



**EFEITO DO RESÍDUO DA FABRICAÇÃO DE ALUMÍNIO SOBRE O
CICLO CELULAR E A TAXA DE GERMINAÇÃO DE GENÓTIPOS DE
GIRASSOL.**

FERNANDA DE ABREU

2002

FERNANDA DE ABREU

EFEITO DO RESÍDUO DA FABRICAÇÃO DE ALUMÍNIO SOBRE O
CICLO CELULAR E A TAXA DE GERMINAÇÃO DE GENÓTIPOS DO
GIRASSOL.

Dissertação apresentada à Universidade Federal de
Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas,
para obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora

Profª. Dra. Lisete Chamma Davide

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2002

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Abreu, Fernanda de

Efeito do resíduo da fabricação de alumínio sobre o ciclo celular e a taxa de germinação de três genótipos de girassol / Fernanda de Abreu. -- Lavras : UFLA, 2002.

52 p. : il.

Orientadora: Lisete Chamma Davide.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Ciclo celular. 2. Girassol. 3. Fitorremediação. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.85

FERNANDA DE ABREU

**EFEITO DO RESÍDUO DA FABRICAÇÃO DE ALUMÍNIO SOBRE O
CICLO CELULAR E A TAXA DE GERMINAÇÃO DE GENÓTIPOS DO
GIRASSOL.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de
Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas,
para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 11 de setembro de 2002-12-11

Prof. Dr. Luís Edson Mota de Oliveira

UFLA

Profa. Dra. Giovana Augusta Torres

UFLA



Profa. Dra. Lisete Chamma Davide
UFLA
(Orientadora)

Este trabalho é dedicado aos meus pais e irmãs: Ismael, Nigmar, Daniela e Stefânia; aos meus avós e familiares; aos meus amigos e ao Vitor por todo apoio e incentivo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo que já aconteceu em minha vida.

À UFLA, pelas oportunidades que me deu durante o mestrado.

À CAPES, pelo auxílio financeiro.

À professora Lisete Chamma Davide, pela orientação, carinho, atenção e amizade.

À professora Giovana Augusta Torres, pela preciosa ajuda no desenvolvimento deste trabalho e pela amizade.

Ao professor Antônio Claudio Davide, pelas contribuições dadas para realização deste trabalho.

Ao pesquisador Marcelo Fernandes de Oliveira, melhorista de girassol da EMBRAPA-CNPQ, pelo envio das sementes utilizadas neste trabalho.

À Fábrica de Produção de Alumínio ALCOA, de Poços de Caldas-MG, pelo fornecimento do resíduo SPL.

À minha família, Ismael, Nigmar, Daniela e Stefânia, pela grande graça Divina que vocês são em minha vida, sempre com muito carinho, apoio e muito amor. Que Deus os abençoe! Obrigada!

Aos meus avós paternos, à minha avó materna e a todos os meus familiares, pelas orações, carinho, cuidado e dedicação que sempre demonstraram. Que Deus os abençoe! Obrigada!

Aos meus grandes amigos e amigas de teatro, festas, eventos, festas, principalmente Celiana, Elisia, Roberta, Daniela, Raniela, Tetê e Bruna, por tudo que nós já vivemos e ainda vamos viver.

Aos colegas do laboratório de Citogenética, pela convivência e amizade.

Aos colegas e aos meus alunos da Escola Estadual Antônio Novais de Ribeirão Vermelho-MG, pela amizade e confiança no meu trabalho.

Às minhas amigas da faculdade Raquel e Rosana, por toda amizade dedicada!

A todos amigos do GEN, professores e funcionários do DBI, obrigada!

Ao Vitor, por tudo o que significa em minha vida, pelo apoio, compreensão, amor, carinho e, principalmente, por estar ao meu lado sempre. Obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	iii
1 Introdução	1
2 Referencial teórico	3
2.1 O processo de produção de alumínio	3
2.2 Efeitos dos componentes do SPL.....	4
2.3 Processos de recuperação de áreas degradadas.....	11
2.3.1 A fitorremediação.....	12
2.3.2 Espécies com potencial fitorremediador	15
3. Material e Métodos.....	22
3.1 Material genético.....	22
3.2 Ensaio de avaliação do efeito do SPL.....	22
3.3 Análise citológica	23
3.4 Análise estatística.....	24
3.4.1 Germinação.....	24
3.4.2 Índice mitótico.....	26
4. Resultados e Discussão.....	27
4.1 Efeitos do SPL sobre a germinação das sementes de girassol.....	27
4.2 Efeitos do SPL sobre o ciclo celular de sementes de girassol.....	34
5. Considerações Finais.....	43
6. Conclusão.....	45
Referências bibliográficas.....	46

RESUMO

ABREU, Fernanda. Efeito do resíduo da fabricação de alumínio sobre o ciclo celular de genótipos do girassol. 2002. 52 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

O processo de fabricação do alumínio gera um resíduo conhecido por SPL (Spent Pot Lining), o qual possui em sua constituição compostos como: carbono, alumínio, fluoreto, sódio e cianeto. A maioria desses elementos é tóxica, podendo ser letal a vida vegetal e animal. Uma vez que o SPL é, em geral, depositado diretamente sobre o solo, contaminando-o e até mesmo os lençóis freáticos. Torna-se necessário buscar tecnologias que visem à reutilização desse resíduo ou à estabilização das áreas de rejeito onde esse material é depositado. Dentre as várias alternativas, tem sido sugerida a fitorremediação, tecnologia de remediação ambiental na qual plantas são utilizadas para promover a descontaminação ou a estabilização dos solos, lençóis freáticos e no tratamento de águas residuais. Neste trabalho realizou-se um estudo exploratório, em que o ciclo celular e a taxa de germinação das sementes do girassol (*Helianthus annuus* L.) foram utilizados como parâmetros para comparar o comportamento desta espécie quando submetida a diferentes concentrações de SPL, uma vez que o girassol tem grande potencial como fitorremediadora, principalmente em áreas contaminadas com metais pesados. Para isso utilizaram-se sementes de três variedades comerciais; Agrobelt 965, BRS 191 e C 11. As sementes foram semeadas em caixas plásticas (gerbox) contendo areia média lavada e esterilizada e resíduo SPL fornecido pela ALCOA, Poços de Caldas-MG. As concentrações de SPL usadas foram: 0%, 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8%, 1% e 3%, e para cada diluição, realizaram-se 4 repetições, com 25 sementes cada. As radículas com aproximadamente 0,5 cm foram coletadas, fixadas em Carnoy e armazenadas a 4°C. As lâminas foram confeccionadas pelo método de esmagamento, com coloração Feulgen. Foram avaliadas 5 lâminas por variedade de girassol. A análise estatística foi realizada por meio de Modelos Lineares Generalizados, com a utilização do software SAS. À medida que aumentaram as concentrações de SPL, houve uma redução da taxa de germinação e do índice mitótico, sendo esta redução mais acentuada nas maiores concentrações. A concentração de 3% foi letal para as sementes com total inibição da germinação. Em todas as concentrações e variedades

observaram-se anomalias, como pontes em anáfases e telófases, metáfases com cromossomos desprendidos e pegajosos em baixa frequência . Observaram-se diferenças nas respostas dos genótipos nas concentrações de SPL. Pela análise desses resultados, foi possível concluir que há variabilidade intraespecífica para resposta ao SPL. Os genótipos A, B e C demonstraram tolerância diferenciada, no que diz respeito à taxa de germinação e índice mitótico.

* Comitê de Orientação: Lisete Chamma Davide – UFLA (Orientadora)
Giovana Augusta Torres – UFLA (Co-orientadora)

ABSTRACT

ABREU , Fernanda. **Effect of the aluminum manufacture residue on germination rate and cell cycle of sunflower genotypes.** 2002. 50 p. Dissertation (Master in Genetics and Plant Breeding) _ Universidade Federal de Lavras, MG.*

The process of aluminum manufacture generates a residue known as the SPL (Spent Pot Lining) , which possesses in its constitution compounds such as: carbon, fluorite, sodium and cyanide. Most of those elements is toxic, their being able to lethal to animal and plant life. Since SPL is, in general, deposited directly on the soil, contaminating it and even the watersheds. It becomes necessary to search for new technologies aiming at the re-utilization of this residue or the stabilization of the disposal areas where this material is deposited. Among the several alternatives, phytoremediation , environmental remediation technology in which plants are utilized to promote the decontamination or stabilization of soils, water tables and in the treatments of residual waters have been suggested. In this work, a exploratory analysis of SPL effect was accomplished, on the cell cycle and germination rate of sunflower seeds (*Helianthus annuus L.*), since this species presents a great potential as phytoremediator , chiefly in areas contaminated by heavy metals. So, seeds of three commercial varieties, Agrobol 965, BRS 191 and C 11 were employed. The seeds were sown in plastic boxes (gerbox) containing washed and sterilized medium sand and SPL residue furnished by ALCOA, Poços de Caldas –MG. The concentrations of SPL used were: 0%, 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8%, 1% and 3%, for each dilution , four replicates were performed with 25 seeds each. The radicles about 0.5 cm were collected , fixed in Carnoy and stored at 4C. The slides were manufactured by the crushing method with Feulgen coloration. Five slides were evaluated per sunflower variety. The statistical analysis was performed by means of Generalized Linear Models with the use of the SAS software. As the concentrations of SPL was increased, there was a reduction of germination rate and mitotic index. At concentrations higher than 1% SPL, germination rate and mitotic index did not exceed 20%. The 3% concentration was lethal to the seeds with total inhibition of germination. Differences in the responses of genotypes to concentrations of SPL showed existence of intraspecific variability for SPL tolerance. At all the concentrations and varieties, anomalies as bridges at anaphase and telophase, and loose and sticky chromosomes at methaphase were observed in low frequencies.

Guidance Committee: Lisete Chama Davide – UFLA (Adviser)
Giovanna Augusta Torres – UFLA (Co-adviser)

1 INTRODUÇÃO

O processo de fabricação do alumínio gera um resíduo sólido conhecido por SPL (Spent Pot Lining), de cor preta e cinza-escura, leve odor de amônia, possuindo em sua constituição vários compostos, entre eles: carbono, alumínio, fluoreto, sódio e cianeto. A maioria desses elementos é tóxica, podendo ser letal à vida vegetal e animal. Uma vez que o SPL é, em geral, depositado diretamente sobre o solo, contaminando-o e podendo atingir os lençóis freáticos, torna-se necessário desenvolver, buscar e aplicar tecnologias que visem à reutilização desse resíduo ou à estabilização e recuperação das áreas de rejeito. Dentre as várias alternativas, a fitorremediação é uma das técnicas utilizadas.

A fitorremediação é a tecnologia de remediação ambiental na qual plantas são utilizadas para promover a descontaminação ou a estabilização dos solos, lençóis freáticos e no tratamento de águas residuais. A metodologia consiste na utilização de plantas de ocorrência natural na região ou melhoradas geneticamente, com o objetivo de retirar contaminantes do ambiente.

Em um estudo preliminar sobre fitorremediação realizado por técnicos da AICOA – Poços de Caldas/MG, fábrica de produção de alumínio, algumas espécies foram avaliadas quanto ao seu desenvolvimento aéreo e radicular e quanto à presença de cianeto em suas raízes, bem como no solo onde o resíduo SPL é depositado. Os autores observaram diferenças intraespecíficas quanto às respostas das plantas ao tratamento com SPL, o que poderia sugerir provável controle genético sobre a capacidade de absorção dos compostos ou uma desuniformidade na distribuição do SPL na área utilizada. Essa segunda hipótese pode ser facilmente testada utilizando-se substratos adicionados de SPL e homogeneamente misturados. No entanto, a existência de um controle genético no processo de fitorremediação do SPL exige o emprego de material botânico geneticamente uniforme e com comprovado potencial fitorremediador.

Em vários trabalhos, constata-se que o girassol (*Helianthus annuus* L.) apresenta potencial efetivo na remediação de solos e águas contaminados por metais pesados e radionucleares. Essa espécie impede a evolução de múltiplos efeitos causados pelas interações entre metais pesados e possíveis compostos orgânicos que estejam contaminando a área (Dushenkov & Kumar 1995; Wusheng, Donghua e Hainfeng 1999; Cutright *et al* 2001; Davies *et al* 2001; Shahandeh e Hossner 2002; Lee *et al* 2002).

Neste trabalho, realizou-se um estudo exploratório, em que o ciclo celular e a taxa de germinação das sementes foram utilizados como parâmetros para comparar o comportamento de três genótipos de girassol submetidos a diferentes concentrações de SPL, visto que essa espécie é considerada uma planta-teste o que permite averiguar a eficiência desses parâmetros.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O processo de produção de alumínio

O processo de fabricação de alumínio é composto por uma série de etapas que envolvem diversas reações químicas. Até mesmo a bauxita, minério do qual se extraem a alumina e o alumínio, é formada por uma reação química natural causada pela infiltração de água em rochas alcalinas que entram em decomposição e adquirem uma nova constituição química. A bauxita encontra-se próxima à superfície, em uma espessura média de 4,5 metros, o que permite a sua extração a céu aberto, com a utilização de retroescavadeira. Nesse processo de extração ocorre a remoção da vegetação do local, ocasionando o primeiro impacto ambiental relacionado ao processo de produção de alumínio (Carneiro, 2000).

Porém, antes de se iniciar o processo, alguns cuidados precisam ser tomados para se proteger o meio ambiente. A terra fértil acumulada sobre as jazidas do minério (bauxita) é removida juntamente com a vegetação e reservada para um futuro trabalho de recomposição do terreno, após a extração do minério. Depois de minerada, a bauxita é transportada para a fábrica, onde chega em seu estado natural, com impurezas que precisam ser eliminadas e, a partir disso, inicia-se a primeira reação química da série que vai viabilizar a obtenção da alumina e do alumínio. A bauxita é moída e misturada a uma solução de soda cáustica que a transforma em pasta. Aquecida sobre pressão e recebendo nova adição de soda cáustica, essa pasta dissolve-se formando uma solução que passa por sedimentação e filtragem que eliminam todas as impurezas. Essa solução, livre de todas as impurezas, está pronta para que dela se extraia apenas a

alumina. Isso ocorre mais uma vez por meio de uma reação química. Em equipamentos chamados precipitadores, a alumina contida na solução precipita-se pelo processo chamado de “cristalização por semente”. Esse material cristalizado só precisa ser lavado e seco por meio de aquecimento para que se tenha o primeiro produto do processo de produção de alumínio: a alumina (Alcoa, 2002).

A alumina é um pó branco e refinado de consistência semelhante ao açúcar refinado e é utilizada como matéria-prima básica para a produção de alumínio, sendo também utilizada na indústria de papel, na produção de dióxido de titânio, aluminatos de sódio, retardantes de chama, além de outros. Porém, mais de 90% da produção mundial de alumina destinam-se à fabricação de alumínio. A metalurgia do alumínio baseia-se na redução eletrolítica da alumina, obtida a partir da bauxita. A alumina, dissolvida em criolita fundida, é submetida a altas temperaturas, sob ação de uma corrente elétrica contínua. Nesse processo ocorre a deposição de alumínio fundido no fundo da cuba (cátodo), enquanto o ânodo de carbono é oxidado pelo oxigênio que se desprende. O metal alumínio é produzido, desse modo, na forma de tarugos, lingotes e alumínio líquido (Alcoa, 2002).

2.2 Efeitos dos componentes do SPL

Todo processo que envolve a produção de alumínio gera um resíduo (SPL- Spent Pot Lining) de composição química heterogênea, contendo principalmente carbono, alumínio, fluoreto, sódio e cianeto. Com exceção do carbono, os demais elementos são tóxicos, podendo ser letais à vida vegetal e animal.

A toxicidade do alumínio é um dos maiores fatores que limitam o crescimento e o desenvolvimento de muitas plantas em solos ácidos. Diferentes

mecanismos de tolerância das plantas ao Al têm sido descritos para várias espécies. Eles diferenciam-se por prevenir a absorção de Al pelas raízes ou por conduzirem à detoxicação do Al já acumulado na célula (Rengel, 1996). De acordo com Little (1988 em Mossor-Pietraszewska, 2001), a tolerância ao estresse mineral varia muito entre espécies e entre genótipos de uma espécie e, frequentemente, está combinada à tolerância a outros estresses. Por exemplo, plantas tolerantes ao Al normalmente são tolerantes à seca e requerem menos fertilizantes fosfatos.

Um dos mecanismos propostos para explicar a tolerância ao Al é a formação de um complexo estável entre alguns ácidos orgânicos com o Al iônico, provavelmente prevenindo a ligação do Al com os componentes intra e inter celulares na raiz, sendo a raiz o primeiro órgão a ser contaminado, seguido de caule e gemas axiais e laterais. Dentre os vários efeitos do alumínio nas plantas, pode-se citar: impedimento do transporte de fosfato, inibição da divisão celular, restrição do transporte de cálcio, repressão da atividade do DNA e RNA, efeitos mutagênicos; alterações nas organelas citoplasmáticas e na parede celular de células da raiz, vacuolização das células da raiz e surgimento de um novo tipo de estrutura citoplasmática conhecida como “Al-estrutura”, em que o nucléolo é expulso do núcleo e se interage ao alumínio que se encontra em concentrações elevadas no meio intracelular (Liu e Jiang, 1999). Resultados experimentais demonstram que níveis tóxicos de alumínio impedem a absorção de outros nutrientes, como fósforo e cálcio pelas plantas, o que é demonstrado pela baixa produção das mesmas. Os efeitos do alumínio em plantas, de modo geral, são semelhantes, embora algumas se apresentem mais tolerantes, não demonstrando sintomas de toxidez (Oliveira, 1986).

Diferentes formas do alumínio ocorrem no solo, como por exemplo: $\text{Al}(\text{OH})_2$, $\text{Al}(\text{OH})_4^-$, $\text{Al}(\text{SO}_4)_2$, AlF e podem apresentar-se como tóxicos; entretanto, as formas de Al consideradas tóxicas, principalmente para raízes de

plantas; seguem uma ordem decrescente $AlF_2^+ < AlF^{2+} < Al^{3+} < Al_3$. Mas, de acordo com Kochian's (1995), a toxicidade é realmente observada somente em Al_3 e Al^{3+} . Muitas plantas contêm não mais que $0,2mg/L^{-1}$ de $Al^{3+} g^{-1}$ em sua massa. No entanto, algumas plantas podem conter 10 vezes mais Al^{3+} em seus tecidos. Essas plantas são tipicamente denominadas Al^{3+} acumuladoras. Aproximadamente 400 espécies de plantas terrestres, pertencentes a 45 famílias, são identificadas como hiperacumuladoras de vários metais tóxicos.

Dentre os vários efeitos tóxicos provocados pelo Al^{3+} que já foram mencionados anteriormente, ele também induz a inibição do alongamento das raízes, as quais se enfraquecem chegando a obter uma coloração marrom. Aparentemente o Al^{3+} não interfere na germinação das sementes, mas impede o crescimento de novas raízes e a estabilização das plântulas. As respostas comuns observadas nos tecidos vegetais pela inclusão de Al^{3+} são alterações da ultra-estrutura celular, redução da abertura dos estômatos, total diminuição do número de folhas e ainda decréscimo da biomassa de brotos (Thornton, 1986).

Blancaflor (1998) observou em um experimento com milho que os efeitos do Al^{3+} na célula estão diretamente ligados aos microtúbulos e aos microfilamentos de actina e ainda ao alongamento das células do ápice de raízes. Concluiu ainda que o Al^{3+} inibe a estabilização dos microtúbulos na região central da elongação. O Al^{3+} também interage com as substâncias responsáveis pelo crescimento vegetal, como alguns fitormônios (auxina, giberilina, etileno) e influencia direta ou indiretamente a organização do citoesqueleto, alterando os níveis citosólicos de Ca^{2+} . O Al^{3+} altera o gradiente elétrico de Mg^{2+} na superfície das células, levando à formação de calose e alterando a composição de lipídeos da membrana plasmática. O primeiro efeito do Al^{3+} é alterar a permeabilidade da membrana pela sua habilidade de interagir com grupos carboxílicos e grupos fosfatos presentes na parede celular e na membrana respectivamente (Gunsé, 1997). Em muitas pesquisas sugere-se a interação do

Al^{3+} com componentes da célula, como na parede celular, membrana plasmática e DNA, pois o Al^{3+} pode se associar a enzimas hidrolíticas que tendem a destruir a pectina presente na parede celular (Mossor-Pietraszewska, 2001).

Além dos efeitos tóxicos do alumínio citados acima, um outro elemento que também apresenta um alto nível de toxidez é o cianeto. Mesmo assim, alguns organismos são capazes de produzir ácido cianídrico e isso ocorre pela hidrólise dos glicosídeos cianogênicos, pela β -glicosidase, num processo denominado cianogênese (Souza, 1993). As substâncias cianogênicas são encontradas em muitos organismos sob duas formas: glicosídeos cianogênicos e lipídeos cianogênicos. Estes, derivados da α -hidroxinitrilos com a liberação do grupo carbonila. O ácido cianídrico (HCN) é produzido por alguns seres vivos como certas bactérias e fungos (Conn, 1980).

No entanto, os compostos de cianeto são potencialmente tóxicos a qualquer tipo de vida e podem estar presentes no ambiente sob várias formas. Compreendem uma classe de compostos inorgânicos e orgânicos que contêm o grupamento ciano (CN). Na água, o cianeto é encontrado na sua forma molecular, como ácido cianídrico (HCN) ou na sua forma livre, como ion cianeto (CN⁻). O ion cianeto pode ser convertido a ácido cianídrico (HCN) após acidificação a pH 4,0. Em condições alcalinas, o cianeto livre é ionizado e forma complexos metálicos estáveis. A toxicidade dos vários compostos de cianeto depende de sua forma química e de sua constante estabilidade. Assim, quanto menos estável é o composto, maior o seu grau de toxidez. A legislação brasileira determina que a concentração máxima de cianeto permitida por área é de 0,2 mg/L (Linardi, 2002).

Segundo Solomonson (1981), a toxicidade do HCN ocorre por ele ser um potente inibidor da cadeia transportadora de elétrons, mas também por inibir uma ampla gama de enzimas. Essa substância é altamente reativa, capaz de formar complexos estáveis com metais como níquel, cobre, zinco, ferro e ouro e

reagir com certos grupos formando cianohidrininas e reduzir grupos de tióis. Normalmente, concentrações de cianeto (CN) pequenas, como 10^{-4} M, inibem o sistema citocromo-oxidase, bloqueando a respiração. Outros sistemas enzimáticos, como hemeoproteínas, oxidases, oxigenases que contenham metais como grupos prostéticos são inibidos por concentrações maiores entre 10^{-4} a 10^{-2} M (Souza, 1993).

Em algumas espécies de fungos e bactérias, quando submetidas a testes em diferentes meios de cultura contendo a cisteína como componente responsável pela resistência ao cianeto em meio contendo peptona, uma das possibilidades do efeito da cisteína seria a detoxificação do cianeto nas espécies resistentes pela formação de β -cianoalanina (Souza, 1993). Segundo Barclay *et al.* (1998), fungos como *Fusarium solani*, *Trichoderma polysporum*, *Fusarium oxysporum*, *Scytalidium thermophilum* e *Penicillium miczynski*, isolados a partir de solos que apresentavam altas concentrações de nitrogênio e pH neutro ou ácido, íon cianeto e complexos formados entre cianeto e compostos metálicos, apresentaram um crescimento constante à medida em que diminuiu-se a concentração de cianeto do meio.

A degradação biológica de cianetos consiste na sua utilização por organismos vivos, como bactérias, fungos e algas que possuem sistemas enzimáticos e vias metabólicas capazes de metabolizar ou transformar esses íons tóxicos em produtos menos agressivos ao meio ambiente. A degradação de cianetos por bactérias mais bem descrita na literatura, até o momento, refere-se à linhagem de *Pseudomonas fluorescens*, isolada por Harris e Knowles (1983 em Linardi 2002). Essa bactéria utiliza cianeto como fonte de carbono e nitrogênio pelas seguintes vias: em pequenas concentrações de cianeto de potássio (KCN), há produção de amônia e CO_2 em uma reação dependente de oxigênio e, em concentrações maiores, o KCN é convertido em amônia e formato ou formamida. A degradação biológica envolve mecanismos como: volatilização,

transformações metabólicas, reações químicas com compostos orgânicos (Linardi, 2002). Técnicos da Alcoa (fábrica de produção de alumínio) avaliaram duas espécies *Salix humboldtiana* (chorão) e *Schinus terebithifolius* (aroeirinha) quanto à capacidade de retirar cianeto do solo e observaram características ao avalianrem a morfologia e anatomia de raízes, o que permitiu indicá-las como possíveis fitorremediadoras (Oliveira *et al*, 2000)

Embora constituindo somente 0,065% da crosta terrestre, o flúor (F) pode ser considerado um elemento ubíquo, distribuindo-se desde vulcões e suas emanções, passando por diferentes rochas, oceanos, lagos, rios e outras formas de água natural. Além disso, o F está presente nos ossos, dentes e sangue dos mamíferos e em todas as partes das plantas (Amaral, 1998). Segundo Noemmik (1953), as concentrações de F variam amplamente em um mesmo extrato do solo, mas aumentam, com frequência, à medida que se aprofundam nas camadas do solo (sendo maior próximo ao regolito). A concentração de F natural cresce em profundidade no solo e somente 5 a 10% do F total encontra-se na solução do solo. Sob condições naturais, essa concentração raramente ultrapassa 1 mg/L^{-1} ; no entanto, em solos de regiões altamente poluídas, pode atingir 10 mg/L^{-1} . O F não é essencial para as plantas, mas especula-se que seja para os animais. Em plantas, sua absorção ocorre pela via foliar, que durante períodos prolongados e com excessivas doses pode provocar sintomas de toxicidade em plantas, produzindo necrose marginal nas folhas e redução do crescimento. Muitas enzimas podem ser inibidas pelo F, entre essas a enolase, fosfatoglucomutase, desidrogenase succínica, fosfatases e hexoquimases (Amaral, 1998).

Khalil e Dadara (1994), ao submeterem uma cultura de células de medula de rato a diferentes concentrações de fluoreto (10^{-7} a 10^{-2} M) por períodos de 12, 24 e 36 h, observaram que a sobrevivência dessas células decrescia à medida que eram submetidas a concentrações mais elevadas de fluoreto. No tratamento contendo 10^{-2} M de fluoreto, foi demonstrado um

resultado estatisticamente significativo em relação aos demais com um índice de morte celular em torno de 62 a 65%. Nas concentrações de fluoreto entre 10^{-3} e 10^{-2} M, houve uma significativa redução do índice mitótico. Por meio desses resultados, demonstra-se que doses elevadas de fluoreto aplicadas em cultura de células de medula imbecil impedem a divisão celular e podem ocasionar até mesmo a morte das células.

Quanto ao sódio esse é utilizado pelas plantas como uma forma de nutriente; porém, altas concentrações de sódio no solo podem diminuir a solubilidade de Mg^{2+} e K^+ que estariam disponíveis para as plantas. Uma outra alteração causada por altas concentrações de sódio no solo refere-se à redução do pH de 9.0 para 7.7. (Chun *et al* 2001). Em um experimento no qual diferentes genótipos de arroz foram submetidos a concentrações de sódio entre 20, 35 e 50 Mol/L, observou-se uma redução no número e na produtividade de panículas, e à medida que a concentração de sódio aumentava, havia também uma redução na quantidade de grãos de pólen sendo alguns caracterizados como inviáveis (Khatuns *et al* 1995 em Chun *et al*, 2001).

Já o carbono é o elemento principal da matéria orgânica do solo, perfazendo de 48 a 58% do seu peso total e é de suma importância nos solos tropicais por causa de sua influência no estoque de nutrientes, na estruturação do solo e na população e atividade de microrganismos, sendo considerado como indicador da qualidade do solo e da produtividade (Larson e Pierce, 1991). Fatores que atuam sobre a matéria orgânica e, conseqüentemente, do carbono, como a mineração resultante do impacto do revolvimento e retirada do solo, da perda da vegetação e de outras formas de vida subterrânea, promovem, além da oxidação (perda) da matéria orgânica, alterações nas propriedades físicas, químicas e perda da atividade biológica do solo (Franco *et al*, 1995).

2.3 Processos de recuperação de áreas degradadas.

Os processos ou programas de recuperação ambiental podem ser definidos como um conjunto de ações idealizadas e executadas por especialistas de diferentes áreas do conhecimento humano que visam a proporcionar o restabelecimento de condições de equilíbrio e sustentabilidade existentes anteriormente em um sistema natural (Dias e Griffith, 1998). Em termos ecológicos, espera-se que a recuperação possibilite o mesmo uso anterior à degradação, ou seja, a volta do ambiente às mesmas condições existentes antes da degradação.

O consumo desenfreado dos recursos do planeta compromete a qualidade de vida e a sobrevivência das futuras gerações. Isso porque as técnicas hoje empregadas na exploração desses recursos não estão adequadas à manutenção do meio ambiente. Conforme dados da Global Assessment of Soil Degradation (Glasod), 1964 x 10⁶ hectares da área do planeta encontram-se degradados (Oldeman e Lynden 1998). Esse valor representa aproximadamente 13% da terra continente. Segundo esses autores, há cinco causas para a degradação: o desmatamento, o manejo inadequado da agricultura, o superpastejo, a superexploração da vegetação para combustível e a atividade industrial. A mineração não representa grande parcela em extensão, se comparada aos demais agentes degradadores. Sua ocorrência é pontual, limitando-se a pequenas áreas, se comparada à agricultura, por exemplo. Entretanto, seus efeitos são drásticos ao meio ambiente onde ela é realizada. A mineração causa grande impacto em consequência da movimentação profunda das camadas do solo, retirada da vegetação, alterações do regime de escoamento de água e deposição de materiais de rejeito. No Brasil, a legislação exige que a mineração elabore um plano de fechamento, com detalhamento do Plano de Recuperação de Áreas Degradadas (PRAD), que deve ser apresentado

simultaneamente com o Relatório de Impacto Ambiental (RIMA) (Dias e Griffith, 1998).

Segundo Parrota (1992), áreas degradadas são aquelas caracterizadas por solos empobrecidos e erodidos, instabilidade hidrológica, produtividade primária e diversidade biológica reduzida. Kobiyama *et al* (1993) definiram degradação como processos e fenômenos do meio ambiente naturais ou antropogênicos que prejudicam as atividades de um ou mais organismos.

Griffith (1986) definiu recuperação como a reparação dos recursos ao ponto que seja suficiente para estabelecer a composição e frequência das espécies encontradas originalmente. Mayer (1989) inclui na sua definição o planejamento e o trabalho de engenharia e de processos hidrológicos, considerando que a recuperação envolve aspectos de qualquer processo que visa à obtenção de uma nova utilização para área degradada.

Para a realização e implantação desses processos de recuperação de áreas degradadas, várias técnicas de descontaminação são utilizadas, entre elas: escavação, lavagem de solo, tratamento térmico, eletrorremediação, vitrificação, estabilização, processos biológicos como a utilização de microrganismos, e a fitorremediação, que inclui a fitoextração, fitoestabilização e fitodegradação.

2.3.1 A fitorremediação

A crescente demanda de produtos industriais e a urbanização são as principais causas do aumento da poluição ambiental, especialmente com metais pesados, os quais entram no ecossistema e, seguindo os ciclos biogeoquímicos dos elementos, causam sérios problemas (Kabata-Pendias e Pendias, 1985).

Essas substâncias provenientes da atividade industrial são incorporadas ao ambiente e, invariavelmente, alteram a estrutura da comunidade biótica estabelecida no local (Stahl *et al.*, 1988). Considerando que a revegetação é o

melhor caminho para se recuperar solos degradados quimicamente, espécies vegetais têm sido testadas quanto a sua capacidade de estabelecer e crescer em solos contaminados (Wu e Antonovics, 1975). Sendo assim, uma tecnologia de remediação e descontaminação que vem sendo aplicada de forma crescente nos programas de recuperação de áreas degradadas é a fitorremediação, uma técnica que utiliza espécies vegetais capazes de promover a descontaminação de solos, lençóis freáticos e tratar águas residuais, sem alterar ainda mais a estrutura química e física do solo.

Como processo biológico, verifica-se que a fitorremediação é um método efetivo, não intrusivo e de baixo custo para remediar solos contaminados (Wiltse *et al.* 1998). As plantas utilizadas podem ser de ocorrência natural na região ou melhoradas geneticamente, com o objetivo de retirar contaminantes do ambiente. Segundo Summer (1997), existem três tipos de fitorremediação. A *fitoextração* ocorre quando os contaminantes são retirados do ambiente por mecanismos de extração da planta. Pela *fitodegradação* os contaminantes orgânicos são degradados por enzimas das plantas e por meio da *fitorremediação* os contaminantes são estabilizados ou transformados pelas plantas em compostos inertes.

A fitoextração baseia-se na habilidade das plantas de retirarem minerais seletivamente do solo e da água e de transportá-los para seus tecidos. Muitas espécies, chamadas “hiperacumuladoras”, naturalmente retiram e armazenam metais pesados em níveis elevados, sem haver intoxicação. Um outro tipo de fitorregulação ocorre quando as plantas podem quebrar compostos prejudiciais ao ambiente em compostos menores e inertes, sendo este processo chamado fitodegradação. A fitodegradação ocorre quando as plantas e/ou a microflora associada são capazes de converter poluentes em materiais não-tóxicos. Em determinados casos o contaminante não pode ser extraído ou degradado pelas plantas, sendo necessário promover sua estabilização. Quando a estabilização

previne a migração do contaminante, esse permanece no solo em estado inerte temporário. Se as plantas são removidas, ou as condições do solo são alteradas, o contaminante pode tornar-se móvel ou reverter-se à sua forma tóxica. Por isso, a fitoestabilização deve ser utilizada juntamente com outras técnicas.

Segundo Summer (1997), a fitorremediação apresenta algumas vantagens e desvantagens. Dentre as vantagens é possível citar o custo da fitorremediação, pois este varia de um terço a um décimo do custo dos métodos convencionais de remediação. Os métodos convencionais requerem compras de maquinários e equipamentos que precisam ser vistoriados e mantidos regularmente. Na fitorremediação, as plantas são as máquinas. Esse método pode ser aplicável a uma série de locais, em diferentes condições, podendo ser eficiente no tratamento de contaminantes diluídos ou concentrados, em curto período de tempo, sendo freqüentemente utilizada para tratar baixos níveis de contaminação em grandes áreas. A fitorremediação também apresenta vantagens em relação aos métodos convencionais que, normalmente, transportam os contaminantes de um local para o outro, muitas vezes transferindo o problema. A fitorremediação controla o níveis dos contaminantes no próprio local. Além disso, as raízes das plantas conseguem penetrar nos microporos do solo que, correspondem a 70% em volume no solo, realizando uma limpeza eficiente. Os contaminantes que permanecem no solo são efetivamente benignos, pois não foram prejudiciais às plantas. A fitorremediação é uma tecnologia limpa, que usa o ambiente para limpar o ambiente, ou seja, é um conceito muito aceitável para sua aprovação popular. Pode ser utilizada em conjunto com outras tecnologias; por exemplo, um solo extremamente tóxico pode ser escavado e tratado *ex-situ*, a fitorremediação pode ser usada para tratar o entorno, por exemplo. Além disso, essa tecnologia permite tratar a contaminação e prevenir a erosão da superfície do solo, evitando a lixiviação de nutrientes do próprio contaminante.

Porém, em contraposição, segundo o mesmo autor, a fitorremediação apresenta algumas limitações. Poucos estudos aplicados em campo. As raízes não se aprofundam muito no solo, e em função disso alguns cientistas sugerem que a fitorremediação é adequada quando o contaminante se encontra a até 10 m de profundidade. Além disso, plantas são seres vivos, e suas raízes necessitam de oxigênio, água e nutrientes. A textura do solo, pH, salinidade, concentração de poluentes e a presença de outras toxinas devem ser adequadas aos limites de tolerância da planta, e o contaminante pode ser fitotóxico. Nesses casos, a fitorremediação não deve ser o primeiro método a ser utilizado. Essa técnica deve ser aplicada em área contaminada aberta e adequada à agricultura, e ainda, a fitorremediação é freqüentemente mais lenta do que os processos físico-químicos, e deve ser considerada como um processo de remediação em longo prazo.

2.3.2 Espécies com potencial fitorremediador

As espécies diferenciam-se quanto à capacidade para comportar-se como fitorremediadora e a variação intraspecífica também existe (Wiltse *et al.* 1998).

As espécies lenhosas parecem apresentar menor grau de tolerância a níveis tóxicos de metais pesados no solo do que gramíneas e outras espécies herbáceas (Eltrop *et al.*, 1991). No entanto, plantas arbóreas são capazes de armazenar metais em seus tecidos por mais tempo, evitando que o elemento retorne mais rápido ao solo, sendo portanto, estrategicamente mais interessantes para a fitorremediação ou revegetação de solos contaminados.

Como visto anteriormente, uma espécie com potencial fitorremediador deve ser capaz de promover a extração, degradação, estabilização ou transformação do contaminante do meio. A maioria dos exemplos encontrados

na literatura, no entanto, utilizam aquelas espécies que se destacam como hiperacumuladoras, ou seja, as que extraem e acumulam elementos tóxicos em suas células. Segundo Jiang, Lui e Li (2000), a idéia de usar plantas hiperacumuladoras para removerem e reciclarem solos com excesso de metais foi introduzida por Chaney em 1983. Essas plantas podem acumular níveis variados do contaminante, principalmente em células de raízes e brotações por meio de mecanismos que envolvem processos bioquímicos e fisiológicos.

Entre as espécies que se destacam como hiperacumuladoras estão aquelas do gênero *Salix*. Nove clones de espécies diferentes deste gênero (*Salix cordata*, *S. fragilis* L., *S. caprea* L., *S. cinerea* L., *S. burjatica* Narzarov e *S. viminalis* L.) e um híbrido (*S. calodendron* x *S. winum*) foram expostos em cultura contendo soluções metálicas. No primeiro tratamento as plantas foram pré-tratadas com soluções 0.25 e 0.50mg de Cu^{2+} e novamente expostas as mesmas condições. No segundo tratamento, os clones foram expostos a concentrações de metal gradualmente (0.075mg Cu^{2+} + 0.075mg Cd^{2+} + 0.075mg Cu^{2+} + 1.25mg Zn^{2+} + 0.075mg Cd^{2+} + 1.25 mg Zn^{2+}). As plantas testadas do primeiro tratamento não apresentaram um alto potencial de resistência ao Cu^{2+} . No segundo tratamento após a avaliação de matéria seca, as plantas demonstraram uma redução na fitotoxicidade e aumento da resistência, notavelmente para o Cd^{2+} e ainda pode-se inferir que concentrações de cobre estão restritas a raiz e concentrações de Cd^{2+} e Zn^{2+} distribuem-se pelas demais regiões da parte aérea da planta. (Hansruedi, 1997).

Wiltse *et al.* (1998), testando diferentes genótipos de alfafa (*Medicago sativa* L.) com o objetivo de selecionar aqueles mais eficientes na descontaminação de solos contaminados por óleo mineral. Apenas dois genótipos foram selecionados por apresentarem resultados favoráveis, revelando existência de variabilidade intraespecífica para realizar processos de degradação do óleo. O resultado indica um excelente desempenho desta espécie reduzir a

contaminação de solos, principalmente com a multiplicação destes dois genótipos.

A família Brassicaceae apresenta espécies que tem sido utilizadas nos programas de recuperação de áreas degradadas. Entre estas, destacam-se a mostarda da índia (*Brassica juncea*) do gênero *Brassica* e a *Thalaspia caerulescens*. A mostarda da índia (*Brassica juncea*) demonstrou ser bem efetiva no processo de fitoextração de zinco em solos contaminados. Um experimento utilizando esta espécie e *Avena sativa* e *Hordeum vulgare*, que também são indicadas para realizar este processo, testou o desempenho das mesmas em altas concentrações de Cu, Cd e Zn. Após o teste observou-se a presença de elevadas concentrações destes metais em suas partes aéreas. Quando submetidas a um tratamento onde apenas Zn foi usado como contaminante do solo, a espécie *B. juncea* apresentou significativo aumento do acúmulo de Zn em suas partes aéreas em comparação com as demais espécies utilizadas (Ebbs e Kochian, 1998). A *Thalaspia caerulescens* é uma das espécies hiperacumuladoras mais conhecida, por possuir habilidade de colonizar solos contaminados com elevados níveis de metais pesados como Zn, Pb, Cd, Ni, Cr, e Co. Certos ecotipos desta espécie são capazes de acumular 30,000 ppm Zn e 1.000 ppm de Cd em seus brotos sem exibir sintomas de toxidez, o que também vem demonstrar que realmente há uma variabilidade entre indivíduos de uma mesma espécie quando se observa o potencial fitorremediador (Pence, 2000).

A maioria das espécies com potencial para realizar a fitorremediação, acima citadas, realizam este processo em áreas que foram contaminadas, principalmente, com metais pesados ou elementos radionucleares. No solo, os metais pesados podem se apresentar sob diversas formas, tais como solúvel, trocável, fixada a minerais, precipitada, na biomassa e complexada na matéria orgânica. A mobilidade destes metais nesse ambiente é variável, em função de sua natureza e forma química e também das propriedades químicas, físicas e

biológicas do solo. Cátions divalentes como Zn^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} e Cd^{2+} são altamente hidratáveis e, geralmente, solúveis no solo. Em solos ácidos e bem drenados, a mobilidade relativa desses elementos pode variar. De modo geral, Cd, Zn, Mn e Ni, por exemplo apresentam-se mais móveis que Pb, Cu e Cr (Griffith, 1986).

Uma das grandes dificuldades nos estudos de metais pesados no solo e sua possível acumulação nas raízes e tecidos de algumas plantas diz respeito à determinação das faixas críticas desses elementos no ambiente e também aos critérios empregados no estabelecimento dessas faixas. Para solos, considera-se o grau de fitotoxicidade um dos critérios mais aceitos nos estudos de impacto, mas ainda assim não se têm estabelecidas, até o momento, faixas críticas de aceitação global (Dias e Griffith, 1998).

A toxicidade é considerada uma manifestação de anormalidade e que pode ser devida a qualquer elemento, nutriente ou não. De acordo com Beckett (1991), a determinação da fitotoxicidade de um elemento deve se basear nas seguintes variáveis: redução de crescimento ou produção, visualização de sintomas e avaliação da concentração nos tecidos. Os sintomas mais comuns da toxicidade de metais pesados na parte aérea das plantas são a clorose, similar àquela indicativa de deficiência de ferro, e o aparecimento de manchas foliares de diversas formas.

Em termos fisiológicos, os mecanismos de tolerância vegetal a metais pesados em níveis tóxicos variam desde ligações na parede celular a alterações da permeabilidade das membranas e exsudação de substâncias quelantes até produção de ligantes intercelulares, bombeamento de íons para vacúolos, complexação por ácidos orgânicos, precipitação por fosfatos e ligações metalo-proteína. O gasto de energia para realização desses mecanismos, entretanto, proporciona uma redução no crescimento das plantas tolerantes, quando comparadas com aquelas cultivadas em áreas não contaminadas (Ernst, 1976).

A habilidade do girassol (*Helianthus annuus* L.) em tratar principalmente regiões onde a água está contaminada por vários metais pesados tem sido evidenciada em várias pesquisas. O girassol apresenta uma ação seletiva na absorção destes compostos (Cd>Cr>Ni) respectivamente, porém esta ordem de seletividade pode ser alterada na presença de Cesium. Em solos onde se observava acúmulo de Cd²⁺ e Ni³⁺, quando adicionava-se EDTA era observado um aumento das concentrações destes dois compostos significativamente, ou seja, de 34.21mg/Kg⁻¹ para 14.48mg/Kg⁻¹ (Cd²⁺) e 115.11mg/Kg⁻¹ para 117.10mg/Kg⁻¹ (Ni³⁺). Isto contribuiu para uma drástica redução na biomassa de plantas presentes no local, aproximadamente um decréscimo de 56.53%. A combinação entre o fertilizante e a inoculação de rizobactéria em plantas capazes de restaurar a área contaminada, como o girassol, contribuiu para o aumento da biomassa de plantas e para a redução significativa das concentrações de Cd²⁺ e Ni³⁺ (Cutright *et al* 2001). Segundo Dushenkov e Kumar (1995) uma associação entre espécies de *Brassica sp.* e *Helianthus annuus* L. podem acumular usualmente grandes concentrações de metais pesados em brotos recém formados e nas raízes, retirando-os de solos e águas poluídas.

De acordo com várias investigações, o girassol apresenta uma considerável habilidade para remover Cu de soluções e acumulá-lo principalmente nas células de raiz (Wusheng, Donghua e Haimfeng, 1999).

O chumbo é considerado um radioelemento tóxico devido a sua longa vida no solo ou em áreas contaminadas. Devido aos riscos de uma possível bioacumulação deste elemento, algumas espécies vegetais em tratamento *in situ* são capazes de acumular este elemento em seus tecidos sem demonstrar efeitos tóxicos. Foi comprovado que a mostarda da Índia (*Brassica juncea*) e o girassol (*Helianthus annuus* L.), após várias investigações, removem efetivamente ²³⁹Pu de soluções aquosas (Lee *et al*, 2002).

Segundo Shahandeh e Hossner (2002) o girassol (*Helianthus annuus* L.) e a mostarda da índia apresentam um potencial seletivo para acumular Urânio (U), por processo de fitoextração em solos contaminados, através da associação com outros compostos químicos e com modificações do pH do solo.

Foi observado que uma associação entre uma colônia de fungos com a riz de girassol promoveu a fitoextração do cromo em áreas contaminadas visto que este elemento é um metal pesado de risco para a saúde humana conteminando solos agrícolas e áreas industriais (Davies et al, 2001)

Mesmo apresentando potencial para promover a descontaminação de áreas que foram contaminadas, principalmente com metais pesados, o girassol pode apresentar alguns sintomas que demonstrariam a fitotoxicidade destes elementos. Isso acontece com o cobre, um elemento essencial que pode ser usado como cofator por várias enzimas envolvendo processos biológicos fundamentais, incluindo a síntese de ATP (Bruton, 1983). Porém, quando em excesso, pode causar efeito tóxico nas células de raiz e aberrações cromossômicas, conforme foi demonstrado em *Allium cepa* por Liu et al (1994) além das alterações no comportamento nucleolar. Em *Helianthus annuus* L. o índice mitótico decresceu progressivamente com aumento da concentração de Cu. O índice mitótico está relacionado com o crescimento da raiz sugerindo que a inibição do crescimento da raiz resultou da inibição da divisão celular. A frequência de pontes cromossômicas aumentava à medida que também aumentava a concentração de Cu^{+2} no meio. Observou-se que ocorriam quebras cromossômicas e configurações de pontes na anáfase somente no tratamento por volta de 10^{-3}M de Cu^{2+} (Wusheng, Donghua e Hainfeng, 1999). Além destes efeitos o autor observou que os efeitos do cobre na morfologia de raiz é bastante variado de acordo com as diferentes concentrações de sulfato de cobre. Em concentrações de 10^{-4}M de Cu^{2+} , as raízes demonstraram uma coloração escura e aparentemente enfraquecidas; de 10^{-3}M de Cu^{2+} as raízes também se

apresentaram fracas de coloração marron e retorcidas. E de 10^{-2} M Cu, as raízes apresentaram coloração preta e estavam podre.

Além da avaliação dos efeitos do cobre no girasol, em *Allium cepa* os efeitos do Al^{3+} em concentrações entre 10^{-5} a 10^{-4} M na morfologia dos cromossomos também compreendem algumas anormalidades como c-mitoses, pontes em anáfases, cromossomos pegajosos. E em concentrações do Al^{3+} por volta de 10^{-2} M os efeitos estão diretamente relacionados ao nucléolo, onde observou-se um fenômeno no qual o material nucleolar foi expulso do núcleo num período de 24h de tratamento (Liu e Jiang, 1991). Os efeitos do Al^{3+} no crescimento da raiz em *Allium cepa* também variam de acordo com a concentração de cloreto de alumínio na solução. O crescimento da raiz reduzia progressivamente quando aumentava a concentração de Al^{3+} . As raízes apresentavam pequenos efeitos tóxicos em concentrações por volta de 10^{-3} M e fortes efeitos em concentrações em torno de 10^{-2} M. O efeito na morfologia da raiz varia de acordo com a concentração do contaminante, entre 10^{-5} e 10^{-4} M a morfologia da raiz apresentou-se normal durante 4 dias de tratamento. Entretanto, nas concentrações em torno de 10^{-2} M as raízes exibiram mudanças claras após 2 dias de tratamento, onde o crescimento do meristema foi atrofiado além de demonstrar um inclinação por várias direções (Liu e Jiang, 1991).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material genético

A espécie herbácea *Helianthus annuus* L., o girassol, foi selecionada para este estudo por apresentar potencial fitorremediador, descrito na literatura, e ainda propiciar efeito paisagístico nas áreas de rejeito do SPL onde porventura forem plantados.

Foram usadas sementes de três variedades comerciais de *Helianthus annuus* L.: Aagrobelt965 (A), BRS191 (B) e C11 (C), cedidas pelo Centro Nacional de Pesquisa em Soja da EMBRAPA, Londrina-PR.

3.2 Ensaio de avaliação do efeito do SPL

O resíduo SPL (25% carbono, 11% alumínio, 18% fluoreto, 5% sódio, 1% cianeto), resultante do processo de fabricação de alumínio, foi fornecido pela ALCOA, Poços de Caldas-MG.

Foram testadas sete diluições do SPL: 0%, 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8%, 1% e 3% nos três genótipos do girassol citados acima, perfazendo um total de 21 tratamentos. A correlação entre a porcentagem dos elementos químicos que compõem o SPL em cada diluição testada encontra-se representada na Tabela 1.

TABELA 1 - Correlação entre a concentração dos elementos químicos em porcentagem que compõem o SPL em cada diluição testada

Diluições de SPL	Concentração				
	Carbono	% Alumínio	Fluoreto	Sódio	Cianeto
0,2%	0,05	0,02	0,03	0,01	0,002
0,4%	0,1	0,04	0,07	0,02	0,004
0,6%	0,15	0,06	0,10	0,03	0,006
0,8%	0,2	0,08	0,14	0,04	0,008
1%	0,25	0,11	0,18	0,05	0,01
3%	0,75	0,33	0,54	0,15	0,03

Cada tratamento apresentou quatro repetições dispostas em delineamento inteiramente casualizado. As parcelas foram constituídas de caixas plásticas (gerbox) contendo areia média lavada e esterilizada e resíduo SPL, nas diferentes concentrações citadas acima, em cada caixa (parcela) foram semeadas 25 sementes. As caixas foram mantidas em casa-de-vegetação por um período de 48 horas e o número de sementes germinadas foi avaliado visualmente diariamente. Quando as radículas atingiram cerca de 0,5 cm de comprimento, foram coletadas, fixadas em Carnoy (etanol:ácido acético 3:1) e armazenadas a 4°C, para posterior preparo de lâminas.

3.3 Análise citológica

A análise citológica foi realizada no Laboratório de Citogenética do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras. Foram preparadas 5 lâminas por repetição dos 21 tratamentos que apresentaram sementes

germinadas. As lâminas foram confeccionadas utilizando-se o método de esmagamento, em que as raízes após serem submetidas a uma hidrólise em HCl 1N a 60°C por 8 min, foram coradas com reativo de Schiff por 20 min. Os meristemas corados foram excisados sob microscópio estereoscópio e macerados em ácido acético 45%. As laminulas foram retiradas utilizando nitrogênio líquido e as lâminas foram montadas de forma permanente.

Em cada lâmina foram analisadas 100 células, aleatoriamente, contando o número de células em divisão (independente da fase), totalizando 500 células avaliadas por repetição. Assim, foram obtidos índices mitóticos (número total de células em divisão/número total de células analisadas x 100). Foram avaliadas também as alterações no ciclo celular.

A observação e análise das lâminas foram feitas com uso de microscópio Carl Zeiss Ergaval e Olympus BX60, sob iluminação de campo claro, usando objetivas de aumento de 20, 40 e 100 vezes (imersão a óleo). As figuras de interesse foram capturadas diretamente do microscópio Olympus BX60 por meio de microcâmera Optronics (LE-470) acoplada ao microscópio e a um microcomputador Pentium III 600 MHz.

3.4 Análise estatística

3.4.1 Germinação

A análise estatística foi realizada definindo os tratamentos conforme uma estrutura fatorial de 7 concentrações de SPL x 3 genótipos de girassol e 4 repetições.

A variável de resposta, número de sementes germinadas por parcela, possuía uma distribuição de probabilidade binomial. Assim, optou-se por utilizar uma teoria de modelos lineares generalizados (MacCullagh e Nelder,

1989), que possibilita levar em conta diferentes distribuições de probabilidade.

A função ligadora selecionada foi a função logística:

$$P_{ij} = \frac{\exp(\eta_{ij})}{1 + \exp(\eta_{ij})}$$

na qual P_{ij} é a probabilidade de germinação na parcela contendo o genótipo j , submetido à concentração i ; “exp” é a função exponencial, e η_{ij} , correspondente ao preditor linear, por sua vez dado por:

$$\eta_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij}$$

sendo:

μ : constante comum a todas as observações

α_i : efeito da concentração i de SPL

β_j : efeito do genótipo j

$(\alpha\beta)_{ij}$: efeito da interação dupla entre a concentração i de SPL e os genótipos j .

A significância de tais efeitos foi testada utilizando a chamada “Análise de Deviance” (MacCullagh e Nelder, 1989). A estimação dos efeitos e a análise de deviance foram feitas utilizando-se o procedimento “genmod” do software SAS[®] (SAS Institute, 1996). Verificada a significância de alguns dos termos da estrutura fatorial (fatores principais ou interação), o modelo era reparametrizado a partir de um modelo de regressão polinomial, constituindo-se novos preditores, utilizando para isso o método de “backward” (Draper e Smith, 1981).

Substituindo o preditor na função ligadora logística, foi possível obter uma curva de resposta da frequência esperada de porcentagem de sementes germinadas, em função da concentração de SPL, nos três genótipos avaliados. Realizou-se uma avaliação visual das sementes para a averiguação de possíveis sintomas de fitotoxicidade.

3.4.2 Índice mitótico

Para avaliação do índice mitótico, os tratamentos foram definidos conforme uma estrutura fatorial com 7 concentrações e 3 genótipos, sendo dispostos em delineamentos inteiramente casualizados, com 4 repetições. Apesar de a variável de resposta também ser uma contagem, foi feito um teste de normalidade para verificar a qualidade da aproximação normal à binomial. Sendo satisfatória, as análises foram então realizadas utilizando o procedimento “glm” do SAS[®]. Verificada a significância da interação, foram feitos os desdobramentos possíveis. Os genótipos foram comparados dentro das concentrações de SPL por meio do teste de Tukey ($\alpha= 0,05$). O efeito das diferentes concentrações, em cada genótipo, foi avaliado através do ajuste de modelos de regressão múltipla, utilizando o método de “backward” (Droper e Smith, 1981). Todas as análises foram feitas no software SAS[®] (SAS Institute, 1996).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Efeitos do SPL sobre a germinação das sementes de girassol

O experimento propiciou a observação dos efeitos das diferentes concentrações de SPL na germinação dos genótipos de girassol Agrobél 965, BRS 191 e C11. A concentração 3% de SPL foi letal aos genótipos de girassol inibindo totalmente a germinação das sementes, optando-se, então, por não utilizá-las nas análises.

A Tabela 2 apresenta a análise de deviance referente à porcentagem de sementes germinadas, considerando a parametrização: modelo fatorial. O valor da deviance do modelo completo (resíduo) foi de 16.1449, correspondendo a 0,3 vez o número de graus de liberdade (54). Assim, pode-se considerar o modelo satisfatório, aprofundando-se na recomendação de que a deviance não esteja duas vezes acima do número de graus de liberdade

Pode-se observar na Tabela 2 que a interação envolvendo todos os dois fatores do modelo fatorial foi significativa, sugerindo que os níveis de cada fator só devem ser comparados fixando-se os níveis do outro fator.

TABELA 2 - Análise de deviance referente à porcentagem de sementes de girassol germinadas, correspondente ao modelo fatorial¹

CAUSAS DE VARIACÃO	GRAUS DE LIBERDADE	QUI-QUADRADO χ^2	PROBABILIDADE ($> \chi^2$)
Genótipo	2	92,5116	0,001
Concentração de SPL	5	23,00986	0,001
Genótipo x Conc. de SPL	54	16.449	

1. Testes de qui-quadrado do tipo III (parciais).

Na Tabela 3 verifica-se a estimativa dos parâmetros do modelo de regressão múltipla selecionado pelo método backward. Considerando-se os parâmetros retidos no modelo, observa-se uma coerência em relação à significância da interação dupla (Tabela 2), uma vez que há termos que envolvem produtos entre o genótipo e a concentração de SPL, bem como vários termos que contém a variável indicadora Z. Esse último aspecto faz com que três curvas de respostas sejam necessárias para descrever a porcentagem de sementes germinadas, conforme cada genótipo. O valor da deviance do modelo foi de 73,7471 correspondendo a 0,3 vez o número de graus de liberdade (63), o que se pode considerar como modelo satisfatório, visto que a deviance não está acima duas vezes o número de graus de liberdade.

TABELA 3 - Estimativas dos parâmetros retidos no modelo de regressão múltipla após o processo de "backward", referente à característica porcentagem de sementes de girassol germinadas¹.

PARÂMETRO	ESTIMATIVA	QUI-QUADRADO	PROBABILIDADE
<i>Intercepto</i>	2.0321	47.6219	0.0001
Z1	0.5839	1.7082	0.1912
Z2	0.2033	0.2374	0.6261
Concentração	5.1229	10.6237	0.0011
Z1C	-8.2675	15.9003	0.0001
Z2C	-6.6197	10.9558	0.0009
C ²	-12.5929	44.5919	0.0001
Z1C ²	14.4361	41.7379	0.0001
Z2C ²	12.8572	34.4637	0.0001

1. Z: variáveis indicadoras para discriminar os genótipos A B e C; C: concentrações de SPL

Pelos gráficos da Figura 1 observa-se que a germinação tende a diminuir à medida que aumentam as concentrações de SPL; porém, para os três genótipos, o comportamento foi diferenciado em resposta a essas concentrações. Os genótipos A e B comportaram-se de maneira semelhante. Na Figura 1 A, a curva obtida para o genótipo Agrobelt 965 evidencia uma redução linear da porcentagem de sementes germinadas no intervalo de 0 e 0,6% de SPL, e a partir dessa última concentração, o índice de germinação tende a se estabilizar. Com isso, sugere-se que esse genótipo consegue manter índices de germinação relativamente altos (cerca de 75%), até ser submetido a uma concentração entre 1 e 3% de SPL, que inibe totalmente a germinação. O genótipo BRS 191 comportou-se de maneira semelhante ao Agrobelt 965, em que também observou-se uma redução linear da porcentagem de sementes germinadas no intervalo de 0 a 1% de SPL, conforme é demonstrado na Figura 1B. Assim, diferentemente do genótipo A, o genótipo B apresenta decréscimo contínuo até alcançar valor zero encontrado na concentração de SPL 3%.

A curva do genótipo C 11 (Figura 1C) demonstra um comportamento diferenciado. Quando submetido a concentrações de até 0,4% de SPL, o índice de germinação foi uniforme e alto (cerca de 90%), mostrando tolerância do genótipo a essa faixa de concentração. A partir desse valor de concentração de SPL, o número de sementes germinadas foi reduzido drasticamente, alcançando valor zero já a partir da concentração de SPL 1%.

Nas menores concentrações de SPL, principalmente até 0,4%, observou-se um número alto de sementes germinadas em que o índice de germinação alcançou valor aproximado de 85% nos três genótipos testados.

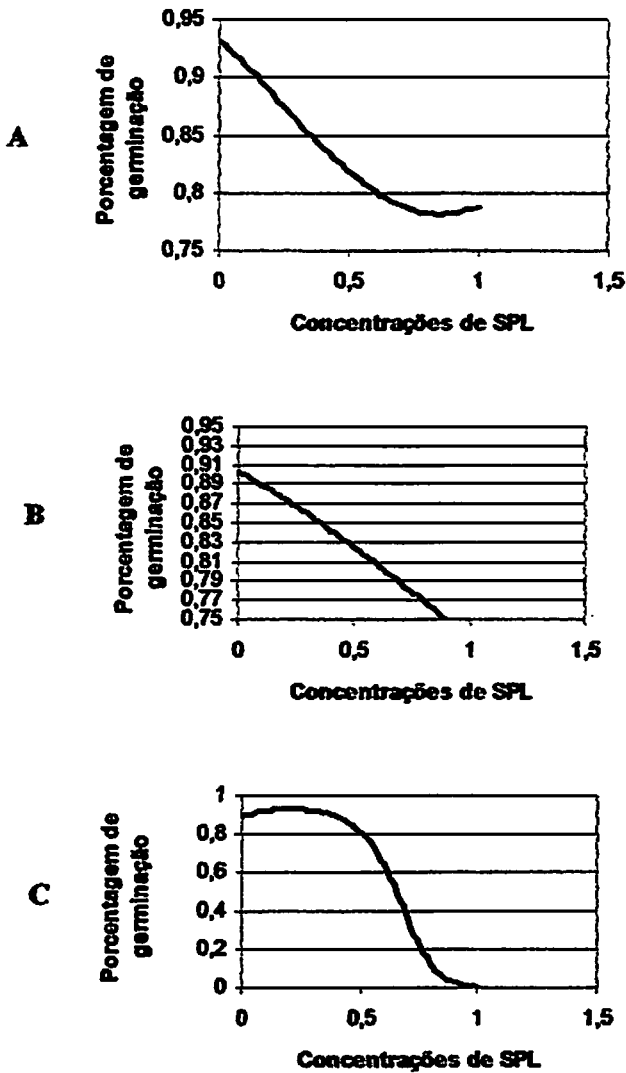


FIGURA 1 – Efeito das concentrações de SPL sobre a germinação de sementes dos genótipos de girassol: A- Agrobelt 956, B- BRS 191 e C- C11.

Conforme apresentado nos resultados, a germinação das sementes de girassol não foi afetada de maneira a impedir totalmente a germinação nas diferentes concentrações de SPL; a redução da germinação ocorreu somente nas maiores concentrações. A maioria dos componentes químicos presentes no SPL não interfere diretamente no processo de germinação das sementes. Segundo Souza (1993), o cianeto interfere no sistema citocromo-oxidase, bloqueando o processo de respiração celular e, por consequência, poderia diminuir uma fonte de energia, com a formação de ATP necessária ao desenvolvimento das radículas. No entanto, nas primeiras horas da germinação, as mitocôndrias não são funcionais, o que mostra que o cianeto não interferiria no processo de germinação nas maiores concentrações de SPL. O Al induz a inibição do alongamento das raízes, mas não interfere diretamente na germinação das sementes, o que impede o desenvolvimento de novas raízes e o estabelecimento de plântulas (Thorton, 1986). Algumas sementes dos três genótipos demonstraram sintomas de fitotoxicidade. Os principais sintomas observados referem-se à estabilização no crescimento das radículas, pois, a partir do terceiro dia de observação, algumas delas apresentavam uma coloração escura, semelhante a um processo de necrose do tecido. Esse efeito pode estar relacionado à presença do fluoreto no SPL, visto que esse elemento é capaz de provocar a morte das células, principalmente quando encontra-se no solo em concentrações acima de 1 mg/L^{-1} (Amaral, 1998).

Em uma primeira análise, a resposta dos genótipos utilizados foi semelhante em termos de germinação, mas algumas inferências podem ser feitas analisando-se o traçado das curvas na Figura 1. O comportamento do genótipo A em relação a sua tendência em manter a taxa de germinação estabilizada a partir da concentração 0,6% de SPL pode estar relacionado à ativação de processos moleculares, fisiológicos e bioquímicos responsáveis pela tolerância desse genótipo à composição química do SPL. Segundo Mossor-Pietraszewska (2001),

os mecanismos de tolerância desenvolvidos pela maioria das espécies vegetais, principalmente em referência à tolerância ao Al^{3+} , iniciam-se por processos moleculares, como a ativação de genes específicos para esse fim, e, em seguida, desenrola-se uma série de etapas envolvendo vários processos bioquímicos e fisiológicos. Porém, cada espécie apresenta um nível crítico de tolerância a determinados compostos químicos. Isso, provavelmente, foi o que observou-se no genótipo A de girassol no qual, a partir da concentração 1 até 3% de SPL, ocorreu total inibição da germinação. Isso pode indicar que, nessa faixa de concentração, encontra-se o limite de tolerância desse genótipo ao SPL, sendo a concentração 3% completamente letal para as sementes. No genótipo B, no qual se observou uma redução linear da porcentagem de sementes germinadas quando essas foram submetidas a concentrações de SPL, provavelmente não houve ativação de mecanismos de tolerância (Figura 1B).

O genótipo C apresentou altas taxas de germinação até a concentração 0,4% de SPL, e a partir dessa, houve uma redução drástica da porcentagem de sementes germinadas (Figura 1C). Por meio desses resultados obtidos para o genótipo C, reforça-se a idéia de que realmente pode haver uma faixa crítica de tolerância do girassol ao SPL e que para esse genótipo, seria até a concentração 0,4%.

Os três genótipos responderam de maneira semelhante quando submetidos à concentração de SPL de até 0,4%, apresentando um índice de germinação de cerca de 85%; no entanto, a partir dessa concentração, os genótipos comportaram-se de maneira diferenciada. Os genótipos A e B mantiveram o decréscimo da taxa de germinação, e o A, a partir da concentração 0,6%, apresentou uma tendência de estabilizar a taxa de germinação até a concentração 1%. Na faixa de concentração entre 0,4 e

1%, pode-se notar uma variação entre os genótipos, e o A mostrou uma tendência maior à tolerância ao SPL.

4.2 Efeitos do SPL sobre o ciclo celular de sementes de girassol

Embora os genótipos tenham se comportado de forma semelhante quanto à germinação, para alguns dos tratamentos a que foram submetidos, observou-se uma diferença significativa em relação ao índice mitótico em resposta às diferentes concentrações de SPL (Tabela 4).

A análise de variância mostrou-se significativa em relação às três causas de variação, sendo necessário um desdobramento da interação genótipo x concentração de SPL.

No primeiro desdobramento da interação, avaliou-se a resposta dos genótipos dentro de cada concentração de SPL. Pelo teste de F, verificou-se que nas concentrações 0,2, 0,6 e 0,8% de SPL, houve diferença significativa entre os genótipos. Na Tabela 5 estão apresentados os resultados do teste de Tukey para essas três concentrações

TABELA 4 - Resumo da análise de variância para valor de índice mitótico em células meristemáticas de raízes de girassol submetidas a concentrações de SPL

F.V.	G.L.	QUADRADO MÉDIO
		IM
Genótipo	2	0.17147256**
Concentração SPL	5	0.38344565**
Genótipo x concentração SPL	9	0.6212721**
CV (%)	22	

(**) - significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.

TABELA 5 - Comparação das médias em porcentagem dos genótipos dentro das concentrações de SPL pelo teste Tukey ($\alpha=0,05$)

Concentração de SPL	Genótipos	Médias
0,2	A	0,729 a
0,2	B	0,668 a
0,2	C	0,499 a
0,6	A	0,661 a
0,6	B	0,235 a
0,6	C	0,216 b
0,8	A	0,700 a
0,8	B	0,455 a
0,8	C	0,233 a

Com a comparação das médias dos genótipos dentro de cada concentração de SPL, foi possível diferenciá-los apenas na concentração 0,6 de SPL. Na concentração 0,2 observou-se que o valor da probabilidade obtida pelo teste F dentro dos genótipos foi muito próximo do nível estabelecido de significância. Para a concentração 0,8, a não diferenciação dos genótipos se deve, provavelmente, ao fato de a estimativa do efeito do genótipo C ter sido feita com menor precisão, visto que apenas uma repetição desse genótipo foi avaliada nessa concentração.

Num segundo desdobramento, concentração dentro de genótipos, observou-se que o efeito das concentrações de SPL só foi significativo para os genótipos A e B. Portanto, o genótipo C, apesar de ter sido mais afetado em relação ao índice de germinação, pelo SPL, não teve o ciclo celular de células meristemáticas de raiz afetado, apresentando valores altos (cerca de 70%).

As estimativas dos parâmetros do modelo de regressão múltipla construído pelo método backward, para explicar o comportamento dos genótipos A e B estão apresentadas na Tabela 6.

Considerando-se os parâmetros retidos no modelo, observa-se uma coerência em relação à significância da interação genótipo x concentração de SPL observada na Tabela 3. Com isso, foi possível criar duas curvas de resposta para descrever a porcentagem de células em divisão para cada genótipo (Figura 2)

TABELA 6 - Estimativa dos parâmetros retidos no modelo de regressão múltipla após o processo de backward, referente à característica porcentagem de células em divisão¹.

PARÂMETRO	ESTIMATIVA	QUI-QUADRADO	PROBABILIDADE
<i>Intercepto</i>	0.806663	13.404	0.0001
Z1	0.135263	1.676	0.0995
Z2	0.041211	0.511	0.6112
Concentração de SPL	-0.625885	-2.996	0.0041
Z1D	-0.719191	-3.894	0.0003
Z2D	-0.674497	-3.660	0.0006
C ²	0.702703	3.296	0.0017

1. Z: variáveis indicadoras para discriminar os genótipos A, B e C; C: concentrações de SPL

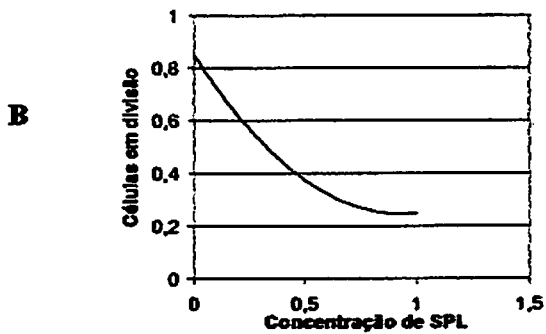
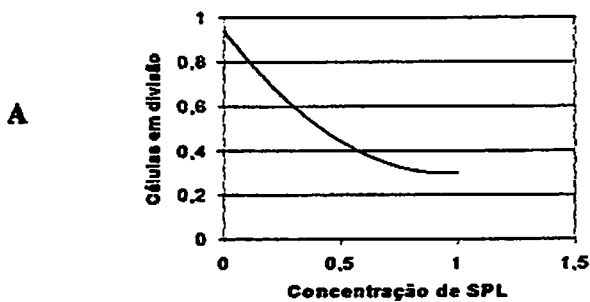


FIGURA 2 – Efeito da concentração de SPL sobre o índice mitótico de células meristemáticas de raiz de girassol: A- Agrobabel 965 e B- BRS 191

Os genótipos A e B apresentaram comportamento semelhante em resposta à influência das diferentes concentrações de SPL a que foram submetidos sobre o índice mitótico, conforme demonstrado na Figura 2. Para os dois genótipos, houve uma redução do índice mitótico à medida que aumentou a concentração de SPL. Essa redução do índice mitótico foi observada até o intervalo de concentração de SPL de 0,6%, e a partir desse valor de concentração, o índice mitótico dos genótipos A e B tende a estabilizar-se em valores aproximados de 30%.

A presença de anormalidades no ciclo celular foi observada para os três genótipos, sendo mais comumente encontradas pontes em anáfases e telófases, metáfases com cromossomos desprendidos e cromossomos pegajosos (Figura 3). No entanto, os índices observados foram baixos, em torno de 5%, demonstrando-se que não houve indução de alterações no ciclo pelos componentes do SPL.

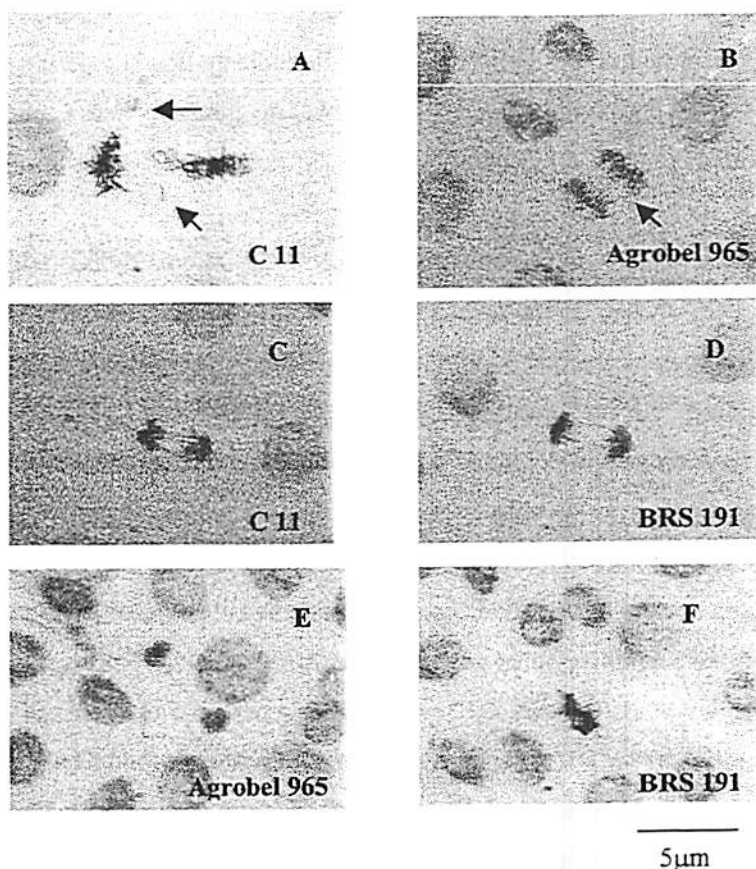


FIGURA 3 - Principais anomalias observadas nos genótipos Agrobelt 965, BRS 191 e C11 submetidos a diferentes concentrações de SPL. **A-** Metáfases com cromossomos desprendidos. **B-** Anáfase com ponte. **C e D-** Telófases com ponte e fragmentos cromossômicos. **E-** Telófase com ponte. **F-** Metáfase com cromossomos pegajosos

A manutenção do ciclo celular está diretamente ligada à germinação das sementes e ao desenvolvimento das radículas de girassol. Seu conhecimento auxilia na avaliação do estabelecimento da radícula e, posteriormente, da plântula.

Os resultados da presente investigação indicam uma redução do número de células em divisão do meristema de raiz de girassol à medida que ocorre um aumento nas concentrações de SPL, a qual pode estar relacionada diretamente à presença de Al e F na composição do SPL. Segundo Gunsé (1997), o primeiro efeito do Al na célula é alterar a permeabilidade da membrana plasmática, facilitando a passagem do alumínio e dos demais componentes para o interior da célula. Dentre os vários efeitos tóxicos causados pelo Al, a inibição da divisão celular é um dos efeitos que pode estar relacionado à redução da porcentagem de células em divisão observadas nos genótipos A e B quando expostos às maiores concentrações de SPL (entre 0,6 e 1%). Com concentrações mais elevadas de fluoreto, entre 10^{-3} e 10^{-2} M, em um experimento realizado por Khalil e Dadara (1994) utilizando cultura de células de medula de rato, ocorreu uma significativa redução do índice mitótico. O fluoreto, portanto, também poderia estar influenciando a taxa de mitoses das sementes de girassol.

Porém, a avaliação do primeiro desdobramento das análises mostrou que, a partir da concentração 0,6% de SPL, o índice mitótico dos genótipos A e B tende a estabilizar. Isso poderá ser uma indicação de que embora tenha ocorrido forte redução do índice mitótico com o aumento das concentrações, não foi observada uma completa inibição do processo de divisão, pois foi mantida uma taxa em torno de 30%.

A redução do índice mitótico nas concentrações de SPL nos genótipos A e B coincidiu com a redução da porcentagem de sementes germinadas desses genótipos nessas mesmas concentrações. Isso evidencia que os componentes do

SPL atuaram diretamente sobre o processo de divisão celular, o que, indiretamente, interfere na germinação de sementes e no desenvolvimento da radícula.

O fato de o índice mitótico do genótipo C não ter sido afetado pelas concentrações de SPL contrapõe-se os resultados obtidos em relação à porcentagem de sementes germinadas do genótipo C, em que nas maiores concentrações de SPL esse valor foi muito baixo.

O comportamento do genótipo C pode estar relacionado ao fato de que segundo Wiltse *et al* (1998), as espécies diferenciam-se quanto à capacidade de comportar-se como fitorremediadoras, e essa variação também ocorre no nível intraespecífico. Sendo assim, o genótipo C pode ter apresentado maior tolerância ao SPL, em relação aos genótipos A e B, que mantiveram uma estabilidade do índice mitótico somente a partir da concentração 0,6% de SPL.

Pode-se inferir, portanto, que o genótipo C do girassol, neste experimento, é menos suscetível aos elementos Al e F que atuam diretamente na inibição da divisão celular, do que aos genótipos A e B. Um comportamento semelhante ao do girassol foi observado em espécies como *Medicago sativa* L. (alfafa). Vinte genótipos foram testados com objetivo de serem usados na descontaminação de solos contaminados por óleo mineral; no entanto apenas dois genótipos foram selecionados, os quais mostraram resultados favoráveis (Wiltse *et al* 1998). E em *Thalasspi caerulescens*, alguns genótipos são capazes de acumular níveis mais elevados de Zn e Cd em seus brotos, sem exibir sintomas de toxidez (Pence *et al* 2000).

As anormalidades identificadas no ciclo celular do girassol, como as pontes cromossômicas em anáfases e telófases, metáfases com cromossomos desprendidos ou pegajosos, apresentaram-se nos três genótipos avaliados, sendo possível encontrá-las em todas as concentrações de SPL. Essas mesmas anormalidades também foram observadas no ciclo celular do girassol quando


submetido a concentrações de cobre, e elas foram mais comumente encontradas em concentrações específicas de 10^{-3} M de cobre presente no meio (Wusheng, Donghua, Hainfeng, 1999). Essas anormalidades encontradas no ciclo celular do girassol quando as sementes foram submetidas às concentrações de SPL podem estar relacionadas com a presença do Al na composição desse residuo, visto que Liu e Jiang (1991) observaram em *Allium cepa* alterações na morfologia dos cromossomos e algumas anormalidades, como c-mitoses, pontes em anáfases e cromossomos pegajosos, quando essa espécie foi submetida a concentrações de Al entre 10^{-5} a 10^{-4} M. Segundo Oliveira (1986), o Al pode provocar efeitos mutagênicos, alterando a estrutura do DNA, o que também pode estar relacionado a presença dessas anormalidades no ciclo celular do girassol exposto às diferentes concentrações de SPL.

A redução da porcentagem do número de células em divisão, assim como um aumento da presença de anormalidades observadas no ciclo celular poderiam ter sido mais acentuados; porém, de acordo com McBride (1994), a presença de F^- e Al^{3+} leva à formação de complexos AlF_2^+ o que neutralizaria quase que na totalidade a ação direta do íon Al^{3+} nas radículas de girassol quando submetidas aos tratamentos com SPL.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A fitorremediação tem sido considerada uma tecnologia emergente e com grande expectativa, pois espera-se “limpar” o ambiente de maneira que seja possível o estabelecimento da composição e frequência de espécies originalmente encontradas, evitando o emprego de agentes químicos. No caso das áreas de deposição dos resíduos da fabricação de alumínio, espera-se, no mínimo, que a recuperação permita o crescimento de espécies vegetais que descontaminem o local, para que se consiga diminuir o impacto ambiental causado pelo resíduo. O emprego de espécies conhecidamente tolerantes ao estresse mineral, para serem estabelecidas nessas áreas contendo SPL parece indicado, uma vez que, de acordo com Little (1988, em Mossor-Pietraszewska, 2001), a tolerância ao estresse mineral está frequentemente combinada com a tolerância a outros estresses.

Para o girassol, não existem trabalhos disponíveis na literatura que evidenciem seu potencial fitorremediador ao SPL, principalmente avaliando a taxa de germinação e as possíveis alterações no ciclo celular. No entanto, o girassol, nessas primeiras análises, mostrou-se como uma possível ferramenta biológica a ser utilizada na fitorremediação de áreas de rejeito do SPL. Porém, tornam-se necessária a utilização e associação de novas técnicas de avaliação, assim como uma análise mais detalhada dos efeitos de cada um dos componentes do SPL nas radículas para que se encontrem novos subsídios que permitam identificar de forma mais precisa a tolerância do girassol ao resíduo da fabricação do alumínio, principalmente avaliando-se os efeitos isolados de cada um de seus componentes e sua disponibilidade para planta em um substrato. Um exemplo seria realizar diluições do SPL em solos adubados e corrigidos, onde



certamente as sementes encontrariam melhores condições para sobreviverem, do que quando expostas diretamente em contato com o contaminante (SPL) diluído apenas em areia. E ainda a utilização de um número maior de genótipos do girassol ou até mesmo de outras espécies para melhor seleção para tolerância ao SPL.

6 CONCLUSÃO

Há variabilidade intraespecífica para resposta dos três genótipos de girassol ao SPL. Os genótipos A (Agrobel 965), B (BRS 191) e C (C11) demonstraram tolerância diferenciada no que diz respeito à taxa de germinação e índice mitótico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCOA. Centro de Informática. Apresenta informações sobre a fábrica de produção de alumínio ALCOA de Poços de Caldas-MG. Disponível em: <<http://www.alcoa.com.br>>. Acesso em: 10 de julho de 2002.

AMARAL, I. P. **Efeitos do flúor sobre o alumínio e o fósforo em um podzólico vermelho-amarelo e sua acumulação em algumas espécies vegetais.** 1998. 118 p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

BARCLAY, M.; HART, A.; KNOWELS, C.; MEEUSSEN, J. C. L.; TETT, V. A. Biodegradation of metal cyanides by mixed and pure cultures of Fungi. *Enzyme and Microbial Technology*, Oxford, v. 4, n. 22, p. 223-231, Mar. 1998.

BECKETT, P. H. T. Critical tissue concentration as indicators of toxicity. *Suelos Ecuatoriales*, v. 21, p. 39-44, 1991.

BLANCAFLOR, E. B.; JONES, D. L.; GILROY, S. Alterations in the cytoskeleton accompany aluminium induced growth inhibition and morphological changes i primary rotos of maize. *Plant Physiology*, Rockville, v. 118, n. 1, p. 159-172, Sept. 1998.

BURTON, K.; W.; MORGAN, E.; ROIG, A. The influence of heavy metals upon the growth of sitka-spruce in south Wales forests. *Plant Soil*, Dordrecht, v. 73, n. 3, p. 327-336, 1983.

CARNEIRO, M. A. C. **Características bioquímicas do solo em duas cronossequências de reabilitação em áreas de mineração de bauxita.** 2000. 166 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CHUN, S.; NISHIYAMA, M.; MATSUMOTO, S. Sodic soils reclaimed with by-product from flue gas desulfurization: corn production and soil quality. **Environmental Pollution**, Oxford, v. 114, n. 3, p. 453-459, Dec. 2001.

CONN, E. E. Cyanogenic compounds. **Annual Review in Plant Physiology**, Palo Alto, v. 31, p. 433-451, 1980.

CUTRIGHT, T.; J.; SZPAK, J.; FALLON, E. Uptake, selectivity, and inhibition of hydroponic treatment of contaminants. **Journal of Environmental Engineering**, Reston, v. 127, n. 6, p. 502-508, June 2001.

DAVIES F. T.; PURYEAR J. D.; NEWTON R. J.; EGILLA J. N.; GROSSI J. A. S. Mycorrhizal fungi enhance accumulation and tolerance of chromium in sunflower (*Helianthus annuus*). **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 158, n. 6, p. 777-786, June 2001.

DIAS, L. E.; GRIFFITH, J. J. **Estratégias para recuperação de áreas degradadas**. Viçosa: UFV, 1998. 12 p.

DRAPER, N. R.; SMITH, H. **Applied Regression Analysis**. New York: John Wiley, 1981. 709 p.

DUSHENKOV, V.; KUMAR, P.; B.; A.; N.; MOTTO, H.; RASKIN, I. Phytoextraction the use of plants to remove heavy metals from soils. **Environ Science Technology**, Washington, v. 29, n. 5, p. 1239-1245, May 1995.

EBBS, S.D.; KOCHIAN, L.V. Phytoextraction of zinc by oat (*Avena sativa*), Barley (*Hordeum vulgare*), and Indian mustard (*Brassica juncea*). **Environmental Science and Technology**. New York, v. 6, n. 32, p. 802-806, 1998.

EBBS S. D.; KOCHIAN L. V. Toxicity of zinc and cooper to brassica species implications for phytoremediation. **Journal of Environmental Quality**, Washinton, v. 26, n. 3, p. 776-781, Mar. 1997.

ELTROP, L.; BROWN, J. O.; BRINKAMNN, K. Lead tolerance of betula and salix in the mining area of Mechernich/Germany. *Plant and Soil*, Dordrecht, v. 131, n. 2, p. 279-285, Mar. 1991.

ERNST, W. H. O. Physiological and biochemical aspects of metal tolerance. *Effects of air pollutants on plants*. Cambridge: Cambridge University Press, 1976. p. 115-133.

FRANCO, A. A.; CAMPELLO, E. F.; FARIA, S. M. Revegetation of acidic residues from bauxite mining using nodulated and mycorrhizal legume trees. In: *Nitrogen fixing trees research reports*, 1995. p. 33-320.

GRIFFITH, J. J. Recuperação de áreas degradadas em unidades de conservação. Viçosa: UFV, 1986. 4 p.

GUNSE, B.; POSCHENRIEDER, CH.; BARCELÓ, J. Water transport properties of roots and root cortical cells in próton and Al-stressed maize varieties. *Plant Physiology*, Rockville, v. 113, n. 2, p. 595-602, Feb. 1997.

HANSRUEDI, F. Fields trials for in situ decontamination of heavy metal Polluted soils using crops of metal accumulating plants. *Zeitschrift fuer Pflanzenerneahrung und Bodenkunde*, Weinheim, v. 5, n. 160, p. 525-529, 1997

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. Trace elements in soils and plants. Florida: CRC Press, 1985. 315 p.

KHALIL, A. M.; DADARA, A. A. The genotoxic and cytotoxic activities of inorganic fluoride in cultured rat bone-marrow cells. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, New York, v. 26, n. 1, p. 60-63, Jan. 1994

KOBIYAMA, M.; USHWATA, C. T.; BARCIK, C. Recuperação de áreas degradadas: conceito, um exemplo e uma sugestão. **Bio. Seneamento e Progresso**, Rio de Janeiro, n. 6, p. 95-102, 1993.

KOCHIAN, L.V. Cellular mechanism of aluminium toxicity and resistance in plants. **Annual Review Plant Physiology Molecular Biology**, Palo Alto, v. 46, p. 237-260, 1995

KORCAK, R. F.; FANNING, D. S. Availability of applied heavy metals as a function of type of soil material and metal source. **Soil Science**, Baltimore, v. 140, n. 1, p. 23-34, Jan. 1985.

LARSON, W. E.; PIERCE, F. J. Conservation and enhancement of soil quality. **Evaluation of sustainable management in the development world**. Bangkok, Thailand: International Board for soil Research and Manage, 1991. p. 175-205.

LEE J. H.; HOSSNER L. R.; ATTREP M.; KUNG K. S. Uptake and translocation of plutonium in two species using hydroponics. **Environmental Pollution**, Oxford, v. 117, n. 1, p. 61-68, 2002.

LINARDI, V. R. **Degradação biológica de cianetos: a importância do desenvolvimento da tecnologia para obtenção de um tratamento biológico**. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2002.

LIU D.; JIANG W. Effects of Al^{3+} on the nucleolus in root tip cells of *Allium cepa*. **Hereditas**, Landskrona, v. 115, p. 213-219, 1999.

LIU, D.; JIANG, W.; S.; LU, C.; ZHAO, F. M. Effects of Cooper sulfate on the nucleolus of *Allium cepa* root-tip cells. **Hereditas**, Landskrona, v. 120, n. 1, p. 87-90, 1994.

McCULLAGH, P.; NELDER, J. **Generalized Linear Models**. London: Chapman and Hall, 1989.

MAYER, J. D. Fauna studies and land reclamation technology: review of the history and need for such studies. **Animals in primary succession: the role of fauna in reclaimed lands**. London: Cambridge University Press, 1989. p. 3-33.

MOSSOR-PIETRASZEWSKA, T. M. Effect of aluminium on plant growth and metabolism. **Acta Biochimica Polonica, Praha**, v. 48, n. 3, p. 673-686, 2001

NOEMMIK, H. Fluorine in Swedish agricultural products, soils and drinking water. **Acta Polytechnica, Prague**, v. 127, p. 1-121, 1953.

OLDEMAN, L. R.; LYNDEN, G. W. J. Revisiting the GLASOD methodology. In: LAL, R.; BLUM, W. H.; VALENTINE, C.; STEWART, B. A. (Ed). **Methods of assessment of soil degradation**. New York: CRC Press, 1998. p. 423-440.

OLIVEIRA, I. P. **Efeitos do alumínio e de micronutrientes no feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 1986. 195 p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, Sp)

OLIVEIRA, J. G.; ZANATTA, P. R.; FERREIRA, C. A. G.; FUZER, J. E.; MORAES, F. T. **Estudo de Fitorremediação do SPL (Spent Pot Lining): relatório técnico da AlCOA**. 2000. 47 p.

PARROTTA, J. A. The role of plantation forest in rehabilitation degraded tropical ecosystems. **Agriculture Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 41, n. 2, p. 115-133, July 1992.

PENCE N. S. The molecular physiology of heavy metal transport in the Zn/Cd hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. **Proceedings of the National Academic of Science of the United States of America**, v. 97, n. 9, p. 4956-4960, Apr. 2000.

RENGEL, Z. Uptake of aluminium by plant cells. *New Phytologist*, Cambridge, v. 134, n. 3, p. 389-406, Nov. 1996

SAS INSTITUTE. SAS/STAT[®]: user's guide. Cary, 1993. v. 6, n. 4.

SHAHANDENH, H.; HOSSNER L. R. Enhancement of uranium phytoaccumulation from contaminated soils. *Soil Science*, Baltimore, v. 167, n. 4, p. 269-280, Apr. 2002.

SOLOMONSON, L. P. Cyanide metabolic. *Cyanide in Biology*. New York, p. 11-28, 1981.

SOUZA, R.M. Cianogênese na interação mandioca- *Xanthomonas Campestris* pv *manihotis* e sensibilidade de fitobactérias a cianeto. 1993. 94 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

STAHL, P. D.; WILLIAMS, S. E.; CHRISTENEEN, M. Efficacy of native vesicular, arbuscular mycorrhizal fungi after severe soil disturbance. *New Phytologist*, London, v. 110, n. 3, p. 347-354, Nov. 1988.

THORNTON, F. C.; SCHAEDELE, M.; RAYNAL, D. L. Effect of aluminium on the growth of sugar maple in solution culture. *Canadian Journal of Forest Research*, Ottawa, v. 16, n. 5, p. 892-896, Oct. 1986.

WILTSE, C. C.; ROONEY, W. L.; CHEN, Z.; SCHWAB, A. P.; BANKS, M. K. Greenhouse evaluation of agronomic and crude oil phytoremediation potential among alfalfa genotypes. *Journal of Environmental Quality*, Madison, v. 27, n. 1, p. 169-173, Jan./Feb. 1998.

WU, L.; ANTONOVICS, J. Zinc and copper uptake by *Agrotis stolonifera*, tolerant to both zinc and copper. *The New Phytologist*, London, v. 75, n. 2, p. 231-237, 1975.

WUSHENG, J.; DONGHUA, L.; HAINFENG, L. Effects of Cu^{2+} on root growth, cell division, and nucleolus of *Helianthus annuus* L. *The Science of the Total Environment*, Tianjin, v. 256, p. 59-65, 1999.