de chumbo (Pb)

Espécies de Plantas Hiperacumuladoras de Pb	Família	Referências
<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).

3.6.2 Fitoestabilização

Consiste no uso de plantas tolerantes aos metais pesados com potencial para imobilizar contaminantes no sistema solo-planta, visando reduzir a biodisponibilidade destes via erosão ou lixiviação, e prevenir sua entrada nas águas subterrâneas ou na cadeia alimentar (ACCIOLY e SIQUEIRA, 2000). A imobilização dos agentes contaminantes no solo, basicamente os metais, através da absorção e acumulação pelas raízes, previne a migração do contaminante (VASCONCELLOS; PAGLIUSO; SOTOMAIOR, 2012). As raízes das plantas, por reduzirem a quantidade de água no solo, impedem o movimento dos metais, estabilizando-os e evitando a erosão, permitindo em breve tempo a reconstrução da cobertura vegetal.

O procedimento para estabilização do contaminante depende da incorporação do composto na lignina ou no húmus do solo e na precipitação do mesmo na rizosfera da planta por meio da humificação ou ligações covalentes irreversíveis (LAMEGO e VIDAL, 2007).

A aplicação desta técnica é mais indicada para áreas extensas e terá uma maior eficiência em solos com maior textura e com conteúdo de matéria prima elevado (EPA, 2000).

Esta técnica é efetiva quando aplicável a solos, sedimentos e efluentes contaminados com metais, principalmente As, Cd, Cu, Cr, Hg, Pb e Zn em baixas ou moderadas concentrações, utilizada e aprovada para remediação de áreas de minas, não sendo recomendada em áreas urbanas e industriais (TERRY e BAÑUELOS, 2000).

3.6.3 Fitovolatilização

A fitovolatilização é uma técnica definida como o movimento de um determinado contaminante fora do solo, sedimentos ou da água subterrânea e o transporte do mesmo para a atmosfera, realizado pela planta (LAMEGO e VIDAL, 2007).

Nesta técnica utilizam-se vegetais com capacidade metabólica em associação com microrganismos da rizosfera para transformar, ou seja, captar e expelir o agente contaminante através da transpiração ou uma forma modificada do mesmo para atmosfera (VASCONCELLOS; PAGLIUSO; SOTOMAIOR, 2012).

No caso do mercúrio, poderia ser transformado em formas menos tóxicas e os contaminantes lançados na atmosfera poderiam ser sujeitos a uma degradação natural mais rápida e efetiva, sendo mais aplicada em compostos orgânicos e inorgânicos. Dois exemplos seriam o Se e o Hg, que, pela associação com microrganismos, podem ser convertidos em forma metilada, menos tóxicas ao meio ambiente (VASCONCELLOS; PAGLIUSO; SOTOMAIOR, 2012).

A grande vantagem desta técnica é que o contaminante pode ser removido do ecossistema aquático e terrestre. Entretanto, ocorre que existe o risco das plantas liberarem concentrações elevadas dos contaminantes tóxicos na atmosfera (ANDRADE; TAVARES; MAHLER, 2007).

3.6.4 Fitoestimulação

Trata-se de uma técnica em que os microrganismos envolvidos estão associados de forma direta ou indiretamente na degradação dos agentes contaminantes. Ocorre liberação de exsudatos radiculares, havendo estímulo à atividade microbiana, que atua degradando o composto contaminante no solo (SANTOS et al., 2007).

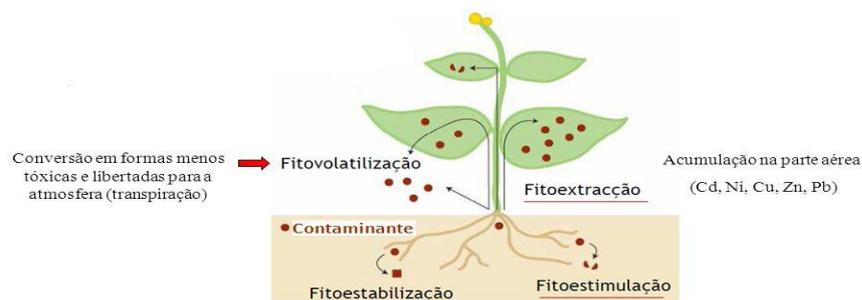
Para a fitorremediação de agrotóxicos orgânicos não clorados e herbicidas o principal mecanismo atuante é a fitoestimulação ou rizodegradação (PIRES et al., 2005). Através do uso de plantas que, comprovadamente, aumentam a degradação microbiana de compostos orgânicos danosos ao solo, é possível ocorrer elevadas taxas de remediação e com diferenças significativas quando comparados aos solos vegetados e não-vegetados (ANDERSON et al., 1993; ARTHUR et al., 2000).

O número de microrganismos no solo rizosférico é normalmente 5-10 vezes maior que naqueles não rizosféricos, podendo chegar a mais de 100 vezes (ANDERSON et al., 1993). Portanto, a presença da comunidade microbiana na rizosfera apresenta potencial para degradação de xenobióticos.

Um fator muito importante no processo de rizodegradação é a capacidade de modificação do pH na região da rizosfera, influenciado pela eliminação de prótons e, principalmente, pelos exsudatos radiculares, pela absorção de nutrientes através do sistema radicular e por processos como a fixação biológica do N₂ promovida pela simbiose entre leguminosas e diazotróficos do solo. Modificações nos valores de pH podem tornar a remediação dos herbicidas mais acelerada.

A figura 3 mostra as principais técnicas de fitorremediação normalmente utilizadas.

Figura 03 – Técnicas da fitorremediação.



Fonte: <http://slideplayer.com.br/slide/8526093/>

3.7 Nutrição mineral de plantas

A nutrição é um dos fatores que, de forma direta, interfere no crescimento do vegetal e na produção de óleo essencial em diversas plantas medicinais (BIASI et al., 2009). Segundo Mapeli et al. (2005), dentre todos os fatores que podem interferir na produção dos princípios ativos de plantas, a nutrição é um dos mais requeridos, pois a deficiência ou o excesso de nutrientes pode correlacionar diretamente à variação na produção de substâncias ativas.

Fatores bióticos ou abióticos interferem negativamente na produtividade das culturas, limitando seu cultivo em diversas regiões do mundo. Estudos comprovam a menor incidência de doenças em virtude de adequada nutrição mineral da planta (MORALES et al., 2012).

O solo é o compartimento de onde as raízes retiram ou absorvem os elementos essenciais. Estes são classificados como macro ou micronutrientes de acordo com suas concentrações relativas contidas no tecido vegetal, ou seja, a necessidade requerida (TAIZ e ZEIGER, 2013).

As plantas absorvem os minerais e estes são transportados para diferentes órgãos da planta a partir da área de superfície das raízes, os quais serão requisitados para desempenhar suas numerosas funções fisiológicas (TAIZ e ZEIGER, 2013).

A presença de um elemento químico em alta concentração em uma planta não é um indicador seguro de sua essencialidade, já que os vegetais apresentam capacidade de absorção seletiva limitada, de modo que podem absorver pelas raízes elementos minerais não-essenciais e, ou, mesmo tóxicos (FERNANDES, 2006).

A literatura apresenta informações sobre a participação dos elementos essenciais na composição do sabor, cor, aroma, forma, tamanho, aparência, resistência a pragas e doenças, armazenamento pós-colheita das frutas, etc. Isso é justificado pelo papel específico que cada nutriente desempenha no metabolismo vegetal. São exemplos disso, a participação do cálcio na firmeza dos frutos ou do nitrogênio em seu tamanho. Desse modo, a relação (proporção) entre os elementos no tecido vegetal desempenha papel mais importante que o teor absoluto de cada nutriente (AULAR e NATALE, 2013).

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. Já os 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).

Um modo alternativo para estudar plantas com potencial para fitoextração é através do uso de soluções nutritivas para o crescimento das mesmas. Esse procedimento permite o controle adequado dos elementos, e em especial, dos metais, além de uma resposta uniforme da planta (ROMEIRO et al., 2006). A solução de Hoagland modificada é composta pelos elementos minerais conhecidos que auxiliam no rápido crescimento das plantas, sem produzir sintomas de toxicidade ou estresse salino (TAIZ e ZEIGER, 2013).

3.8 *Lippia gracilis*: espécie alternativa para trabalhos de fitorremediação

L. gracilis (Figura 4) é encontrada, no Brasil, na Cadeia do Espinhaço, localizada nos estados de Minas Gerais, Bahia e Goiás, com aproximadamente 120 espécies distribuídas em dois importantes biomas brasileiros, no Cerrado e na Caatinga (OLIVEIRA et. al., 2007; GOMES et. al., 2011). A região da Caatinga, mais especificamente, é afetada pelo processo de salinização de solos em virtude das irrigações e das condições climáticas (SAIRAM e TYAGI, 2004).

Figura 04 – Exemplar de *L. gracilis*, mostrando o padrão de filotaxia e suas inflorescências características (2015).



Fonte: Yáskara Karine Fernandes Saraiva Brandão

Essa espécie é produtora de óleo essencial cujo rendimento pode ser influenciado por condições de estresses, sejam eles bióticos ou abióticos. Possui importância farmacológica com potente atividade antimicrobiana relevante contra bactérias e fungos (ALBUQUERQUE et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2008; BITU et al., 2012); atividade larvicida e inseticida contra o *Aedes aegypti* (PEREIRA et al., 2008; SILVA et al., 2008; CRUZ et al., 2013). Guimarães et al. (2012) também comprovaram eficiência dos extratos aquoso e metanólico da *L. gracilis* e constataram o potencial antinociceptivo e anti-inflamatório em modelos animais.

Em função da importância do seu óleo e por ser uma espécie bem adaptada às condições climáticas do semiárido, faz-se importante estudos sobre o seu cultivo em condições de estresse,

a fim de averiguar possíveis mudanças no rendimento e composição do óleo essencial. Nesse sentido, Ragagnin et al. (2014) avaliando o efeito do NaCl nas plantas dessa espécie, verificaram que sob essa condição, o rendimento e a composição química do óleo essencial não foram afetados. Visto que *L. gracilis* demonstrou certa potencialidade para fitorremediar o Na⁺, lançou-se nesta proposta, averiguar se essa espécie tem capacidade de fitorremediar o Pb.

4. REFERÊNCIAS

- ACCIOLY, A.M.A.; SIQUEIRA, J.O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ, V.H.; SCHAEFER, C.E.G.R. *Tópicos em Ciência do Solo*. Viçosa: **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, 2000.
- ALBUQUERQUE, C. C.; CAMARA, T. R.; MARIANO, R. L. R.; WILLADINO, L.; MARCELINO JÚNIOR, C.; ULISSES, C. Antimicrobial Action of the Essential Oil of *Lippia gracilis* Schauer. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, n. 4, p. 527-535, 2006.
- ALVES, J. C.; ADAILSON, P. de S.; PORTO, M. L.; ARRUDA, J. A.; U. A. TOMPSON JUNIOR; SILVA, G. B.; ARAÚJO, R. da C.; SANTOS, D. Absorção e distribuição de chumbo em plantas de vetiver, jureminha e algaroba. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 3, p. 1329-1336, 2008.
- ANDERSON, T. A.; GUTHRIE, E. A.; WALTON, B. T. Bioremediation in the rhizosphere: plant roots and associated microbes clean contaminated soil. **Environmental Science Technology**, v. 27, p. 2630-2636, 1993.
- ANDRADE, M. G. DE; MELO, V. F.; GABARDO, J.; SOUZA, L. C. P.; REISSMAN, C. B. Metais pesados em solos de área de mineração e metalurgia de chumbo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, n. 33. p. 1879-1888, 2009.
- ANDRADE, J. C. da M.; TAVARES, S. R. L.; MAHLER, C. F. **Fitorremediação: o uso de plantas na melhoria da qualidade ambiental**. São Paulo. Oficina de textos. 176 p. 2007.
- ARIAS, J. A.; PERALTA-VIDEA, J. R.; ELLZEY, J. T.; REN, M.; VIVEROS, M. N.; GARDEA-TORRESDEY, J. L. Effects of *Glomus deserticola* inoculation on Prosopis: enhancing chromium and lead uptake and translocation as confirmed by X-ray mapping, ICP-OES and TEM techniques. **Environmental and Experimental Botany**, v. 68. n. 2. p. 139–148. 2010.
- ARSHAD, M.; SILVESTRE, J.; PINELLI, E.; KALLERHOFF, J.; KAEMMERER, M.; TARIGO, A.; SHARID, M.; GUIRESSE, M.; PRADERE, P.; DUMAT, C. A field study of lead phytoextraction by various scented. *Pelargonium* cultivars. **Chemosphere**, v. 71. n.11. p. 2187–2192. 2008.
- ARTHUR, E. L.; PERKOVICH, B. S.; ANDERSON, T. A.; COATS, J. R. Degradation of an atrazine and metolachlor herbicide mixture in pesticide-contaminated soils from two agrochemical dealerships in Iowa. **Water, Air & Soil Poll.**, v. 119, p. 75-90, 2000.
- AULAR, J; NATALE, W. Nutrição mineral e qualidade do fruto de algumas frutíferas tropicais: goiabeira, mangueira, bananeira e mamoeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 4, p. 1214-1231, 2013.
- BAIRD, C. Química Ambiental. 2ª. Ed. Porto Alegre: Bookman, 622 p., 2002.

BERTOLLI, A. C.; CARVALHO, R.; CANNATA, M. G.; BASTOS, A. R. R.; AUGUSTO, A. dos S. Toxidez do chumbo no teor e translocação de nutrientes em tomateiro. **Biotemas**, v. 24, n. 4, p.7-15, 2011.

BHARGAVA, A.; CARMONA, F. F.; BHARGAVA, M.; SRISVASTAVA, S. Approaches for enhanced phytoextraction of heavy metals. **Journal of Environmental Management**, v. 105, p. 103-120. 2012.

BIASI, L. A.; MACHADO, E. M.; KOWALSKI, A. P. de J.; SIGNOR, D.; ALVES, M. A.; LIMA, F. I. de; DESCHAMPS, C.; CÔCCO, L. C.; SCHEER, A. de P. Adubação orgânica na produção, rendimento e composição do óleo essencial da alfavaca quimiotipo eugenol. **Horticultura Brasileira**, v.27, p. 35-39, 2009.

BITU, V.; BOTELHO, M. A.; COSTA, J. G. M.; RODRIGUES, F. F. G.; VERAS, H. N. H.; MARTINS, K. T.; LYRA, A.; COLUCHI, G. G.; RUELA, R. S.; QUEIROZ, D. B.; SIQUEIRA, J. S.; QUINTANS-JUNIOR, L. J. Phytochemical screening and antimicrobial activity of essential oil from *Lippia gracilis*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, n.1, p. 66-75, 2012.

BOUCCHIET, N.; FERRACIN, L. C.; BIAGGIO, S. R. Pilhas e baterias: funcionamento e impacto ambiental. **Química Nova Na Escola**, n. 11, p. 3-9, 2000.

BRASIL. DEPARTAMENTO NACIONAL DE PRODUÇÃO MINERAL – DNPM. Sumário mineral 2011. Ministério de Minas e Energia. 128p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. 44p. 2006.

BRITO, L. T. DE L.; SRINIVASAN, V. S.; SILVA, A. de S.; GHEYI, H. R.; GALVÃO, C. de O.; HERMES, L. C. Metais pesados nos solos e nos sedimentos depositados nas fontes hídricas da bacia hidrográfica do rio salitre. In: XXXIII Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola. 2004 - São Pedro – SP.

CAPITANI, E. M. de.; PAOLIELLO, M. M. B.; ALMEIDA, G. R. C. de. Fontes de exposição humana de chumbo no Brasil. **Medicina**, v. 3, n. 42, p. 311-318, 2009. Disponível em: <<http://www.fmrp.usp.br/revista>>. Acesso em: 20 maio 2015.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). 2005. Valores orientadores para solos e águas subterrâneas. Disponível em: <<http://solo.cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/sites/34/2014/12/DD-045-2014-P53.pdf>>. Acesso em 20 set 2015.

CHAVES, L. H. G.; MESQUITA, E. F. de; ARAÚJO, D. L. de; FRANÇA, C. P. de. Acúmulo e distribuição de cobre e zinco em mamoneira cultivar BRS Paraguaçu e crescimento da planta. **Engenharia Ambiental Espirito Santo do Pinhal**, v. 7, n. 3, p. 263-277. 2010.

CLEMENS, S.; PALMGREN, M. G.; KRÄMER, U. A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. **Plant Science**, v. 7, n. 7, p. 309-315, 2002.

CRUZ, E. M. O.; COSTA-JUNIOR, L. M.; PINTO, J. A. O.; SANTOS, D. A.; ARAÚJO, S. A.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; BACCI, L.; ALVES, P. B.; CAVALCANTE, S. C. H.;

BLANK, A. F. Acaricidal activity of *Lippia gracilis* essential oil and its major constituents on the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Veterinary Parasitology**, v. 195, p. 198-202, 2013.

DOUMETT, S.; LAMPERI, L.; CHECCINI L.; AZZARELLO, E.; MUGNAI, S.; MANCUSO, S.; PETRUZZELLI, G.; DEL BUBBA, M. Heavy metal distribution between contaminated soil and *Paulownia tomentosa*, in a pilot-scale assisted phytoremediation study: Influence of different complexing agents. **Chemosphere**, v. 72, n. 10, p. 1481-1490, 2008.

ENZWEILER, J.; BOSSO, S. T. Ensaios para determinar a (bio)disponibilidade de chumbo em solos contaminados: revisão. **Química Nova**, v. 31, n.2, p. 394-400, 2008.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). Introduction of phytoremediation. 2000. Disponível em: <<http://nepis.epa.gov>. Acesso em: 20 de set de 2015.

FERNANDES, R. B. A.; LUZ, W. V.; FONTES, M. P. F.; FONTES, L. E. F. Avaliação das concentrações de metais pesados em áreas olerícolas no Estado de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.11, n.1, p.81-93, 2007.

FERNANDES, J. D. **Adsorção e mobilidade do chumbo em solos influenciados pela adição de composto orgânico e carbonato de cálcio**. 2006. 75f. Dissertação (Mestrado em Manejo do Solo e Água) – Departamento de Solos e Engenharia Rural, Universidade Federal da Paraíba, Areia.

FELIX, F. F. **Comportamento do cobre aplicado no solo por calda bordalesa**. 2005. 74f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura de Luiz de Queiroz, Piracicaba, São Paulo.

GARBISU, C.; ALKORTA, I. Phytoextraction: a cost effective plant-based technology for the removal of metals from the environment. **Bioresource Technology**, v. 77, p. 229 -236, 2001.

GARDEA, J. L.T.; PERALTA-VIDEA, J. R.; ROSA, G. de L.; PARSONS, J. G. Phytoremediation of heavy metals and study of the metal coordination by X-ray absorption spectroscopy. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 249, n^{os} 17-18, p. 1797-1810. 2005.

GERHARDT, K. E; BETHAN, R. H. Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: Potential and challenges. **Plant Science**, v. 176, p. 20-30, 2009.

GOMES, M. P. et al. Efeitos dos rejeitos da indústria de zinco na anatomia e crescimento de plantas jovens de *Salix humboldtiana* W. (salgueiro). **Hoehnea**, v. 38, n. 1, p. 135-142, 2011.

GONÇALVES, J. G. VEIGA, M. A. M. S. V. Avaliação da bioacessibilidade de chumbo (Pb) em solos urbanos por ET ASS. 35^o Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. 2012.

GONÇALVES Jr., SELZLEIN, C.; NACKE, H. Uso de biomassa seca de aguapé (*Eichornia crassipes*) visando a remoção de metais pesados de soluções contaminadas. **Acta Scientiarum Technology**, v. 31, n. 1, 2009.

GRATÃO, P. L.; PRASAD, M. N. V.; CARDOSO, P. F.; LEA, P. J.; AZEVEDO, R. A.. Phytoremediation: green technology for the clean up of toxic metals in the environment. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 17, p. 53-64, 2005.

GUIMARÃES, L. R. G.; MARQUES, J. J.; PIERANGELI, M. A. P.; ZULIANI, D. Q.; CAMPOS, M. L.; MARCHI, G. Elementos-traço em solo e sistema aquáticos. **Tópicos em Ciência do Solo**, v. 4, n. 4, p. 345-390, 2005.

GUIMARÃES, A. G.; GOMES, S. V. F.; MORAES, V. R. S.; NOGUEIRA, P. C. L.; FERREIRA, A. G.; BLANK, A. F.; SANTOS, A. D. C.; VIANA, M. D.; SILVA, G. H.; QUINTANS JUNIOR, L. J. Phytochemical characterization and antinociceptive effect of *Lippia gracilis* S. **Journal of Natural Medicines**, v. 66, n. 3, p. 428-434, 2012.

GUPTA, D. K.; HUANG, H. G.; YANG, X. E.; RAZAFINDRABE, B. H.; INOUHE, M. The detoxification of lead in *Sedum alfredii* H. is not related to phytochelatins but the glutathione. **Journal Hazard Mater**, v. 177, n. 1-3, p. 437-444, 2010.

GUPTA, D. K.; NICOLOSO, F. T.; SCHETINGER, M. R. C.; ROSSATO, L. V.; PEREIRA, L. B.; CASTRO, G. Y.; SRIVASTAVA, S.; TRIPATHI, R. D. Antioxidant defense mechanism in hydroponically grown *Zea mays* seedlings under moderate lead stress. **Journal Hazardous Materials**, v. 172, n. 1, p. 479-484, 2009.

HOODA, S. P. Trace elements in soils. London: Wiley, 2010. 618 p.

JABEEN, R.; AHMAD, A.; IQBAL, M. Phytoremediation of heavy metals: physiological and molecular mechanisms. **Botanical Review**, v. 75, p. 339- 364, 2009.

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

JI, G. L.; WANG, J. H.; ZHANG, X. N. Environmental problems in soil and groundwater induced by acid rain and management strategies in China. In: Huang, P. M., Iskandar, I. K. (EDS). Soils and Groundwater Pollution and Remediation. **CRC Press**. London, p. 201-224, 2000.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. Trace elements in soils and plants. 2. ed. Boca Raton: **CRC Press**, 1992.

KHAN, A.G.; KUEK, C.; CHAUDHRY, T. U.; KHOO, C. S.; HAYES, W. J. Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. **Chemosphere**, v. 41, p.197-207, 2000.

KOPPITKE, P. M.; ASHER, C. J.; KOPPITKE, R. A.; MENZIES, N. W. Toxic effects of Pb²⁺ on growth of cowpea (*Vigna unguiculata*). **Environmental Pollution**, v. 150, n. 2, p. 280-287, 2007.

KUNO, R. **Avaliação da poluição ambiental causada por particulado de chumbo emitido por uma reformadora de baterias na cidade do Rio de Janeiro**. 2009. Tese (Doutorado em Ciências). Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo. 2009.

KRZESŁOWSKA, M.; LENARTOWSKA, M.; MELLEROWICZ, E. J.; SAMARDAKIEWICZ, S.; WOZNY, A. Pectinous cell wall thickenings formation—a response

of moss protonemata cells to lead. **Environmental and Experimental Botany**, v. 65, n. 1, p. 119–131, 2009.

LAMEGO, F. P.; VIDAL, R. A. Fitorremediação: plantas como agentes de despoluição? **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 17, p. 9-18, 2007.

LIU, P.; ZHAO, H. J.; WANG, L. L.; LIU, Z. H.; WEI, J. L.; WANG, Y. Q.; JIANG, L.H.; DONG, L.; ZHANG, Y. F. Analysis of heavy metal sources for vegetable soils from Shandong Province, China. **Agricultural Sciences in China**, v. 10, n. 1, p.109-119, 2011.

LOURENCO, R. W.; LANDIM, P. M. B. Public health risk maps using geostatistical methods. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 21, n. 1, p. 150-160, 2005.

MANTOVANI, D. M. B. Contaminantes inorgânicos na cadeia produtiva do pescado. In: Simpósio de Controle do pescado: Qualidade e sustentabilidade, p. 13-17, 2005.

MAESTRI, E.; MARMIROLI, M.; VISIOLI, G.; MARMIROLI, N. Metal tolerance and hyperaccumulation: costs and trade-offs between traits and environment. **Environmental Experimental Botany**, v. 68, n. 1, p. 1–13, 2010.

MALECKA, A.; PIECHALAK, A.; MORKUNAS, I. Accumulation of lead in root cells of *Pisum sativum*. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 30, n. 5, p. 629–637, 2008.

MAPELI, N.C.; VIEIRA, M.C.; HEREDIA Z.N.A.; SIQUEIRA, J.M. Produção de biomassa e de óleo essencial dos capítulos florais da camomila em função de nitrogênio e fósforo. **Horticultura Brasileira**, v.23, p.32-37, 2005.

MARTINS, C. A. S.; NOGUEIRA, N. O.; RIBEIRO, P. H.; RIGO, M. M.; CANDIDO, A. O. A dinâmica de metais-traço no solo. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 17, n. 3-4, p. 383-391, 2011.

McDOWELL, L. R.; CONRAD, J. H.; HEMBRY, F. G. Minerals for grazing ruminants in tropical regions. 2 ed. Gainesville: University of Flórida, 1993.

MEERS, W. E.; HOOPGOOD, M.; LESAGE, E.; VERVAEKE, P.; TACK, F. M. G.; VERLOO, M. G. Enhanced phytoextraction: In search of EDTA alternatives. **International Journal Phytoremediation**, v. 6, n. 2, p. 95-109, 2004.

MENDES, A. M. S.; DUDA, G. P.; NASCIMENTO, C. W. A.; LIMA, J. A. G.; MEDEIROS, A. D. L. Acúmulo de metais pesados e alterações químicas em Cambissolo cultivado com meloeiro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 14, n. 8, p.791-796, 2010.

MENGEL, K.; KIRKBY, E. A. Principles of plant nutrition. 4 ed. Internacional Potash Institute, Berna, 1987.

MELO, E. E. C.; NASCIMENTO, C. W. A.; ACCIOLY, A. M. A.; SANTOS, A. C. Q. Phytoextraction and fractionation of heavy metals in soil after multiple applications of natural chelants. **Scientia Agrícola**, v. 65, n. 1, p.61-68, 2008.

MELO, E. E. C.; NASCIMENTO, C. W. A. & SANTOS, A. C. Q. Solubilidade, fracionamento e fitoextração de metais pesados após aplicação de agentes quelantes. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, n. 6, p.1051-1060, 2006.

MORAES, A. J. de. **Disponibilidade de nutrientes e metais pesados tóxicos em plantas medicinais cultivadas em solos de diferentes texturas e sob diferentes condições de adubações**. 2010. 90 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Estadual do Oeste do Paraná. 2010.

MORALES, R. G. F.; SANTOS, I.; TOMAZELI, V. N. Influência da nutrição mineral foliar sobre doenças da parte aérea da cultura do trigo. **Revista Ceres**, v. 59, n.1, p. 71-76, 2012.

NEDELKOSKA, T. V.; DORAN, P. M. Characteristics of heavy metal uptake by plant species with potential for phytoremediation and phytomining. **Mineral Engineering**, v. 13, n. 5, p.549-561, 2000.

OLIVEIRA, O. R.; TERAQ, D.; CARVALHO, A. C. P. P.; INNECCO, R.; ALBUQUERQUE, C. C. Efeito de óleos essenciais de plantas do gênero *Lippia* sobre fungos contaminantes encontrados na micropropagação de plantas. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 39, n. 01, p. 94-100, 2008.

OLIVEIRA, D. R.; LEITÃO, G. G.; BIZZO, H. R.; LOPES, D.; ALVIANO, D. S.; ALVIANO, C. S.; LEITÃO, S. G. Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia origanoides* H.B.K. **Food Chemistry**, v. 101, p. 236–240, 2007.

Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação. FAO. How to feed the world 2050. High Level Expert Forum. Disponível em: <http://www.fao.org/fileadmin/templates/wsfs/docs/Issues_papers/HLEF2050_Global_Agriculture.pdf> Acesso em: 02 nov 2015.

PAULA, S. M. DE. **Qualidade da água do Rio Dourados-MS – Parâmetros Físico-Químicos, Microbiológicos e Higiênico Sanitários**. 2011. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Fundação Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados -MT, 2011.

PEREIRA, B. F. F.; ABREU, C. A.; HERPIN, U.; ABREU, M. F.; BERTON, R. S. Phytoremediation of lead by jack beans on a Rhodic Hapludox amended with EDTA. **Scientia Agrícola**, v. 67, n. 3, p. 308-318, 2010.

PEREIRA, A. C. R. L.; OLIVEIRA, J. V.; GONDIM-JUNIOR, M. G. C.; CÂMARA, C.A.G. Atividade inseticida de óleos essenciais e fixos sobre *Callosobruchus maculatus* (FABRI., 1775) (Coleoptera: *Bruchidea*) em grãos de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) WALP. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n.3, p. 717-724, 2008.

PEREIRA, B. F. F. **Potencial fitorremediador das culturas de feijão-de-porco, girassol e milho cultivadas em latossolo vermelho contaminado com chumbo**. 2005. 68 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) - Instituto Agrônomo de Campinas. Campinas, 2005.

PEUKE, A. D.; RENNENBERG, H. *Phytoremediation*, **EMBO Reports**, v. 6, p. 497-501, 2005.

PILON-SMITS, E. Phytoremediation. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 56, p. 15-39, 2005.

PIRES, F. R.; SOUZA, C. M.; CECON, P. R.; SANTOS, J. B.; TÔTOLA, M. R.; PROCÓPIO, S. O.; SILVA, A. A.; SILVA, C. S. W. Inferências sobre atividade rizosférica de espécies com potencial para fitorremediação do herbicida tebuthiuron. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, p. 627-634, 2005.

PRUVOT, C.; DOUAY, F.; HERVE, F.; WATERLOT, C. Heavy metals in soil, crops and grass as a source of human exposure in the former mining areas. **Journal of Soils and Sediments**, v. 6, n. 4, p. 215-220, 2006.

QUARTACCI, M. F.; IRTELLI, B.; BAKER, A. J. M.; NAVARI-IZZO, F. The use of NTA and EDDS for enhanced phytoextraction of metals from multiply contaminated soil by *Brassica carinata*. **Chemosphere**, v. 68, p.1920-1928, 2007.

QUITÉRIO, S. L.; MOREIRA, F. R.; SILVA, C. R. S.; ARBILLA, G.; ARAÚJO, U. C.; MATTOS, R. C. O. da C. Avaliação da poluição ambiental causada por particulado de chumbo emitido por uma reformadora de baterias na cidade do Rio de Janeiro. **Cadernos de Saúde Pública**. Rio de Janeiro, v. 22, n. 9, 2006.

RAGAGNIN, R. C. G.; ALBUQUERQUE, C. C.; OLIVEIRA, F. F. M.; SANTOS, R. G.; GURGEL, E. P.; DINIZ, J. C.; ROCHA, S. A. S.; VIANA, F. A. Effect of salt stress on the growth of *Lippia gracilis* Schauer and on the quality of its essential oil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 28, n. 3, p. 346-351, 2014.

RASKIN, I.; ENSLEY, B. Phytoremediation of toxic metals - using plants to clean up the environment. **Plan Science**, v. 160, p. 1073 – 1075, 2000.

RIBEIRO, E. V.; MAGALHÃES-JUNIOR, A. P.; HORN, A. H.; TRINDADE, W. M. Metais pesados e qualidade da água do Rio São Francisco no segmento entre Três Marias e Pirapora - Mg: índice de contaminação. **Geonomos**, v. 20, n. 1, p. 49-63, 2012.

ROMEIRO, S.; LAGÔA, A. M. M. A.; FURLANI, P. R.; ABREU, C. A.; PEREIRA, B. F. F. Absorção de chumbo e potencial de fitorremediação de *Canavalia ensiformes* L. **Bragantia**, v. 66, n. 2, p. 327-334, 2007.

ROMEIRO, S.; LAGÔA, A. M. M. A.; FURLANI, P. R.; ABREU, C. A.; ABREU, M. F.; ERISMAN, N. M. Potencial fitoextrator de *Ricinus communis* L. para chumbo. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 4, 2006.

SAIRAM, R.K.; TYAGI, A. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. **Current Science** **86**, v. 3, p. 407-421. 2004.

SALVIANO, A. M.; DUDA, G. P.; LIMA, J. A. G.; HOLANDA, J. S. de; AMORIM, L. B.; PAZ, K. K. R. Teores de metais pesados na água subterrânea utilizada para irrigação no município de Baraúna-RN. In: Congresso Nacional de Irrigação e Drenagem, Simpósio

Internacional de Uso das Águas Subterrâneas em Irrigação. 15, 2005, Teresina. **Anais...** Teresina: ABID; Governo do Estado do Piauí; Embrapa meio Norte; DNOCS; CODEVASF, 2005. CD Rom.

SANTOS, E. A.; SANTOS, J. B.; FERREIRA, L. R.; COSTA, M. D.; SILVA, A. A. Fitoestimulação por *Stizolobium aterrimum* como processo de remediação de solo contaminado com trifloxysulfuronsodium. **Planta Daninha**, v. 25, n. 2, p. 259-265, 2007.

SCHNOOR, J. L. Phytoremediation of soil and groundwater: **Technology evaluation report**. Technologies Analysis Center, 2002.

SETH, C. S. A review on mechanisms of plant tolerance and role of transgenic plants in environmental clean-up. **Botanical Review**, v. 78, n. 1, 2011.

SHARMA, P.; DUBEY, R. S. Lead toxicity in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 17, n.1, p. 35–52, 2005.

SHEN, Z. G.; LI, X. D.; WANG, C. C.; CHEN, H. M.; CHUA, H. Lead phytoextraction from contaminated soil with high-biomass plant species. **Journal of Environmental Quality**, v.31, p.1893-1900, 2002.

SHRIVER, D. F.; ATKINS, P. W. **Química inorgânica**. 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2008. 816p.

SILVA, W. J.; DÓRIA, G. A.; MAIA, R. T.; NUNES, R. S.; CARVALHO, G. A.; BLANK, A. F.; ALVES, P. B.; MARÇAL, R. M.; CAVALCANTI, S. C. Effects of essential oils on *Aedes aegypti* larvae: Alternatives to environmentally safe insecticides. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 8, p. 3251-3255, 2008.

SILVA, N. A.; OLIVEIRA, F. F.; COSTA, L. C. B.; BIZZO, H. R.; OLIVEIRA, R. A. Caracterização química do óleo essencial da erva cidreira (*Lippia alba* (Mill.) N. E. Br.) cultivada em Ilhéus na Bahia. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 8, n. 3, p. 52-55, 2006.

SOUZA, E. P.; SILVA, I. F.; FERREIRA, L. E. Mecanismos de tolerância a estresses por metais pesados em plantas. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 17, n. 4, p.167-173, 2011.

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

TAN, K. H. **Environmental Soil Science**. 2nd. ed. New York: M. Dekker, 2000. 452 p.

TERRY, N.; BAÑUELOS, G. S. Phytoremediation of contaminated soil and water. **Boca Raton**: Lewis, 2000. 389 p.

USEPA. **Introduction to phytoremediation**: EPA/600/R-99/107. Cincinnati: National Risk Management Research Laboratory, 2000.

VASCONCELLOS, M. C.; PAGLIUSO, D.; SOTOMAIOR, V. S. Fitorremediação: Uma proposta de descontaminação do solo. **Estudos de Biologia, Ambiente Diversos**, v. 34, n. 83, p. 261-267, 2012.

VASSIL, A. D.; KAPULNIK, Y.; RASKIN, I.; SALT, D. E. The role of EDTA in lead transport in accumulation by Indian Mustard. **Plant Physiology**, v. 117, n. 2, p. 447-453, 1998.

VÍTEK, T.; SPURNÝ, P.; MARES, J.; ZIKOVA, A. Heavy metal contamination of the Loucka River water ecosystem. **Acta Veterinaria Brno**, v. 76, p. 149-154, 2007.

ZAIER, H.; GHNAYA, T.; REJEB, K. B.; LAKHDAR, A.; REJEB, S.; JEMAL, F. Effects of EDTA on phytoextraction of heavy metals (Zn, Mn and Pb) from sludge-amended soil with *Brassica napus*. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 11, p. 3978–3983, 2010.

ZEITOUNI, Carolina Freitas. **Eficiência de espécies vegetais como fitoextratoras de cádmio, chumbo, cobre, níquel e zinco de um Latossolo Vermelho Amarelo distrófico**. 2003. 91 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agronômico de Campinas. Campinas, 2003.

WU, L. H.; LUO, Y. M.; XING, X. R.; CHRISTIE, P. EDTA enhanced phytoremediation of heavy metal contaminated soil with Indian mustard and associated potential leaching risk. **Agriculture Ecosystems & Environment**, v. 102, n. 3, p. 307-318, 2004.

5. Capítulo II: Absorção de chumbo e potencial fitoextrator de *Lippia gracilis* Schauer

Lead absorption and fitoextrator potential of *Lippia gracilis* Schauer

Artigo submetido a Revista Ciência Agronômica em março de 2016

5. 1 RESUMO - O chumbo (Pb) é um metal pesado que devido à sua persistência no meio e seus efeitos deletérios, precisa ser estudado. A fitorremediação é um processo eficiente e de baixo custo para o tratamento de solos contaminados por metais pesados. Espécies vegetais hiperacumuladoras de metais podem ser utilizadas nesse processo. Este estudo teve como objetivo avaliar a absorção do chumbo e o potencial fitoextrator da *Lippia gracilis* S. O desenho experimental foi o de blocos casualizados em esquema fatorial (4 x 2), com três repetições. Os tratamentos foram doses crescentes de Pb (0,0; 200; 550 e 900 mg de Pb Kg⁻¹) na presença de EDTA e na ausência de EDTA, com duas aplicações durante 30 dias. O chumbo ficou acumulado nas folhas e nas raízes, sendo nestas as maiores concentrações. Na última dose de Pb (900 mg.kg⁻¹ de solo) o FT foi igual a 1,64, indicando eficiência na translocação do metal pesado das raízes para a parte aérea. Não houve interferência negativa na produção do óleo essencial de *Lippia gracilis* sob a influência do chumbo e do EDTA. Através dos resultados obtidos, há fortes indicações de que a espécie acumula chumbo nas folhas e nas raízes, demonstrando tolerância às doses avaliadas nesse trabalho.

Palavras-chave: Metal pesado. Fitorremediação. EDTA.

5.2 ABSTRACT - Lead (Pb) is a heavy metal that due to its persistence in the environment and its deleterious effects needs to be studied. Phytoremediation is an efficient and low cost process for the treatment of soils contaminated by heavy metals. The metal hyperaccumulator vegetal species may be used in this process. This study aimed to evaluate the lead absorption and phytoextractor potential of *Lippia gracilis* S. The experimental design was of randomized blocks in a factorial scheme (4 x 2), with three repetitions. The treatments were Pb increasing levels (0,0; 200; 550 Pb and 900 mg kg⁻¹) in the presence and absence of EDTA with two applications for 30 days. The lead remained accumulated in leaves and roots being in these the highest concentrations. In the last Pb level (900 mg.kg⁻¹ soil) the FT was equal to 1.64, indicating efficiency in the translocation of the heavy metal of the roots to the aerial part. There was no negative interference in *Lippia gracilis* essential oil production under the influence of lead and EDTA. Through the obtained results, there are strong indications that the specie accumulates lead in leaves and roots demonstrating tolerance to the evaluated doses

Key words: Heavy metal. Phytoremediation. EDTA.

5.3 INTRODUÇÃO

O chumbo (Pb) é um elemento químico potencialmente tóxico que pode afetar homens, animais, plantas e solos. Em pequenas quantidades pode causar problemas na saúde humana, sendo primeiramente acumulado em tecidos moles e, posteriormente, nos ossos, além de afetar o sistema nervoso central, cardiovascular, reprodutivo e endócrino (GONÇALVES et al., 2012).

O Pb é um metal pesado, não essencial, que apesar de sua toxicidade, apresenta uma gama de utilidades, desde a aplicação como protetor radiológico até uso em baterias automotivas e balanceamento dos pneus (BOCCHIET et al., 2000). De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) NBR 10.004, o chumbo é um constituinte perigoso com característica de periculosidade tóxica. Nos solos, a presença dos metais pesados é encontrada em condições naturais e não oferece riscos ao meio ambiente. No entanto, com o aumento da demanda populacional, as necessidades diárias acabam adicionando ao solo materiais que contém esses elementos, comprometendo a qualidade do ecossistema (KABATA-PENDIAS e PENDIAS, 2001).

Neste sentido, solos contaminados por chumbo precisam ser tratados para permitir a sustentabilidade agroecológica e trazer benefícios humanos (BHARGAVA et al., 2012). Na busca de alternativas para despoluir áreas contaminadas, tem-se optado por soluções que agreguem eficiência na descontaminação, facilidade na execução, menor custo e tempo no processo (PIRES et al., 2003). Nesse contexto, surge o interesse pela fitorremediação, que, de acordo com Accioly e Siqueira (2000), envolve o emprego de plantas, sua microbiota associada e de amenizantes (corretivos, fertilizantes, matéria orgânica etc.) do solo. Estes elementos aliados às práticas agrônômicas removem, imobilizam ou tornam os contaminantes inofensivos ao ecossistema. No entanto, uma das limitações da fitoextração deve-se à baixa disponibilidade desses elementos no solo.

Assim, autores como Shen et al. (2002) têm sugerido a utilização de agentes quelantes que podem desorver o metal da matriz do solo para formar complexo solúvel na solução do solo e favorecer o transporte dos metais para a parte aérea. O ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA) tem sido amplamente utilizado, e conforme trabalho de Lee e Sung (2014) este agente se mostrou eficiente para fitorremediação de solo contaminado com metais. Trabalho realizado por Sá et al. (2014) com *Mentha crispata* comprova a tolerância de plantas medicinais ao Pb. Estudos sobre fitorremediação nas condições brasileiras precisam ser intensificados, avaliando-se a tolerância e adaptação de espécies aos níveis crescentes de contaminação de Pb sob influência do agente quelante EDTA (PEREIRA, 2005).

Há espécies encontradas na Caatinga que possuem diversas potencialidades medicinais e dentre estas, *Lippia gracilis* (Verbenaceae) se destaca por produzir óleo essencial com atividade antimicrobiana comprovada (ALBUQUERQUE et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2008; BITU et al., 2012). O rendimento de óleos essenciais pode ser aumentado por estresses bióticos ou abióticos e nesse contexto, o estresse causado pelo metal pesado pode contribuir para o incremento de óleos essenciais. Além de produzir óleo de interesse econômico para as indústrias farmacêuticas e de cosméticos e de ser adaptada às condições da Caatinga, *L. gracilis* já foi utilizada em trabalhos de fitorremediação de Na⁺ em solos salinizados, comprovando sua tolerância e provável capacidade de extrair do ambiente o sódio em excesso (RAGAGNIN et al., 2014). Portanto, diante desse cenário, faz-se importante avaliar se a referida espécie poderá ser utilizada nos trabalhos de fitorremediação do chumbo. Sendo assim, esse trabalho teve como objetivo analisar o potencial fitorremediador de *L. gracilis* em solos contaminados com chumbo.

5. 4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na casa de vegetação da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte (UERN) durante o período de novembro de 2014 a fevereiro de 2015. As estacas de *L. gracilis* mediram aproximadamente 20 cm de comprimento e 1,20 mm de diâmetro e foram plantadas em sacos de polietileno com capacidade para 2L. O substrato foi obtido a partir de uma camada superficial do solo natural proveniente da área onde as estacas foram coletadas, com profundidade de solo entre 0 a 30 cm. Este solo foi seco, peneirado e misturado na proporção de 1:3:1 (v:v) com areia lavada e substrato comercial Topstrato HT®, respectivamente. O estabelecimento das estacas durou 31 dias e antes do transplântio, foi quantificada a quantidade de água necessária para saturar o solo em um vaso de 20L (capacidade de vaso), chegando-se ao valor de 1L de água por vaso/dia, com rega diária.

Após o transplântio, as plantas foram regadas semanalmente com solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) e com a solução modificada com chumbo as regas foram quinzenais. A fonte de chumbo foi o acetato de chumbo trihidratado $(PbCH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$, aplicado nas doses: 0,0; 200; 550 e 900 mg kg⁻¹ a cada 15 dias, ou seja, foram realizadas 02 aplicações no solo. O agente quelante utilizado foi o etilenodiaminotetraacetato dissódico (EDTA DISSÓDICO). Os tratamentos com EDTA foram misturados ao acetato de chumbo na proporção de 1:1 e nas plantas controles foram adicionadas 97 g de EDTA DISSÓDICO. O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial (4 x 2), com três repetições. O primeiro fator foi equivalente as doses crescentes de Pb (0,0; 200; 550 e 900 mg de Pb Kg⁻¹) e o segundo, à presença ou ausência de EDTA, perfazendo 8 tratamentos.

Após 30 dias, as variáveis analisadas foram: fitomassa seca de parte aérea (FSA) e radicular (FSR) – medida a partir do peso individual de cada tratamento para folhas e raízes (g); a área foliar (AF) unitária que foi determinada através da leitura em medidor a laser portátil (CI-202, CID Bio-Science Inc., Camas, Wa, USA), utilizando-se 10 folhas por tratamento; o

teor relativo de água (TRA), calculado segundo Costa (2010) com modificações. Foram retirados discos foliares de três folhas saudáveis por tratamento (entre a 4ª e 10ª folha) a partir do ápice do maior ramo, em seguida os discos foram pesados para determinação do peso fresco (M_f), logo após colocados em placa de Petri forradas com papel de filtro embebido com 3 mL de água destilada, onde permaneceram por 24 horas no escuro em câmara incubadora tipo BOD. Decorrido esse período, os discos foram novamente pesados para determinação do peso túrgido (M_t) e em seguida foram inseridos em papel tipo kraft e submetidas a 70°C em estufa até atingir peso constante, para obtenção do peso seco (M_s). O TRA foi obtido a partir de: (Equação 1)

$$\text{TRA (\%)} = \frac{M_f - M_s}{M_t - M_s} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

As amostras de tecidos foliar e radicular foram submetidas ao processo de digestão úmida com ácido nítrico/peróxido de hidrogênio (PLANCK, 1992). Em seguida, as concentrações de Pb nos referidos tecidos foram determinadas por espectrofotometria de absorção atômica por chama (FAAS) (modelo SpectraAA-50, Varian Inc., Palo Alto, CA, USA), adotando-se um comprimento de onda de 217 nm. O fator de translocação (FT%) foi adquirido por meio da razão das concentrações de chumbo contidas na parte aérea [Pb]_{PA} e no sistema radicular [Pb]_{SR}, dos respectivos tratamentos. O Fator de bioacumulação (F.B.) foi verificado utilizando-se a razão da [Pb] na planta pela [Pb] no solo. Essas duas variáveis foram estimadas utilizando-se as Equações 2 e 3, respectivamente:

$$\text{F. T.} = \frac{[Pb]_{PA}}{[Pb]_{SR}} \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

$$\text{F. B.} = \frac{[Pb]_{planta}}{[Pb]_{solo}} \quad (\text{Equação 3})$$

O teor do óleo essencial foi quantificado por meio da biomassa seca das folhas processadas pela hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado, consistindo na razão massa do óleo pela FSF (x 100), conforme Equação 4.

$$T.O = \frac{\text{massa (óleo)}_g}{FSF} \times 100 \quad (\text{Equação 4})$$

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de significância pelo software Assistat® versão 7.7.

5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

a) Análises de crescimento:

Fitomassa foliar e radicular

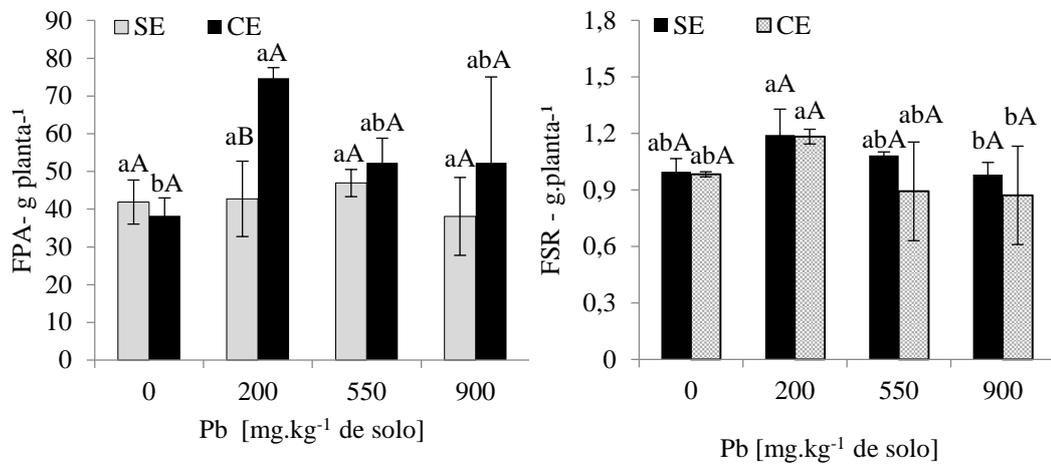
A FPA (folhas + caule) em plantas de *L. gracilis* foi significativamente afetada para os fatores concentrações de Pb ($F_{7,16} = 3,5525$; $p < 0,0383$) e EDTA ($F_{7,16} = 8,1652$; $p < 0,0114$), bem como sua interação ($F_{7,16} = 3,2859$; $p < 0,048$). A produção foi superior quando as plantas receberam a dose de 200 mg kg⁻¹ de solo de Pb na presença do EDTA, quando comparadas com as plantas controle (Gráfico 1a). Essa dose, juntamente com o EDTA, promoveu um maior acúmulo de FPA, demonstrando que o Pb não afetou a sua produção, mesmo na presença do EDTA. Observou-se ainda que nos tratamentos com doses superiores a 200 mg kg⁻¹ e com EDTA, a fitomassa foi semelhante ao controle, levando-nos a crer que o estresse não influenciou negativamente na produção da parte aérea. Portanto, essas doses não foram fitotóxicas. As concentrações de chumbo na ausência do EDTA também não interferiram na produção de biomassa. Nesse caso, a ausência de EDTA talvez tenha dificultado a absorção do Pb e a produção de biomassa nos tratamentos com o metal foi semelhante ao controle.

As plantas podem desenvolver mecanismos de tolerância que as tornam adaptadas ao estresse por metais pesados, especificamente a compartimentalização, que pode ser no vacúolo, onde são ligados por ácidos orgânicos, ou em paredes celulares (CARRIER et al., 2003; TAIZ; ZEIGER, 2009). Essa tolerância pressupõe a possível indicação da referida espécie como fitoextratora. Lima et al. (2013) obtiveram resultado semelhante com plantas de *Brassica oleracea* sob os efeitos do Pb. Os autores observaram que a produção da biomassa, não foi afetada em nenhum dos órgãos (raiz, caule, folha e partes comestíveis) em solo contaminado pelo metal. Isso demonstra que *Brassica oleracea* é menos sensível aos efeitos adversos do Pb, corroborando com a informação de que o Pb afeta as espécies vegetais de forma diferenciada (HUSSAIN et al., 2006). Mesmo o Pb sendo um metal fitotóxico, há espécies vegetais que se

desenvolvem em solos contaminados sem apresentar redução no rendimento da matéria seca (HONG et al., 2008).

A produção de fitomassa seca nas raízes (FSR) foi significativa a 5% com relação ao fator concentração de Pb ($F_{7,16} = 3,7182$; $p < 0,0334$), não havendo nenhuma diferença com relação ao fator agente quelante (Gráfico 1b). Os resultados indicam que a dose 200 mg kg^{-1} de Pb no solo estimulou em aproximadamente 19% o acúmulo da fitomassa quando comparada ao tratamento controle e esse incremento na produção também foi observada na parte aérea. As doses superiores evidenciaram uma discreta diminuição da média total na produção da fitomassa. No entanto, não se diferenciaram do tratamento controle. Esse declínio, provavelmente, foi devido à elevada dose do metal aplicada no solo, desenvolvendo na planta um possível mecanismo de compartimentalização do metal na raiz, inibindo os efeitos do Pb no processo de divisão celular do meristema da raiz (EUN et al., 2000). Resultado similar foi verificado em cenoura e quiabo, onde houve redução significativa na produção de matéria seca das raízes em resposta às doses crescentes de Pb aplicadas no solo (MERWE et al., 2009). Segundo os autores, essa diminuição pode ser atribuída à redução da respiração, alterações na fotossíntese, e no metabolismo do nitrogênio causados pelo excesso de Pb na planta. No estudo de Cannata (2011) com plantas de feijoeiro, cultivadas em solução nutritiva e em solos, verificou que doses crescentes de Pb e Cd também proporcionaram reduzida produção de matéria seca das raízes e parte aérea. O Pb absorvido, provavelmente acumulou-se nas paredes celulares, notadamente das raízes, e de acordo com Fanquin (2005) esse fato contribui para diminuir o efeito tóxico do metal para a planta, no entanto, em função do gasto energético para compartimentalização do elemento, há redução de crescimento. Esse mecanismo aparentemente explica o “efeito benéfico” de doses de Pb para as plantas, conforme dados desta pesquisa.

Gráfico 1: (a) Fitomassa parte aérea e (b) Fitomassa seca radicular em plantas de *Lippia gracilis* S. submetidas a diferentes doses de Pb na ausência e na presença de EDTA, Mossoró, RN, 2015. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem a 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.



Área foliar

A área foliar das plantas de *L. gracilis* submetidas às doses crescentes de chumbo na presença e ausência do agente quelante EDTA não diferenciou-se estatisticamente do tratamento controle (Tabela 2).

Tabela 2 – Área foliar em cm² (média ± desvio padrão, mg kg⁻¹) de *Lippia gracilis* S. sem EDTA e com EDTA durante 30 dias, Mossoró, RN, 2015.

Quelante	Doses de chumbo (mg.kg ⁻¹ de solo)				Total
	0	200	550	900	
Sem EDTA	3,05 aa ± 0,88	3,39 aa ± 0,66	3,30 aa ± 0,27	2,72 aa ± 0,61	3,11
Com EDTA	3,33 aa ± 0,24	3,66 aa ± 0,32	3,19 aa ± 1,13	3,73 aa ± 0,59	3,47
Total	3,19	3,52	3,24	3,22	

CV_{30 dias} = 20,01. As médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si. Aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

¹Dados transformados por $x = \sqrt{x}$.

²Médias ± desvio padrão.

No entanto, durante o experimento, evidenciou-se encurtamento internodal (dados não disponíveis) das plantas com doses de chumbo mais elevadas. Esse comportamento pode estar relacionado à produção massiva de folhas, no intuito de aumentar o crescimento vegetativo para compartimentalização do metal, produção de metabólitos de defesa contra tal estresse e distúrbios nutricionais gerados por deficiência de elementos minerais essenciais. No estudo de Voltan et al. (1998) verificaram que plantas de café infectadas com bactéria *Xylella fastidiosa* mediante tal estresse biótico, também apresentaram o mesmo comportamento

observado nesse trabalho, ou seja, ramos com entrenós mais curtos quando comparados com os daquelas sem sintoma, possivelmente devido a distúrbios fisiológicos ou esgotamento nutricional, além de outros fatores de estresse. Em plantas de ameixeira a deficiência de zinco pode causar encurtamento dos entrenós e, em casos mais severos, estes se tornam tão curtos, que há a formação de rosetas (CASTRO; FREIRE; MATTOS, 2016).

Em condições de estresse por metais pesados, as plantas podem adquirir tolerância devido ao desenvolvimento de mecanismos que as tornam adaptadas a este tipo de estresse, e essas respostas podem variar amplamente, dependendo das características intrínsecas da espécie, do elemento responsável pelo estresse, assim como das condições ambientais (SOUZA et al., 2011). ALVES et al. (2008) avaliaram em plantas de vetiver (*Vetiveria zizanioides* (L.) Nash), jureminha (*Desmanthus virgatus* (L.) Willd) e algaroba (*Prosopis juliflora* (SW) DC) a tolerância, absorção e distribuição do elemento Pb e observaram que os maiores teores desse metal foram compartimentalizados nas raízes, em comparação com a parte aérea. O acúmulo de Pb na raiz está relacionado com a alta afinidade desse elemento pelas cargas negativas, resultantes da dissociação dos grupos carboxílicos dos ácidos galacturônico e glucurônico da parede celular das células dos tecidos radiculares, principalmente, rizoderme e córtex, além da função de barreira fisiológica das estrias de Caspary e plasmalema das células da endoderme, mecanismos que restringem o acesso do Pb ao xilema, reduzindo sua translocação para a parte aérea (SEREGIN et al., 2004). Esse mecanismo serve de obstáculo para a translocação do metal pesado para a parte aérea. Assim, nesse trabalho, o principal mecanismo de defesa provavelmente se configurou na capacidade que a planta teve de translocar e compartimentalizar o metal na parte aérea, sem comprometer o seu desenvolvimento e nem a área foliar. Diferentemente desse resultado, Rossato (2010) analisando *P. sagittalis*, verificou que a área foliar foi reduzida quando as plantas foram expostas a concentrações crescentes de Pb, principalmente nas concentrações de 600 e 1000 μM .

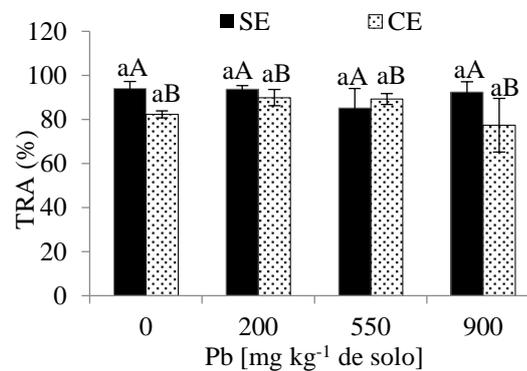
Teor relativo de água

As plantas, no geral, apresentaram sintomas visuais de toxicidade, notadamente naquelas com as maiores concentrações de chumbo e na presença do EDTA. No entanto, a capacidade de retenção de água pelo tecido, representada pelo TRA só foi influenciada pelo agente quelante ($F_{7,16} = 7,60$; $P < 0,01$) (Gráfico 2). Nas plantas submetidas às doses crescentes de chumbo na ausência do EDTA constatou-se percentual maior que 80% (Gráfico 2), evidenciando que o estresse causado pelo metal pesado não interferiu na manutenção do nível de água ideal para a realização das atividades metabólicas. Situação semelhante foi verificada em plantas de *Batis marítima* L. quando submetidas a doses crescentes de Pb na ausência do EDTA (BATISTA, 2015). Por outro lado, quando plantas de *L. gracilis* foram submetidas às doses de chumbo na presença do EDTA, verificou-se que os valores de TRA foram menores (Gráfico 2). Como o Pb é absorvido com mais facilidade na presença do quelante, os tratamentos que continham EDTA tornaram mais evidente a influência do Pb no balanço hídrico. Segundo Sharma e Dubey (2005), o metal se liga às proteínas dos canais de água e íons causando obstrução física do fluxo de água, promovendo alteração no balanço hídrico da planta. Assim, o Pb complexado com o EDTA foi a forma que mais afetou o balanço hídrico. Durante a condução do experimento, isso foi comprovado na prática no momento em que plantas com Pb e EDTA precisavam de mais regas.

É importante destacar que o decréscimo de fitomassa seca evidenciado nos tratamentos com maiores níveis de chumbo (Gráfico 1) pode estar relacionado à redução do TRA. Quando ocorre redução na absorção de água pela planta, em geral, há fechamento estomático para diminuição da perda de água pelas folhas no processo de transpiração. Essa medida que é providencial contra o estresse hídrico, impede a entrada de CO_2 , comprometendo a fotossíntese, e conseqüentemente, a produção de fitomassa. Embora a transpiração não tenha sido quantificada nesse trabalho, a redução de biomassa e TRA pode estar estreitamente relacionada

ao fechamento estomático para diminuição da transpiração. Essa mesma situação foi verificada em plantas de *Brassica juncea* quando submetidas à adição de Pb e de EDTA, havendo um decréscimo imediato na transpiração em relação às plantas controle (VASSIL et al., 1998). Plantas de *P. Sagittalis* em condições de estresse por Pb também apresentaram menor taxa de transpiração que as plantas controle (ROSSATO, 2010).

Gráfico 2: Teor Relativo de Água em plantas de *L. gracilis* S. submetidas a diferentes doses de Pb na ausência e na presença de EDTA, Mossoró, RN, 2015. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem a 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.



Chumbo (Pb): folhas e raízes

No que diz respeito aos níveis de chumbo nas folhas de *L. gracilis*, verificou-se que todos os fatores estavam altamente correlacionados ($F_{7,16} = 102,17$; $p < 0,0001$) e ($F_{7,16} = 150,85$; $p < 0,0001$), além da interação entre eles ($F_{7,16} = 26,34$; $p < 0,0001$). De acordo com a Tabela 3, os teores de Pb nas folhas foram crescendo à medida que as doses de Pb foram acrescentadas na solução do solo em conjunto com o agente quelante. Na aplicação da terceira dose (550 mg.kg⁻¹ de Pb), observou-se que a maior média atingiu 59,40 mg.kg⁻¹ MS quando houve a interação máxima do metal com o agente quelante, diferindo significativamente do tratamento controle. Foi verificado visualmente que algumas plantas tratadas com 900 mg kg⁻¹ de Pb com EDTA desenvolveram os sintomas típicos de toxicidade (senescência das folhas velhas, murcha, manchas de coloração marrom). Esses sintomas não foram verificados nos tratamentos que receberam essa dose sem o EDTA. Esse resultado corrobora com o conceito que os metais pesados não são considerados tóxicos para a maioria das espécies vegetais que guardam valores

entre 5 e 10 mg kg⁻¹ de Pb na massa seca, porém entre 30 e 300 mg kg⁻¹ deste elemento graves efeitos de toxicidade são detectados (SHIKHOVA, 2012). O EDTA apresenta boa eficiência quando o metal a ser extraído possui biodisponibilidade inicialmente baixa, como no caso do Pb que possui baixa mobilidade. Os teores de metais pesados podem variar de acordo com a planta e com os órgãos afetados (LACATUSU e LACATUSU, 2008; STASINOS e ZABETAKIS, 2013).

Tabela 3- Concentrações de chumbo (média ± desvio padrão, mg kg⁻¹) em folhas de *Lippia gracilis* S. sem EDTA e com EDTA durante 30 dias, Mossoró, RN, 2015.

Quelante	Doses de chumbo (mg.kg ⁻¹ de solo)				Total
	0	200	550	900	
Sem EDTA	0,00bA± 0,00	14,15 aB ± 4,26	21,76 aB ± 6,41	18,50 aB ± 2,49	13,60
Com EDTA	3,38cA±5,86	23,13 bA ± 5,03	59,40 aA ± 4,82	56,31 aA ± 2,15	35,55
Total	1,69	18,64	40,58	37,4	

CV_{30 dias} = 17,81. As médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si. Aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

¹Dados transformados por $x=\sqrt{x}$.

²Médias ± desvio padrão.

Assim como os fatores se interagiram significativamente para o teor de Pb presente nas folhas, esse mesmo evento ocorreu nas raízes, ou seja, as concentrações de Pb ($F_{7,16} = 49,31$; $p < 0,0001$) e o fator EDTA ($F_{7,16} = 4,89$; $p < 0,04$), bem como sua interação ($F_{7,16} = 7,69$; $p < 0,002$) foram definidores no estabelecimento das médias encontradas. O teor mais expressivo de chumbo nas raízes foi verificado nos tratamentos com doses de 550 mg kg⁻¹ de Pb com EDTA, similar ao ocorrido nas folhas (Tabela 4). Na dose de 900 mg kg⁻¹ de Pb parece que a referida espécie vegetal ativou um mecanismo interno de auto-regulação através do qual a planta se ajustou em virtude do estresse abiótico sofrido. Trabalhando com plantas de *P. sagittalis* Rossato (2010) também observou que exposições elevadas de chumbo podem levar a um notável aumento na concentração desse metal nos tecidos de raízes e parte aérea.

Na tentativa de se manter em equilíbrio, a planta ativa mecanismos para compartimentalizar o metal a fim de que o mesmo não seja absorvido ou não interaja com moléculas essenciais ao metabolismo da planta. O Pb se acumula preferencialmente nos espaços

intercelulares, parede celular e nos vacúolos e isso evita efeitos deletérios para a planta (SINGH et al., 1997; SHARMA e DUBEY, 2005). Por outro lado, apesar dessa habilidade, espécies vegetais apresentam pequenos depósitos de chumbo que podem ser encontrados no retículo endoplasmático, núcleo, cloroplastos, mitocôndrias e citoplasma, podendo interferir na homeostase celular, sendo este o motivo da toxicidade (SHARMA e DUBEY, 2005).

Tabela 4 – Concentrações de chumbo (média \pm desvio padrão, mg kg⁻¹) em raízes de *Lippia gracilis* S. sem EDTA e com EDTA durante 30 dias, Mossoró, RN, 2015.

Quelante	Doses de chumbo (mg.kg ⁻¹ de solo)				Total
	0	200	550	900	
Sem EDTA	4,67bA \pm 0,09	29,95 aA \pm 3,19	32,44 aB \pm 1,74	45,13 aA \pm 4,56	28,04
Com EDTA	1,00cA \pm 2,56	37,71 bA \pm 1,44	59,75 aA \pm 11,07	38,33 bA \pm 14,34	34,19
Total	2,83	33,83	46,09	41,73	

CV_{30 dias} = 21,89. As médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si. Aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

¹Dados transformados por $x = \sqrt{x}$.

²Médias \pm desvio padrão.

Fator de Translocação (FT)

O Fator de Translocação do Pb nas plantas de *L. gracilis* S. foi significativo para as doses de chumbo ($F_{7,16} = 14,49$; $p < 0,001$); para fator quelante ($F_{7,16} = 13,76$; $p < 0,001$) e para a interação entre os dois ($F_{7,16} = 5,47$; $p < 0,008$). Observou-se que a maior média foi encontrada nas plantas que continham EDTA na maior dose de Pb (900 mg.kg⁻¹ de solo) (Tabela 5). O FT > 1 indica eficiência na translocação do metal pesado contido nas raízes para a parte aérea (FAYIGA e MA, 2006; SHEORAN et al., 2011). No caso, o FT = 1,64 no tratamento com 900 mg kg⁻¹ de Pb (Tabela 5), presume que a planta foi eficiente em translocar o elemento do sistema radicular para o sistema foliar e esse fato é compatível com a quantidade de Pb que é superior nas raízes em relação à parte aérea nas plantas tratadas com a mesma dose do metal (Tabelas 3 e 4). Assim, *Lippia gracilis* nestas condições se mostrou promissora para novos estudos. Semelhantemente a esse resultado, Melo et al. (2009) verificaram que em plantas de azéveo os índices de translocação foram crescentes à medida que aumentavam as doses de arsênio.

Tabela 5 - Fator de Translocação (FT) de chumbo (médias^{1,2} e desvios padrões) em plantas de *Lippia gracilis* S. sem EDTA e com EDTA durante 30 dias, Mossoró, RN, 2015.

Quelante	Doses de chumbo (mg.kg ⁻¹ de solo)				Total
	0	200	550	900	
Sem EDTA	0,0bA ± 0	0,48 abA ± 0,17	0,67 aA ± 0,2	0,40 abB ± 0,05	0,38
Com EDTA	0,0cA ± 0	0,66 bcA ± 0,28	0,99 abA ± 0,07	1,64 aA ± 0,7	0,82
Total	0	0,57	0,83	1,02	

CV_{30 dias} = 47,21. As médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si. Aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

¹Dados transformados por $x=\sqrt{x}$.

²Médias ± desvio padrão.

Fator de Bioacumulação (FB)

O FB do Pb nas plantas de *L. gracilis* S. foi significativo para as doses de chumbo ($F_{7,16} = 42,8729$; $p < 0,0001$); para fator quelante ($F_{7,16} = 60,6319$; $p < 0,0001$) e para a interação entre os dois ($F_{7,16} = 9,9402$; $p < 0,0005$). O melhor resultado foi encontrado nas plantas submetidas à dose 550 mg.kg⁻¹ de Pb com EDTA, com FB igual a 4,37, diferindo da testemunha (Tabela 6).

No entanto, o menor FB acontece também nessa dose, porém sem EDTA.

Tabela 6 - Fator de Bioacumulação (FB) de chumbo (médias^{1,2} e desvios padrões) em plantas de *Lippia gracilis* S. sem EDTA e com EDTA durante 30 dias, Mossoró, RN, 2015.

Quelante	Doses de chumbo (mg.kg ⁻¹ de solo)				Total
	0	200	550	900	
Sem EDTA	0,0bA±0,0	1,52aB ±0,04	1,36aB ±0,26	1,58 aB ± 0,45	1,11
Com EDTA	0,00cA±0,0	2,90bA ± 1,03	4,37aA ± 0,38	3,29abA ± 0,59	2,64
Total	0	2,21	2,86	2,43	

CV_{30 dias} = 25,52. As médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si. Aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

¹Dados transformados por $x=\sqrt{x}$.

²Médias ± desvio padrão.

O $FB > 1$ sugere plantas acumuladoras (Ma et al., 2001). Rezvani e Zaefarian (2011), atestam que as plantas são hiperacumuladoras quando ambos os fatores de translocação e bioacumulação são maiores que 1. 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).

Sendo assim, a *L. gracilis* mostrou-se capaz de acumular Pb extraído do solo e armazenado no vegetal.

Óleo essencial de *L. gracilis*

Nesse trabalho verificou ainda que não houve interferência negativa na produção do óleo essencial de *L. gracilis*, sob a influência do chumbo e do EDTA. O impacto de doses crescentes de Pb e o favorecimento do seu acúmulo, por meio da adição do agente quelante não interferiram na produção do óleo (Tabela 7). Jezler et al. (2015) verificaram que em plantas de *Menta arvensis* submetidas a doses crescentes de Pb e Cd não tiveram o crescimento, o rendimento e a composição do óleo essencial afetados. Blagojevic et al. (2009) observaram que embora cultivadas a margens de estradas (a 50 e 100 m), situação em que as plantas são em geral contaminadas por metais pesados, o óleo essencial de plantas de *Salvia Officinalis* não apresentaram Pb e Cd. Plantas expostas ao estresse abiótico por metais pesados provocam mudanças na produção de metabólitos secundários, seja suprimindo ou estimulando (NASIM; DHIR, 2010).

Tabela 7 - Teor de Óleo (médias^{1,2} e desvios padrões) em plantas de *Lippia gracilis* S. sem EDTA e com EDTA durante 30 dias, Mossoró, RN, 2015.

Quelante	Doses de chumbo (mg.kg ⁻¹ de solo)				Total
	0	200	550	900	
Sem EDTA	1,02aA±0,25	0,96aA±0,05	0,82aA ±0,26	0,91aA±0,03	0,92
Com EDTA	1,08aA±0,08	0,98aA± 0,19	1,01aA ± 0,10	1,10aA±0,06	1,04
Total	1,05	0,97	0,91	1	

CV_{30 dias}=15,95. As médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si. Aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

¹ Dados transformados $X=1/\sqrt{X}$.

² Médias ± desvio padrão.

Como não houve alteração no teor do óleo essencial de *L. gracilis*, provavelmente o Pb em conjunto com o quelante não foram suficientes para alterar as rotas na produção de metabólitos secundários.

5.6 CONCLUSÕES

Áreas contaminadas com metais pesados precisam ser recuperadas para que sejam utilizadas conforme sua aptidão. Para tanto, a fitoextração tem sido sugerida como alternativa viável às práticas tradicionais de recuperação dessas áreas, em virtude dos menores custos de investimento e por ser menos impactante ao meio ambiente. A *L. gracilis*, encontrada na Caatinga, é uma planta medicinal que pouco se conhece sobre seu comportamento em solos contaminados.

Assim, nas condições em que o presente trabalho foi realizado, os resultados permitem concluir que:

1. *L. gracilis* mostrou-se tolerante às doses de chumbo avaliadas.
2. A fitomassa foliar foi superior quando submetida à dose de 200 mg.kg⁻¹ de Pb na presença do EDTA. A fitomassa radicular apresentou comportamento semelhante, não diferindo quanto ao agente quelante.
3. A área foliar não foi influenciada pelo estresse abiótico.
4. Os maiores teores relativos de água foram obtidos em plantas submetidas às doses crescentes de chumbo na ausência do EDTA.
5. O teor mais expressivo de Pb nas folhas foi verificado nas doses de 500 e 900 mg.kg⁻¹ de Pb na presença do quelante. E nas raízes, constatou-se que a dose de 900 mg.kg⁻¹ de Pb, juntamente com o EDTA, resultou em maior acúmulo do metal.
6. O FT > 1 foi encontrado na dose de 900 mg.kg⁻¹ de Pb, indicando eficiência na translocação do metal pesado em doses mais elevadas.
7. O FB >1 foi encontrado na dose de 550 mg.kg⁻¹ de Pb, indicando eficiência na transferência do metal extraído do solo para as raízes e folhas do vegetal.
8. O teor do óleo essencial da *L. gracilis* não foi influenciado pelas doses de chumbo estudadas na ausência e na presença de EDTA.

9. *L. gracilis* mostrou-se capaz de acumular Pb extraído do solo e armazenado no vegetal, sem haver alteração na produção do óleo, sinalizando a possibilidade de ser utilizada para programas de remediação de áreas contaminadas pelo Pb através da técnica de fitoextração.

5.7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Plantas silvestres ou nativas que se encontram localizadas em áreas contaminadas por elementos químicos, especificamente os metais pesados, devem ser avaliadas para entender suas contribuições ao meio ambiente. Poderão ser realizados experimentos em campo, utilizando diferentes concentrações de metais pesados, e até mesmo outros metais pesados letais para a saúde humana.

Os resultados apresentados nesse estudo demonstraram que a planta *L. gracilis* possui potencial de crescimento e tolerância a solos contaminados com Pb. Além disso, o rendimento do óleo essencial, que comprovadamente possui importância farmacológica, não foi afetado negativamente.

Sendo assim, sugere-se ainda que em trabalhos futuros seja determinada a composição química do óleo essencial para verificar se há presença do metal pesado ou não e quais os compostos que prevalecem quando a planta é submetida ao estresse abiótico provocado pela contaminação com chumbo.

5.8 REFERÊNCIAS

- ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V.; V. H.; SCHAEFER, C. E. G. R. **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. v. 1, p. 299-352
- ALBUQUERQUE, C. C.; CAMARA, T. R.; MARIANO, R. de L. R.; WILLADINO, L.; MARCELINO JUNIOR, C.; ULISSES, C. Antimicrobial Action of the Essential Oil of *Lippia gracilis* Schauer. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, n. 4, p. 527-535, 2006.
- ALI, H.; NASEER, M.; SAJAD, M. A. Phytoremediation of heavy metals by *Trifolium alexandrinum*. **International Journal Of Environmental Sciences**, v. 2, n. 3, p.1459-1469, 2012.
- ALVES, J. C.; SOUZA, A. P.; PÔRTO, M. L.; ARRUDA, J. A.; TOMPSON JÚNIOR, U. A.; SILVA, G. B.; ARAÚJO, R. C.; SANTOS, D. Absorção e distribuição de chumbo em plantas de vetiver, jureminha e algaroba. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, n.3, p.1329-1336, 2008.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT (NBR 10004). Resíduos sólidos-classificação. Rio de Janeiro, 2004. 71p.
- BATISTA, D. C. A. Comportamento fisiológico e bioquímico em plantas de *Batis maritima* (Bataceae) sob efeito de chumbo e seu potencial extrator. Dissertação (Mestrado em Ciências Naturais). Universidade do Estado do Rio Grande do Norte. 68p. 2015.
- BITU, V. et al. Phytochemical screening and antimicrobial activity of essencial oil from *Lippia gracilis*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 22, n.1, p. 69-75, 2012.
- BHARGAVA, A.; CARMONA, F. F.; BHARGAVA, M.; SRIVASTAVA, S. Approaches for enhanced phytoextraction of heavy metals. **Journal of Environmental Management**, v.105, n. 30, p. 103-120, 2012.

BOCCHIET, N.; FERRACIN, L. C.; BIAGGIO, S. R. Pilhas e Baterias: Funcionamento e Impacto Ambiental. **Química Nova Na Escola**, Santa Catarina, n. 11, p.3-9, 2000.

BLAGOJEVIC, N.; VRATNICA, B. D.; PESIC, V. V.; DUROVIC, D. Heavy Metals Content in Leaves and Extracts of Wild-Growing *Salvia Officinalis* from Montenegro. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 18, n. 2, p. 167-173, 2009.

CANNATA, M. G. **Efeitos de cádmio e chumbo no desenvolvimento de rúcula (*Eruca sativa* L.), rabanete (*Raphanus sativus* L.) e feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em solução nutritiva**. 2011. 211f. Tese (Doutorado em Agroquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2011.

CARRIER, P.; BARYLA, A.; HAVAUX, M. Cadmium distribution and microlocalization in oilseed rape (*Brassica napus*) after long-term growth on cadmiumcontaminated soil. **Planta Berlin**, v.216, n.6, p.939–950, 2003.

CASTRO, L. A. S. DE; FREIRE, C. J. DA S.; MATTOS, M. L. T. Sintomas deficiência em ameixa. Agência Embrapa de Informação Tecnológica (AGEITEC). Disponível em: <<https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/ameixa/arvore/CONT000gix2jq9302wx5ok05vadr1w2fzo4p.html>>. Acesso em: 20 jan 2016.

EUN S.O.; YOUN, H.S.; LEE, Y. Lead disturbs microtubule organization in the root meristem of *Zea mays*. **Physiologia Plantarum**, v. 110, p.357-365, 2000.

FAYIGA, A. O.; MA, L. Q. Using phosphate rock to immobilize metals in soil and increase arsenic uptake by hyperaccumulator *Pteris vittata*. **Science of The Total Environment**, v. 359, n. 1-3, p.17-25, 2006.

FANQUIM, V. Nutrição Mineral de Plantas. Lavras: UFLA / FAEPE, 2005. Curso de Pós-Graduação “Lato Sensu” (Especialização) a Distância: Solos e Meio Ambiente. 182 p. 2005.

- GONÇALVES, J. G.; VEIGA, M. A. M. S. V. Avaliação da bioacessibilidade de Platina (Pt) e Chumbo (Pb) em solos urbanos. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 35, 2012, Águas de Lindóia. Anais... Águas de Lindóia: RASBQ, 2012. p.
- HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. **California Agricultural Experimental Station**, n. 347, 1950.
- HONG, C. L.; JIA, Y. B.; YANG, X. E.; HE, Z. L.; STOFFELLA, P. J. Assessing lead thresholds for phytotoxicity and potential dietary toxicity in selected vegetable crops. **Bulletin Environmental Contamination and Toxicology**, v. 80, n. 4, p. 356-361, 2008.
- HUSSAIN, M.; LJAZ, S.; BIBI, M. Accumulation of nutrients and metal ions by two mung bean [*Vigna radiate* (L.) Wilczek] cultivars treated with copper and lead. **Bulletin Environmental Contamination and Toxicology**, v. 77, n. 4, p. 581-589, 2006.
- JEZLER, C. N.; MANGABEIRA, P. A. O.; ALMEIDA, A. A. F.; JESUS, R. M.; OLIVEIRA, R. A.; SILVA, D. C.; COSTA, L. C. B. Pb e Cd no crescimento, ultraestrutura foliar e produção de óleo essencial de hortelã (*Mentha arvensis* L.). **Ciência Rural**, v. 45, n. 3, p. 392-398, 2015.
- KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soil and plants**. 3. ed. Boca Raton: CRC Press, 2001. 413 p.
- LACATUSU, R.; LACATUSU, A. N. Vegetable and fruits quality within heavy metals polluted areas in Romania. **Carpathian Journal of Earth and Environmental Sciences**, v. 3, n.2, p.115-129. 2008.
- LEE, J.; SUNG, K. Effects of chelates on soil microbial properties, plant growth and heavy metal accumulation in plants. **Ecological Engineering**, v. 73, p. 386-394, 2014.
- LIMA, F. de S.; NASCIMENTO, C. W. A.; ACCIOLY, A. M. de A.; SOUSA, C. da S.; CUNHA FILHO, F. F. Bioconcentração de chumbo e micronutrientes em hortaliças cultivadas em solo contaminado. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 2, p. 234-241, 2013.

MA, J. F.; MIYAKE, Y.; TAKAHASHI, E. Silicon as a beneficial element for crop plants. In: DATNOFF, L. E.; SNEDER, G.H.; KORNDORFER, G. H. (Ed.). Silicon in Agriculture. Amsterdam: **Elsevier**, p. 17-39, 2001.

MELO, R. F; DIAS, L. E.; MELLO, J. W. V.; OLIVEIRA, J. A. de. Potencial de quatro espécies herbáceas forrageiras para fitorremediação de solo contaminado por arsênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, n. 2, p. 455-465, 2009.

MERWE, M. J. V. D.; OSORIO, S.; MORITZ, T.; NUNES-NESE, A.; FERNIE, A. R. Decreased mitochondrial activities of malate dehydrogenase and fumarase in tomato lead to altered root growth and architecture via diverse mechanisms. **Plant Physiology**, v. 149, n. 2, p. 653-669, 2009.

NASIM, S. A; DHIR, B. Heavy metal alter the potency of medicinal plants. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 203. p. 139-149, 2010.

OLIVEIRA, G. L.; FIGUEIREDO, L. S.; MARTINS, E. R.; COSTA, C. A. Enraizamento de estacas de *Lippia sidoides* Cham. utilizando diferentes tipos de estacas, substratos e concentrações do ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.10, n.4, p.12-17, 2008.

PEREIRA, B. F. **Potencial fitorremediador das culturas de feijão-de-porco, girassol e milho cultivadas em latossolo vermelho contaminado com chumbo**. 2005. 68p. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agronômico.

PIRES, F.R.; SOUZA, C. M.; SILVA, A. A.; PROCÓPIO, S. O.; FERREIRA, L. R. Fitorremediação de solos contaminados com herbicidas. **Planta Daninha**, v.21, n.2, 2003.

PLANK, C. OWEN (EDITOR). Plant analysis reference procedures for the southern region of the United States. **Southern Cooperative Series Bulletin**, v. 368, 1992, 83 p.

RAGAGNIN, R. C. G.; ALBUQUERQUE, C. C.; OLIVEIRA, F. F. M.; SANTOS, R. G.; GURGEL, E. P.; DINIZ, J. C.; ROCHA, S. A. S.; VIANA, F. A. Effect of salt stress on the

growth of *Lippia gracilis* Schauer and on the quality of its essential oil. **Acta Botanica Brasílica**, v. 28, n. 3, p. 346-351, 2014.

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

ROSSATO, L. V. **Efeitos bioquímicos e fisiológicos do chumbo em plantas de Quitoco (*P. sagittalis*): possível papel fitorremediador**. 2010. 83 p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica toxicológica) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

SÁ, R. A.; SÁ, R. A.; ALBERTON, O.; GAZIM, Z. C.; LAVERDE JR., A.; CAETANO, J.; AMORIN, A. C.; DRAGUNSKI, D. C. Phytoaccumulation and effect of lead on yield and chemical composition of *Mentha crispata* essential oil. **Desalination and Water Treatment**, v.53, p. 3007-3017. 2014.

SEREGIN, I. V.; SHPIGUN, L. K.; IVANOV, V. B. Distribution and toxic effects of cadmium and lead on maize roots. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 51, n. 4, p. 525-533, 2004.

SHARMA, P.; DUBEY, R.S. Lead toxicity in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.17, n.1, p. 35-52, 2005.

SHEN, Z.G.; LI, X. D.; WANG, C.C.; CHEN, H.M.; CHUA, H. Lead phytoextraction from contaminated soil with high-biomass plant species. **Journal of Environmental Quality**, v.31, p.1893-1900, 2002.

SHEORAN, V.; SHEORAN, A. S.; POONIA, P.. Role of Hyperaccumulators in Phytoextraction of Metals From Contaminated Mining Sites: A Review. **Environmental Science And Technolo**, v. 1, n. 41, p.168-214, 2011.

SHIKHOVA, N. S. Some regularities in the accumulation of lead in urban plants (by example of Vladivostok). **Contemporary Problems of Ecology**, v.5, p.285-294, 2012.

SINGH, R. P.; TRIPATHI, R. D.; SINHA, S. K.; MAHESHWARI, R.; SRIVASTAVA, H. S. Response of higher plants to lead contaminated environment. **Chemosphere**, Oxford, v.34, p.2467-2493, 1997.

SOUZA, E. P.; SILVA, I. de F.; FERREIRA, L. E. Mecanismos de tolerância a estresses por metais pesados em plantas. **Revista Brasileira Agrociência**, v.17, n.2-4, p.167-173, 2011.

SILVA, P. C. C.; JESUS, F. N.; ALVES, A.C.; JESUS, C. A. S. DE.; SANTOS, A. R. DOS. Crescimento de plantas de girassol cultivadas em ambiente contaminado por chumbo. **Biosci. J.**, v. 29, Supplement 1, p. 1576-1586, 2013. Disponível em: <<http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/15091/13304>> Acesso em: 01 jun. 2014.

STASINOS, S; ZABETAKIS, I. The uptake of nickel and chromium from irrigation water by potatoes, carrots and onions. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.91, p. 122-128, 2013.

TAIZ, L.; ZEIG, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artemed, 2009. 848 p.

VASSIL, A. D.; KAPULNIK, Y.; RASKIN, I.; SALT, D. E. The role of EDTA in lead transport and accumulation by Indian mustard. **Plant physiology**, v.117, n. 2, p.447-453, 1998.

VOLTAN, R. B. Q. et al. Aspectos estruturais de cafeeiro infectado com *Xyllella fastidiosa*. **Bragantia**, v. 57, n. 1, 1998.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Disposição dos vasos de *L. gracilis* em bancada suspensa, casa de vegetação, UERN.



APÊNDICE B – Comparação entre tratamentos de *L. gracilis* com chumbo (Pb) na ausência e na presença de EDTA no dia do desmonte do experimento.



SEPb0R4



CEPb0R5



SEPb2R4



CEPb2R5