

**FITORREMEDIAÇÃO DE CÁDMIO E  
ZINCO POR AMARANTHACEAE**

**ANA LUIZA DIAS COELHO BORIN**

**2010**

**ANA LUIZA DIAS COELHO BORIN**

**FITORREMEDIAÇÃO DE CÁDMIO E ZINCO POR  
AMARANTHACEAE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, área de concentração em Recursos Ambientais e Uso da Terra, para obtenção do título de “Doutor”.

Orientador

Prof. Luiz Roberto Guimarães Guilherme

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2010

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

Borin, Ana Luiza Dias Coelho.

Fitorremediação de cádmio e zinco por Amaranthaceae / Ana  
Luiza Dias Coelho Borin. – Lavras : UFLA, 2010.  
169 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2010.  
Orientador: Luiz Roberto Guimarães Guilherme.  
Bibliografia.

1. Metais pesados. 2. Remediação do solo. 3. Contaminação do  
solo. 4. Planta hiperacumuladora. I. Universidade Federal de Lavras.  
II. Título.

CDD – 631.41

**ANA LUIZA DIAS COELHO BORIN**

**FITORREMEDIAÇÃO DE CÁDMIO E ZINCO POR  
AMARANTHACEAE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, área de concentração em Recursos Ambientais e Uso da Terra, para obtenção do título de “Doutor”.

APROVADA em 25 de fevereiro de 2010

Pesq. Adriana M. M. Pires	Embrapa Meio Ambiente
Pesq. Cleide Aparecida de Abreu	Inst. Agrônômico de Campinas
Prof. Antônio Chalfun Júnior	UFLA
Pesq. Cláudio Roberto F. S. Soares	UFLA

Prof. Luiz Roberto Guimarães Guilherme  
UFLA  
(Orientador)

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL

Ao meu grande amor Eduardo

Aos meus pais e irmãos

pelo amor e incentivo

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

No momento em que concluo minha tese, a lista de agradecimentos só indica o quanto ela não é só minha. Conteí com muita ajuda para a realização do doutorado. E sua conclusão representa a realização de um sonho e, portanto, momento de expressar minha gratidão por aqueles que fizeram parte dessa vitória.

Meus agradecimentos a Jesus Cristo, pela vida, pelo cuidado, pela infinita misericórdia e por me inspirar diariamente. Toda a glória, crédito e agradecimentos pertencem a Ele.

Sou grata a minha família, meus pais, Valternômem e Graça, os responsáveis pela minha concepção, meus primeiros exemplos de vida, inesgotável fonte de amor e perseverança. E aos meus irmãos, Júnior, Leonardo e Graciela, meus primeiros educadores e companheiros, meus três grandes amigos.

Meu maior reconhecimento ao meu esposo Eduardo pelo imenso amor e por ser o maior incentivador para a realização do meu sonho. A paciência, o carinho e lealdade foram essenciais desde o início deste projeto até a sua conclusão. Os olhos dele foram os primeiros a ver os rascunhos dos capítulos e grande parte dessa tese foi escrita depois de nossas longas conversas.

Devo mencionar o brilhantismo intelectual do meu orientador Luiz Roberto, o Bebeto, responsável pelas dicas, ensinamentos e revisões durante o doutorado. Gostaria de manifestar gratidão porque desde o início foi prestativo, motivado, alegre e cheio de amor pelo que faz. Agradeço pela oportunidade de trabalhar com uma pessoa tão especial. Essa tese não teria se concretizado sem o absoluto profissionalismo, apoio e conselhos dele. Ele direcionou e incentivou essa pesquisa e sempre acreditou que seríamos capazes de desenvolver um grande trabalho com resultados inéditos.

Entre os incentivadores, destaco o professor José Maria Lima, primeiro orientador, foi quem primeiro apoiou a mudança de projeto e acreditou que dessa forma seria uma aluna mais feliz. Sua atitude e compreensão foram vitais para a grande transformação durante o doutorado.

Destaco ainda meu grande amigo e co-orientador Cláudio, que dividiu comigo a responsabilidade de revisões contínuas e conversas intermináveis sobre a tese. Ele merece uma referência especial, seu comprometimento, apoio persistente nas atividades de pesquisa e constante busca pela perfeição foram essenciais para a execução dessa tese. Ele foi responsável por inúmeros ensinamentos, me fez crescer profissionalmente, me encorajou e ensinou a tornar possível o que parecia impossível. Ele me inspirou a escrever a tese de forma interessante e não apenas informativa.

Quero agradecer a minha equipe direta, meus estagiários, Mina e Rodolfo, que representaram o alicerce para a execução prática dos experimentos.

Sou grata por sua responsabilidade e pela forma como conduziram os trabalhos. Eles foram tão especiais que se tornaram grandes amigos.

Em especial, Mina que trabalhou comigo desde o início e sua ajuda foi enorme em todas as etapas, se tornou uma irmã e sucessora desse projeto. Nunca havia uma tarefa muito grande ou muito pequena; se fosse importante para o projeto, Mina a estaria realizando antes que lhe fosse pedido. Ela foi fonte de estímulo intelectual e apoio entusiástico.

Ao Departamento de Ciência do Solo, que proporcionou um ambiente sem igual para a condução dessa pesquisa. Essa tese não teria sido realizada sem a orientação e o “espaço seguro” que o DCS me proporcionou. Muito me beneficiei com a interação, teoria e a prática, características tão cultivadas no DCS, bem como da diversidade do corpo docente, dos técnicos e dos alunos do programa. Meus sinceros agradecimentos aos professores do DCS, verdadeiros educadores, ensinaram conhecimento teórico e prático que servirão para toda vida. Também tive a felicidade de contar com um grupo de professores da UFLA de outros departamentos, como o professor José Eduardo Brasil e Antonio Chalfun, que ofereceram importante contribuição e, através de seus ensinamentos, deram a essa tese um caráter multidisciplinar. Aos técnicos dos laboratórios que foram auxiliares na execução prática, em especial ao João Gualberto, Roberto e Evaldo.

Importante mencionar que ao longo do curso várias amizades surgiram, sou grata em especial a Adriana, Leandro, Bruno Dias, Euzelina, Ênio, Évio, Ciro, Vico, Waldete, Geila, Daniela, Regimeire, Paulo, aos irmãos de pesquisa Guilherme, Fábio e Letúzia e a todos os outros alunos que fizeram parte desses anos. Eles me agraciaram com seu tempo, suas idéias, incentivos, palavras de ânimo e exerceram forte influência sobre as aulas e noites de estudo...

Ao CNPq, o órgão financiador da pesquisa, provedor da bolsa de estudo, respaldando financeiramente minha pesquisa com a aprovação do projeto.

À Companhia Mineira de Metais (CMM), por ter permitido as visitas e coletas para a realização da pesquisa.

A Cleide e a Adriana, membros da banca, que deram uma contribuição valiosa através de suas sugestões.

Finalmente, sou grata ao pastor Balmir Rodrigues da Cunha, pelas palavras de conforto, ensinamentos e orações.

## SÚMARIO

RESUMO GERAL .....	i
GENERAL ABSTRACT .....	ii
INTRODUÇÃO GERAL .....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	8
CAPÍTULO 1: Coleta, identificação e propagação de espécie tolerante a cádmio e zinco em área de mineração de zinco. ....	11
1 Resumo .....	12
2 Abstract .....	13
3 Introdução .....	14
3.1 Fitorremediação e ocorrência de espécies em solos contaminados por metais pesados .....	14
3.2 Caracterização e métodos de propagação de Amaranthaceae .....	19
4 Material e Métodos .....	23
4.1 Caracterização do local .....	23
4.2 Amostragem de plantas, sementes e solo .....	24
4.3 Montagem das exsicatas .....	26
4.4 Identificação e caracterização .....	26
4.5 Análise de planta e solo .....	27
4.6 Propagação .....	27
5 Resultados e Discussão .....	31
5.1 Caracterização da espécie .....	31
5.2 Composição química do solo e planta .....	32
5.3 Propagação .....	34
6 Conclusão .....	39
7 Referências Bibliográficas .....	40
CAPÍTULO 2: Fitotoxicidade e potencial fitorremediador de cádmio por amaranthaceae. ....	47
1 Resumo .....	48
2 Abstract .....	49
3 Introdução .....	50
4 Material e Métodos .....	56
4.1 Obtenção das plantas .....	56
4.2 Condução experimental .....	57
4.3 Análise de Cd e nutrientes nas plantas .....	58
4.4 Cálculo do FT, FB e dose crítica de toxidez .....	59
4.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) com espectrometria de energia dispersiva (EDS) .....	60
4.6 Análises estatísticas .....	61
5 Resultados e Discussão.....	62



5.1 Produção de matéria seca .....	62
5.2 Especiação de Cd na solução .....	64
5.3 Concentração e acúmulo de Cd nas plantas .....	64
5.4 Coeficientes de bioacumulação e translocação .....	70
5.5 Concentração de nutrientes na planta e correlação com o Cd .....	74
5.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) com espectrometria de energia dispersiva (EDS) .....	77
6 Conclusão .....	79
7 Referências Bibliográficas.....	80
<b>CAPÍTULO 3: Fitotoxicidade e potencial fitorremediador de zinco por amaranthaceae .....</b>	<b>89</b>
1 Resumo .....	90
2 Abstract .....	91
3 Introdução .....	92
4 Material e Métodos .....	97
4.1 Obtenção das plantas .....	97
4.2 Condução experimental .....	98
4.3 Análise de Zn e demais nutrientes na planta .....	99
4.4 Cálculo do FB e FT .....	100
4.5 Análises estatísticas .....	101
5 Resultados e Discussão .....	102
5.1 Produção de matéria seca .....	102
5.2 Especiação de Zn na solução .....	104
5.3 Concentração e acúmulo de Zn nas plantas .....	104
5.4 Coeficientes de bioacumulação e translocação .....	111
5.5 Concentração de nutrientes na planta e correlação com o Zn .....	115
6 Conclusão .....	118
7 Referências Bibliográficas .....	119
<b>CAPÍTULO 4: Interação de cádmio e zinco sobre o potencial fitorremediador de amaranthaceae. ....</b>	<b>127</b>
1 Resumo .....	128
2 Abstract .....	129
3 Introdução .....	130
4 Material e Métodos .....	134
4.1 Obtenção das plantas .....	134
4.2 Condução experimental .....	135
4.3 Análise de Cd e nutrientes na planta .....	136
4.4 Cálculo do FB e FT .....	137
4.5 Análises estatísticas .....	138
5 Resultados e Discussão .....	139
5.1 Produção de matéria seca .....	139
5.2 Especiação de Cd e Zn na solução .....	142

5.3 Concentração de Cd nas plantas .....	142
5.4 Concentração de Zn nas plantas .....	145
5.5 Coeficientes de bioacumulação e translocação .....	148
5.6 Nutrientes na planta e correlações com Cd e Zn .....	153
6 Conclusão .....	159
7 Referências Bibliográficas .....	160
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	167
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	169

## RESUMO GERAL

BORIN, Ana Luiza Dias Coelho. **Fitorremediação de cádmio e zinco por *Amaranthaceae***. 2010. 169 p. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.<sup>1</sup>

Resultado das atividades humanas, como a mineração, por exemplo, a poluição por metais pesados tem se tornado um dos mais sérios problemas ambientais atualmente. A fitorremediação, uma técnica emergente de baixo custo que usa a habilidade de plantas em concentrar ou tolerar metais pesados, pode ser usada para remediar áreas contaminadas. Nestas áreas impactadas negativamente pela atividade de mineração, podem ser encontradas espécies apropriadas para a fitorremediação. Os objetivos deste trabalho foram: i) coletar, selecionar e caracterizar espécie nativa comumente encontrada em área de mineração de zinco; ii) avaliar os efeitos do Cd e Zn no desenvolvimento das plantas iii) avaliar o potencial fitoextrator de Cd e Zn desta espécie em concentrações crescentes destes elementos em solução nutritiva; e iv) investigar os efeitos da interação Cd-Zn sobre o crescimento, absorção de nutrientes e potencial fitoextrator desta espécie. O estudo foi conduzido em casa de vegetação da Universidade de Lavras, Brasil. As plantas foram cultivadas em vasos com solução de Clark com concentrações crescentes de Cd e Zn. Após 42 dias, as raízes e parte aérea foram coletadas e obtidas as massas da matéria seca e a concentração de Cd e Zn da planta. Os resultados mostraram que concentrações de até 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Cd e 300  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Zn na solução nutritiva não afetaram o crescimento da *Amaranthaceae*. A concentração de Cd na parte aérea alcançou 100  $\text{mg kg}^{-1}$  de Cd na solução, enquanto para Zn o teor máximo na parte aérea foi de 1.322  $\text{mg kg}^{-1}$  em 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Zn na solução. Os resultados evidenciam que *Alternanthera sp.* é uma planta hiperacumuladora de Cd e indicadora de Zn, apresentando potencial para ser usada em programas de fitorremediação de áreas contaminadas com esses elementos.

---

<sup>1</sup> Comitê Orientador: Luiz Roberto Guimarães Guilherme – UFLA (Orientador) e Cláudio Roberto Fonseca Sousa Soares - UFLA

## GENERAL ABSTRACT

BORIN, Ana Luiza Dias Coelho. **Cadmium and zinc phytoremediation by *Amaranthaceae***. 2010. 169 p. Thesis (Ph.D. in Soil Science) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.<sup>1</sup>

As a result of human activities such as mining, heavy metal pollution has become one of the most serious environmental problems today. The Phytoremediation is a cost-effective, non-intrusive, and aesthetically pleasing technique that uses the remarkable ability of plants to tolerate and concentrate toxic elements in order to rectify metal contaminated soils. Species suggested for phytoremediation purposes can be found in areas contaminated by mining activities. The objectives of this study were: i) to find, select and characterize a native plant commonly found in zinc mining area; ii) study the effects of Cd and Zn on plant development iii) evaluate the plant phytoextraction potential for increasing concentrations of the cadmium (Cd) and zinc (Zn) nutrient solution and iv) investigate the effects of Cd-Zn interaction on growth, nutrient uptake and the plant phytoextraction potential for Cd and Zn. Greenhouse experiments were conducted at the Federal University of Lavras, Brazil. The plants grew in pots containing a nutrient solution amended with increasing concentrations of Cd and Zn. Upon 42 days, the shoot and the root system were collected, then obtaining the dry matter as well as measuring the cadmium and zinc concentration. The results showed that concentrations up to 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  of Cd and 300  $\mu\text{mol L}^{-1}$  of Zn in nutrient solution did not affect the *Amaranthaceae* growth. The Cd concentration in shoots reached 100  $\text{mg kg}^{-1}$  at 25  $\mu\text{mol L}^{-1}$  Cd solution, while the Zn maximum concentration in shoots was 1322  $\text{mg kg}^{-1}$  at 300  $\mu\text{mol L}^{-1}$  Cd solution. These results indicate that *Alternanthera* sp. is a Cd hyper accumulating plant and a Zn indicator, with potential use in phytoremediation programs of soils contaminated by these trace elements.

---

<sup>1</sup> Guidance committee: Luiz Roberto Guimarães Guilherme – UFLA (Advisor) and Cláudio Roberto Fônsaca Sousa Soares – UFLA

## INTRODUÇÃO GERAL

As principais fontes antrópicas de contaminação ambiental por elementos-traço são os fertilizantes, pesticidas, água de irrigação contaminada, combustão de carvão mineral e óleo, gases emitidos por veículos a combustão, incineração de resíduos urbanos e industriais, indústrias de mineração, fundição e refinamento (Guilherme et al., 2005).

As atividades de mineração são de fundamental importância para obtenção de materiais necessários para a fabricação de bens indispensáveis para o homem. Muitos são os benefícios que estas trazem para sociedade e para o desenvolvimento do país. A mineração e fundição de bens metálicos sempre exerceram um papel importante para o desenvolvimento da maior parte das sociedades e civilizações. Contudo, podem causar impactos ambientais negativos, comprometendo os ecossistemas, a saúde da população e a vida das gerações futuras.

Isso ocorre, pois o homem ao extrair ou beneficiar os bens minerais, também produz efeitos adversos ao ambiente, como: modificação do perfil do solo, lavra a céu aberto, contaminação de rios, solos, ar e plantas por contaminantes presentes no material de origem da rocha, geração de drenagem ácida de mina, dentre outros. As áreas de exploração de metais são drasticamente alteradas pelas atividades promovidas pela ação do homem, sendo que ao final destas, o local alterado jamais retornará ao equilíbrio que um dia esteve.

Conforme Saison et al. (2004) aproximadamente 23 milhões de hectares de solo estão contaminados no mundo. Grandes áreas de solos agrícolas encontram-se contaminadas com metais pesados nos Estados Unidos e, especialmente, na Europa, onde o aumento das áreas contaminadas sem

tratamento pode representar perdas significativas na produção de alimentos, em um futuro próximo (Kos & Lestan, 2003). No Brasil, não existem estatísticas da extensão de contaminação, mas sabe-se que esta ocorre em todo o território nacional (Accioly & Siqueira, 2000).

Provavelmente, boa parte desses locais contaminados encontra-se em áreas de mineração cuja atividade tem grande importância para a economia brasileira. Minas Gerais é o estado que se destaca, pois detém 92% das reservas brasileiras de zinco (Zn), sendo responsável por praticamente 100% da produção nacional (Bigarelli & Alves, 1998). Uma das empresas produtoras é a Companhia Mineira de Metais (CMN), com atividade de mineração localizada em Vazante – MG. A mina localizada nesse município possui reservas de cerca de dois milhões de megagramas de Zn contido. É a maior jazida brasileira de minério de zinco, com uma produção de 133,7 mil megagramas por ano de concentrado silicatado ou carbonado. O processamento do minério é realizado em Três Marias – MG, sendo os rejeitos da indústria depositados no entorno do complexo industrial.

O minério de zinco, ou calamina, contém diferentes elementos contaminantes, como chumbo (Pb), cobre (Cu), cádmio (Cd) e outros, sendo esse último o mais intimamente relacionado ao Zn. Estudos em locais próximos a complexos industriais e de refino de minério indicam concentrações elevadas destes metais pesados no solo, os quais podem afetar a funcionalidade, a biodiversidade e a sustentabilidade dos ecossistemas, causando danos, às vezes irreversíveis às propriedades químicas, físicas e biológicas do solo (Kabata-Pendias & Pendias, 2001). Esses elementos são expostos à superfície do solo sofrendo alterações de forma e/ou sendo disseminado em alguns meios (i.e. água, ar) entrando na cadeia trófica.

Para os organismos, alguns metais pesados são essenciais, no entanto podem ser tóxicos quando as concentrações nas células excedem os limites

toleráveis. A toxicidade pode ocorrer em diferentes níveis: rotas bioquímicas (respiração e fotossíntese), integridade de macromoléculas (DNA e proteínas), características genéticas (mutação) e biologia celular (carcinogênese) (Torres & Johnson, 2001).

Por exemplo, o Zn que é um micronutriente essencial para os organismos, em altas concentrações, pode induzir fitotoxidez e retardar o crescimento das plantas (Marschner, 1995; Mendelsohn et al., 2001; Ait Ali et al., 2002).

Outro grande problema relacionado à contaminação por metais pesados é a sua alta persistência no ambiente, pois tendem a se acumular apresentando perigo para humanos e animais.

O tempo de permanência de cádmio (Cd) no solo excede milhares de anos (Alloway, 1993). Infelizmente, o Cd é um metal pesado altamente tóxico para plantas, animais e para o homem. A contaminação com Cd é especialmente importante quando o solo é utilizado para fins agrícolas, uma vez que o Cd é facilmente transferido do solo para as plantas, entrando na cadeia trófica (Jarup, 2003). O Cd acumula em animais, principalmente nos rins, fígado e órgãos reprodutivos. Elevados níveis de Cd em humanos causam danos no fígado e baixos níveis na dieta estão relacionados a disfunções renais. Uma doença associada à exposição ao Cd é enfisema pulmonar e a notória doença Itai-Itai (Yeung & Hsu, 2005). Esta doença resulta em dolorida desmineralização de ossos (osteoporose) porque o Cd ocupa o lugar do cálcio nos ossos.

A contaminação com Cd tem ocorrido no mundo todo (Kirkham, 2006). Pesquisas realizadas nos últimos 40 anos têm demonstrado a relação entre o consumo em longo prazo de arroz contaminado com Cd e doenças humanas, principalmente no Japão, China e Tailândia (Phaenark et al., 2009). Só no Japão, a contaminação com Cd foi responsável por mais de 100 mortes no período de 1922 a 1965 (Yeung & Hsu, 2005).

Portanto, estudos de medidas mitigadoras de contaminação do solo por metais pesados e práticas de convivência, tais como seleção de plantas tolerantes, podem apontar importantes contribuições para resolução do problema.

Os métodos correntes de remediação de solos incluem remoção, lavagem do solo e estabilização física. Todos esses métodos possuem como desvantagem o alto custo (Tu & Ma, 2002; Wei et al., 2005). Conseqüentemente, eles precisam ser substituídos por métodos com custos mais baixos e menos agressivos ao ambiente.

A fitorremediação é uma técnica emergente para descontaminação ambiental (Lindblom et al., 2006), de baixo custo e que gera o mínimo de perturbação ao solo quando comparado com outras técnicas (Henry, 2000). Consiste no uso de plantas e/ou microbiota associada para remover, imobilizar ou tornar os contaminantes inofensivos ao ecossistema. Esta técnica apresenta inúmeras vantagens, dada a sua natureza permanente, combinada aos baixos custos de manutenção, à proteção contra a erosão eólica e hídrica, à melhoria na estrutura do solo, ao aumento da fertilidade do solo e à recuperação da estética das áreas contaminadas (Raskin & Ensley, 2000).

Devido ao custo relativamente baixo, a fitorremediação comporta-se como uma atrativa opção para a despoluição de solos com elementos-traço, principalmente em países em desenvolvimento, onde financiamentos para recuperação ambiental são escassos (Nascimento & Xing, 2006). Accioly & Siqueira (2000) acreditam que a fitorremediação é uma prática promissora, com mercado garantido no país, se for considerada a existência de inúmeras e extensas áreas contaminadas, particularmente com elementos-traço.

A fitorremediação prevê vários mecanismos de descontaminação sendo que para áreas contaminadas com metais pesados, destaca-se a fitoestabilização e a fitoextração. A fitoestabilização visa reduzir o potencial de dano ao



ambiente, pela redução da mobilidade e disponibilidade do contaminante no solo, sendo as plantas, neste caso, escolhidas por tolerar as condições da área, controlar a erosão e a lixiviação e evitar a translocação do contaminante para a parte aérea.

Na fitoextração, as plantas agem removendo, armazenando, transferindo e tornando inofensivos os metais pesados presentes no solo. Essas plantas são capazes de tolerar, absorver e translocar altos níveis de elementos-traço que seriam tóxicos a qualquer outro organismo (Khan et al., 2000). Desta forma, a fitoextração compreende a extração de poluentes do solo e seu posterior acúmulo em tecidos de plantas denominadas acumuladoras. A colheita da planta contendo o poluente acumulado em seus tecidos é necessária e o material colhido pode ser utilizado para propósitos não-alimentares. No caso de metais pesados, quando a maior parte do metal estiver localizada na parte aérea das plantas, a colheita poderá ser realizada pelos métodos tradicionais de agricultura. Em geral, é necessário colher as plantas antes da queda das folhas, ou antes da sua morte e decomposição para que os contaminantes não se dispersem ou retornem ao solo. Após a colheita, a biomassa das plantas fitoextratoras deverá ser processada para extração e recolhimento da maior parte dos metais. Se forem solos contendo níquel (Ni), Zn ou Cu, o valor do metal extraído pode incentivar a fitoextração. O volume ou o peso da biomassa podem ser reduzidos, alternativamente, por meio de processos térmicos, físicos, químicos ou microbianos. No caso da queima das plantas, por exemplo, a energia produzida representa valorização econômica do processo. As cinzas podem ser tratadas como minério, do qual pode ainda ser extraída a contaminação metálica (especialmente, cinzas enriquecidas com apenas um ou dois metais) (Gratão et al., 2005).

O interesse na tolerância das plantas aos metais pesados é crescente, inicialmente julgava-se impossível encontrar plantas capazes de absorver e

acumular grande quantidade de compostos ou elementos contaminantes. Recentemente, a idéia de se utilizar plantas raras que hiperacumulam metais para remover e reciclar seletivamente metais em excesso no solo, surgiu com a descoberta de plantas, geralmente endêmicas de solos naturalmente mineralizados, que acumulavam altas concentrações de metais em sua parte aérea (Garbisu & Alkorta, 2001).

As plantas hiperacumuladoras são capazes de acumular um ou mais elementos inorgânicos em níveis até cem vezes maiores que outras espécies, crescendo sob as mesmas condições. No presente, pelo menos 45 famílias de plantas são conhecidas por conter espécies acumuladoras de metais. Existem espécies acumuladoras de arsênio (As), cobalto (Co), Cu, manganês (Mn), Ni, Pb, Cd, selênio (Se) e Zn (Lamego & Vidal, 2007).

Há dois pontos de vista com relação a plantas tolerantes ou com potencial de acúmulo de metais pesados. Por um lado, poderia ser benéfico para a limpeza do solo e da água; por outro lado, culturas alimentares tolerantes, quando expostas aos metais no seu crescimento, poderiam ser perigosas, pois, tornam-se transportadoras de substâncias tóxicas e que ao entrar na cadeia alimentar poderiam permitir intoxicações (Golan-Goldhirsh, 2006).

Apesar disso, a fitoextração é um promissor método alternativo em relação aos métodos convencionais que utilizam técnicas físico-químicas de remediação do solo (alto custo). No entanto, essa técnica levanta inúmeras questões biológicas envolvendo relação solo-planta durante a fitoextração (biodisponibilidade do metal pesado no solo, a absorção e translocação do elemento para a parte aérea), aplicação da espécie em larga escala, o que torna necessário conhecer a morfologia, métodos de propagação para a obtenção de mudas, susceptibilidade a pragas e doenças, requerimento nutricional entre outros fatores, que ainda precisam ser estudados.

Estudos com espécies tolerantes são raros nas condições brasileiras, onde a contaminação do solo e a existência de áreas degradadas pelo excesso de metais são cada vez mais numerosas. Portanto, o conhecimento do comportamento de espécies herbáceas com potencial para fitorremediação de áreas contaminadas se reveste de maior importância. Acredita-se que espécies nativas, encontradas em área de mineração, possam ser utilizadas em programas de fitorremediação de solos contaminados.

Desta forma, o objetivo desse trabalho foi coletar, identificar e caracterizar uma espécie herbácea nativa comumente encontrada em área de mineração de Zn, avaliar a capacidade desta espécie em acumular Cd e Zn e avaliar se existe sinergismo para a absorção e translocação de ambos. Baseado nestas investigações, foi discutido o potencial de aplicação dessa espécie em programas de fitorremediação de áreas contaminadas e sua utilização como uma possível candidata para pesquisas biotecnológicas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; SCHAEFER, C. E. (Ed.). **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. v. 1, p. 299-352.
- AIT ALI, N.; BERNAL, M. P.; ATER, M. Tolerance and bioaccumulation of copper in *Phragmites australis* and *Zea mays*. **Plant and Soil**, The Hague, v. 239, n. 1, p. 103-111, Feb. 2002.
- ALLOWAY, B. J. **Heavy metals in soils**. New York: J. Wiley, 1993. 339 p.
- BIGARELLI, W.; ALVES, F. Minas Gerais: mantendo-se como líder na mineração brasileira. **Brasil Mineral**, São Paulo, v. 162, p. 14-18, 1998.
- GARBISU, C.; ALKORTA, I. Phytoextraction: a cost effective plant-based technology for the removal of metals from the environment. **Bioresource Technology**, Essex, v. 77, n. 3, p. 229-236, May 2001.
- GOLAN-GOLDHIRSH, A. Plant tolerance to heavy metals, a risk for food toxicity or a means for food fortification with essential metals: the *Allium schoenoprasum* model. In: TWARDOWSKA, I.; ALLEN, H. E.; HÄGGBLUM, M. M.; STEFANIAK, S. **Soil and water pollution monitoring, protection and remediation**. Krakow: Poland, 2006. v. 69, p. 479-486.
- GRATÃO, P. L.; PRASADI, 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**, Londrina, v. 17, n. 1, p. 53-64, jan./mar. 2005.
- GUILHERME, L. R. G.; MARQUES, J. J.; PIERANGELI, M. A. P.; ZULIANI, D. Q.; CAMPOS, M. L.; MARCHI, G. Elementos-traço em solos e sistemas aquáticos. In: NOVAIS, R. F. de. **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2005. v. 4, p. 345-390.
- HENRY, J. R. **An overview of the phytoremediation of lead and mercury**. Washington: EPA, 2000. 51 p. Disponível em: <<http://www.clu-in.gov>>. Acesso em: 25 jul. 2008.

JARUP, L. Hazards of heavy metal contamination. **British Medical Bulletin**, Edinburgh, v. 68, n. 1, p. 167-182, 2003.

KABATA-PENDIAS, A.; MUKHERJEE, A. B. **Trace elements from soil to human**. New York: Springer-Verlag, 2007. 550 p.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. 3. ed. Boca Raton: CRC, 2001. 413 p.

KHAN, A. G.; KUEK, C.; CHAUDHRY, T. M.; KHOO, C. S.; HAYES, N. J. Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. **Chemosphere**, Oxford, v. 41, n. 1/2, p. 197-207, July 2000.

KIRKHAM, M. B. Cadmium in plants on polluted soils: effects of soil factors hyperaccumulation, and amendments. **Geoderma**, Amsterdam, v. 137, n. 1/2, p. 19-32, Dec. 2006.

KOS, B.; LESTAN, D. Induced phytoextraction/soil washing of lead using biodegradable chelate and permeable barriers. **Environmental Science Technology**, Washington, v. 37, n. 3, p. 624-629, Feb. 2003.

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

LINDBLOM, S. D.; ABDEL-GHANY, S.; HANSON, B. R.; HWANG, S.; TERRY, N.; PILON-SMITS, E. A. H. Constitutive expression of a high-affinity sulfate transporter in Indian mustard affects metal tolerance and accumulation. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 35, n. 3, p. 726-733, May 2006.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed. San Diego: Academic, 1995. 902 p.

MENDELSSOHN, I. A.; MCKEE, K. L.; KONG, T. A comparison of physiological indicators of sublethal cadmium stress in wetland plants. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 46, n. 3, p. 263-275, Dec. 2001.

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

PHAENARK, C.; POKETHITIYOOK, P.; KRUATRACHUE, M.;  
NGERNSANSARUAY, C. Cd and Zn accumulation in plants from the Padaeng  
Zinc Mine area. **International Journal of Phytoremediation**, London, v. 11, n.  
5, p. 479-495, July 2009.

RASKIN, I.; ENSLEY, B. **Phytoremediation of toxic metals: using plants to  
clean up the environmental**. New York: J. Wiley, 2000. 304 p.

SAISON, C.; SCHWARTZ, C.; MOREL, J. L. Hyperaccumulation of metals by  
*Thlaspi caerulescens* as affected by root development and Cd-Zn/Ca-Mg  
interactions. **Internacional Journal of Phytoremediation**, Boca Raton, v. 6, n.  
1, p. 49-61, Jan. 2004.

TORRES, K. C.; JOHNSON, M. L. Bioaccumulation of metals in plants,  
arthropods, and mice at a seasonal wetland. **Environmental Toxicology and  
Chemistry**, New York, v. 20, n. 11, p. 2617-2626, Nov. 2001.

TU, C.; MA, L. Q. Effects of arsenic concentrations and forms on arsenic uptake  
by the hyperaccumulator ladder brake. **Journal Environmental Quality**,  
Madison, v. 31, n. 2, p. 641-647, Mar. 2002.

WEI, S. H.; ZHOU, Q. X.; WANG, X.; ZHANG, K. S.; GUO, G. L.; MA, L. A  
newly-discovered Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. **Chinese Science  
Bulletin**, Beijing, v. 50, n. 1, p. 33-38, Jan. 2005.

YEUNG, A. T.; HSU, C. N. Electrokinetic remediation of cadmium  
contaminated clay. **Journal of Environmental Engineering**, New York, v. 131,  
n. 2, p. 298-304, Feb. 2005.

## **CAPÍTULO 1**

### **COLETA, IDENTIFICAÇÃO E PROPAGAÇÃO DE ESPÉCIE TOLERANTE A CÁDMIO E ZINCO EM ÁREA DE MINERAÇÃO DE ZINCO.**

## 1 RESUMO

Como resultado das atividades humanas, como a mineração, a contaminação por metais pesados tem se tornado um dos mais sérios problemas ambientais atualmente. A fitorremediação, uma emergente técnica de baixo custo que usa a habilidade de plantas em concentrar ou tolerar elementos tóxicos, pode ser usada para remediar áreas contaminadas por metais. Em locais com maiores concentrações de metais podem ser encontradas espécies apropriadas para a fitorremediação, pois estas estão adaptadas ao ambiente estressante. No entanto, são raros os levantamentos sobre a caracterização e formas de propagação dessas espécies. O objetivo desse trabalho foi coletar, identificar e caracterizar uma espécie herbácea nativa adaptada as condições comumente encontradas em área de mineração de zinco. Provavelmente, seja esse o primeiro passo para utilização dessa espécie como uma ferramenta em programas de fitorremediação. A área de investigação utilizada foi o entorno de uma região de mineração de zinco, próxima à cidade de Vazante, no noroeste de Minas Gerais. A estratégia desse estudo foi encontrar uma planta nativa capaz de sobreviver a condições de alta concentração de zinco, cádmio, cobre e chumbo e caracterizar as formas de propagação dessa espécie.



## 2 ABSTRACT

As a result of human activities such as mining, heavy metal pollution has become one of the most serious environmental problems today. The Phytoremediation is a cost-effective, non-intrusive, and aesthetically pleasing technique that uses the remarkable ability of plants to tolerate and concentrate toxic elements in order to rectify metal contaminated soils. In many cases, the most suitable plants for phytoremediation are found in sites with high heavy metal concentrations for they are or have already become stress-adapted species. However, studies there are few studies on the characterization and propagation forms of these plants. Thus, this study aim was to find, identify and characterize a suitable native and adapted herbaceous plant commonly found in zinc mining areas. Probably, this is the first step towards the utilization of these species in phytoremediation programs. The site under investigation was the surroundings of a zinc mining area, nearby the city of Vazante, Northwest of the Minas Gerais state, Brazil. The study strategies were two. First, it was to find a native plant able to survive high concentrations of zinc, cadmium, cooper, and lead and, second, to characterize the propagation forms of the species found.

### 3 INTRODUÇÃO

#### **3.1 Fitorremediação e ocorrência de espécies em solos contaminados com metais pesados**

Muitas tecnologias são utilizadas para remediar solos contaminados por metais pesados. Porém, muitas delas apresentam alto custo (e.g., escavação de camadas contaminadas, tratamentos físicos e químicos), ou não apresentam solução definitiva e melhoria na estética da área (Mulligan et al. 2001; Cao et al., 2002). A fitorremediação é definida como o uso de plantas para remover, conter e reter contaminantes ambientais perigosos (Cunningham & Berti, 1993), como por exemplo metais pesados (cádmio, zinco, chumbo, cobre), metalóides (arsênio) e compostos orgânicos (antraceno, benzidina, naftaleno).

A fitorremediação apresenta inúmeras vantagens, dada a sua natureza permanente, combinada aos baixos custos de manutenção, à proteção contra a erosão eólica e hídrica, à melhoria na estrutura do solo, ao aumento da fertilidade do solo e a recuperação da estética aérea do solo de áreas contaminadas com metais pesados, uma vez que a grande maioria apresenta-se sem vegetação (Accioly & Siqueira, 2000; Ma et al., 2001).

A fitorremediação prevê vários mecanismos de descontaminação (fitovolatilização, fitodegradação, fitoestimulação, fitoestabilização e fitoextração) sendo que para áreas contaminadas com metais pesados destacam-se os dois processos: i) fitoextração, que consiste no uso de plantas para remover metais do solo através da absorção e translocação para a parte aérea e posterior colheita; ii) fitoestabilização, que consiste na absorção e estabilização dos metais pela planta sem a colheita. Razões para o uso de plantas na remediação são o seu baixo custo de implantação e manutenção (Cunningham & Berti, 1993).

As plantas tolerantes aos metais podem ser divididas em dois grupos: plantas que restringem os metais às suas raízes e plantas que são capazes de translocar quantidades substanciais de metais para a parte aérea. Algumas plantas são capazes de acumular concentrações extremamente altas de metais pesados na parte aérea e são chamadas de hiperacumuladoras. Essas plantas são interessantes do ponto de vista científico, para entender os mecanismos biológicos da acumulação e tolerância à elevadas concentrações de alguns metais essenciais ou não, e do ponto de vista econômico, pois podem ser usadas na fitorremediação (Salt et al., 1995; Raskin et al., 1997).

A fitorremediação é praticada em vários países, mas, no Brasil, ainda não é explorada por desconhecimento do mercado, falta de capacitação técnica (Acciolly & Siqueira, 2000) e pelo fato de serem as espécies de plantas hiperacumuladoras conhecidas, em sua maioria, de clima temperado (Baker & Brooks, 1989). As plantas tolerantes são endêmicas de solos poluídos, o que sugere significativa adaptação ecofisiológica, manifestando resistência à contaminação do solo com metais pesados (Raskin et al., 1994; Moreno-Jiménez et al., 2009). Embora as hiperacumuladoras sejam específicas para um determinado metal (Baker & Brooks, 1989) e adaptadas a determinadas condições de solo e clima, também podem ser manejadas como uma cultura convencional; porém, geralmente apresentam baixa produção de biomassa, que dificulta a extração do elemento, e podem ter ciclo de vida curto (Gisbert et al., 2008).

A maioria das hiperacumuladoras evoluiu sobre condições extremas. Desta forma, são rústicas e sobrevivem com pouco cuidado (Angle & Linacre, 2005). Muitas dessas plantas evoluíram em solos de baixa fertilidade, com baixa umidade, sob condições climáticas extremas como invernos frios e úmidos e verões quentes e secos (Brooks, 1998). Realmente, essas características tornam as hiperacumuladoras muito promissoras para o cultivo.

Recentemente, duas espécies de samambaia foram descritas como hiperacumuladoras de arsênio (As): *Pteris vittata* (Ma et al., 2001; Caille et al., 2004) e *Pityrogramma calomelanos* (Francesconi et al., 2002). Essas plantas são capazes de acumular altas concentrações de As na parte aérea e são muito promissoras para a fitorremediação, apresentando, porém, uma séria limitação:climática, pois necessitam de alta umidade para o crescimento (Gisbert et al., 2008).

Segundo Wei et al. (2009), apesar de todas as vantagens da fitorremediação, apenas um pequeno grupo de hiperacumuladoras de cádmio foi identificado, pesquisado e documentado. Duas espécies da família Brassicaceae, *Thlaspi caerulescens* J & C Presl e *Arabidopsis halleri* L. são conhecidas (Baker et al., 1994; Dahmani-Muller et al., 2000). Recentemente, *Viola baoshanensis* e *Solanum nigrum* também foram classificadas como hiperacumuladoras de Cd (Wei et al., 2004, 2005).

Importante fonte potencial de espécies apropriadas para a fitorremediação é a vegetação encontrada naturalmente em áreas contaminadas, pois, essas plantas apresentam-se adaptadas ao ambiente estressante (Watanabe, 1997; Alkorta et al., 2004; Carrilo-González & Gonzalez-Chavez, 2006; Gisbert et al., 2008). Em função disso, muitos autores têm estudado plantas em áreas ricas em elementos-traço objetivando encontrar plantas capazes de remediar ambientes contaminados. Na Tabela 1 é apresentado um resumo das espécies encontradas em áreas contaminadas de alguns países.

No México, em áreas contaminadas com óleo poluente e metais pesados, foi encontrada a *Echinochloa polystachya*, uma gramínea que se mostrou hábil em tolerar e translocar cádmio para as folhas, sendo considerada hiperacumuladora e promissora para a fitoextração em solos tropicais poluídos com metais pesados (Solis-Dominguez et al., 2007).

TABELA 1 Exemplos de espécies vegetais hiperacumuladoras coletadas em áreas contaminadas.

Local / País	Elemento	Espécie vegetal	[elemento] planta mg kg <sup>-1</sup>	Referência
EUA	As	<i>Pteris vitata</i>	22.630	Ma et al. (2001)
Tailândia	As	<i>Pityrogramma calomelanos</i>	8.350	Francesconi et al. (2002)
Espanha	As	<i>Bassia scoparia</i>	3.000	Gisbert et al. (2008)
Espanha	As	<i>Hirschfeldia incana</i>	800	Gisbert et al. (2008)
Espanha	As	<i>Amaranthus blitoides</i>	114	Del'Rio et al. (2002)
México	Cd	<i>Echinochloa polystachya</i>	233	Solis-Dominguez et al. (2007)
China	Cd	<i>Sedum jineanum</i>	474	Xu et al. (2009)
Tailândia	Cd	<i>Chromolaena odoratum</i>	166	Phaenark et al. (2009)
Tailândia	Cd	<i>Gynura pseudochina</i>	457,7	Phaenark et al. (2009)
Tailândia	Cd	<i>Impatiens violae flora</i>	212,3	Phaenark et al. (2009)
Tailândia	Cd	<i>Justicia procumbens</i>	548	Phaenark et al. (2009)
Iran	Fe	<i>Verbascum speciosum</i>	15.343	Cheraghi et al. (2009)
Tailândia	Pb	<i>Sonchus arvensis</i>	4.830	Rotkittikhun et al. (2006)
China	Pb	<i>Debregeasia orientalis</i>	1.763	Liu et al. (2008)
China	Pb	<i>Tephrosia candida</i>	1.689	Liu et al. (2008)

Cheraghi et al. (2009) avaliaram as concentrações de metais pesados em diversas plantas coletadas em locais contaminados e os resultados obtidos indicaram que apesar de existirem diferenças entre espécies para absorção de metais, todas apresentaram potencial para serem utilizadas como fitoextratoras ou fitoestabilizadoras. Benson et al. (1981) encontraram *Agrotis tenuis* e *Agrotis*

*stolonifera* crescendo em rejeito de fundição no sudoeste da Inglaterra apresentando acúmulo de As superior a 1% do total de matéria seca. Del’Rio et al. (2002) identificaram *Amaranthus blitoides* e outras espécies acumuladoras de As nas proximidades do Rio Guardamar (sul da Espanha), onde ocorreu derramamento tóxico da mina Aznalcollar. Gisbert et al. (2008) coletaram espécies em solos com diferentes fontes de contaminação, principalmente por metais pesados e As, e as espécies encontradas nos solos com maior concentração de As foram: *Bassia scoparia*, *Hirschfeldia incana*, *Inula viscosa* e *Solanum nigrum*. Estas apresentaram também as maiores concentrações de As nos tecidos vegetais, sendo que *B. scoparia* e *H. incana* foram as melhores fitoextratoras de As. Recentemente, Rotkittikhun et al. (2006) conduziram um trabalho de campo em mina de chumbo (Pb) na Tailândia visando identificar espécies acumuladoras de Pb. *Sonchus arvensis* foi uma das 26 espécies de plantas que acumulou mais de 1000 mg kg<sup>-1</sup> de Pb na parte aérea. Liu et al. (2008) coletaram plantas em uma mina de Pb, na China, e identificaram duas plantas nativas hiperacumuladoras de Pb, *Debregeasia orientalis* e *Tephrosia candida*. Wei et al. (2004) encontraram a hiperacumuladora de cádmio *Viola baoshanensis* crescendo na mina Baoshan, na China. Nesse mesmo país Xu et al. (2009) encontraram em mina de Pb e Zn a hiperacumuladora de Cd, *Sedum jineanum*. Na Tailândia, na mina de Zn Padaeng, Phaenark et al. (2009) encontraram 4 hiperacumuladoras de Cd, *Chromolaena odoratum*, *Gynura pseudochina*, *Impatiens violaeiflora* e *Justicia procumbens*, sendo esta última considerada também como hiperacumuladora de zinco. No Brasil, um genótipo de planta foi encontrado em área de mineração de calamina (minério de Zn), identificado como do gênero *Alternanthera* sp. (*Pfaffia* sp.) (conhecida vulgarmente por calaminaceae), e, se mostrou bem adaptado às condições de multicontaminação por Zn, Cu, Cd e Pb em relação a outras espécies estudadas (Accioly & Siqueira, 2000). Carneiro et al. (2002), em estudo com a *Pfaffia* sp.

constatarem que as concentrações de Cd na parte aérea aumentaram linearmente com a contaminação, atingindo valores superiores a 100 mg kg<sup>-1</sup> de Cd, sem redução no crescimento. A partir desse resultado, esses autores puderam indicar esta planta como hiperacumuladora de Cd, fato que até então não havia sido relatado na literatura com relação a este gênero de plantas. Entretanto, os métodos de propagação e a capacidade fitorremediadora desta espécie são desconhecidos.

Também no Brasil, Santos (2008) identificou uma planta nativa do cerrado que absorve cádmio e que se mostrou promissora para absorção de outros tipos de metais pesados. Trata-se da *Galianthe grandifolia*, uma Rubiaceae, herbácea da família do café, encontrada de forma abundante em áreas de cerrado do Estado de São Paulo, mais precisamente na cidade de Itirapina. Sua importância reside, justamente, na descoberta de uma planta naturalmente presente em solo brasileiro com potencial para fitorremediação.

No entanto, estudos com espécies tolerantes são raros nas condições brasileiras, onde a contaminação do solo e a existência de áreas degradadas pelo excesso de metais são cada vez mais numerosas. Portanto, o conhecimento do comportamento de espécies herbáceas com potencial para fitorremediação de áreas contaminadas se reveste de maior importância (Carneiro et al., 2002).

### **3.2 Caracterização e métodos de propagação de Amaranthaceae**

As dificuldades no trabalho com plantas endêmicas começam na identificação da espécie vegetal, o que exige, frequentemente, a atuação de um especialista.

As amaranthaceas incluem aproximadamente 65 gêneros e 1000 espécies de plantas herbáceas, anuais e perenes, arbustos e árvores, localizando-se em regiões tropicais, subtropicais e temperadas (Siqueira, 1994/1995). O gênero *Alternanthera* abrange uma grande diversidade de espécies, amplamente

distribuídas pelo mundo, enquanto que, no Brasil, ocorrem cerca de 30 espécies (Kissmann & Groth, 1999).

Para iniciar um programa de fitorremediação com a utilização desse ecótipo coletado em área de mineração de zinco, um dos primeiros passos é conhecer importantes aspectos de sua multiplicação: através da propagação sexuada, uso de sementes, e propagação assexuada, técnica de estaquia e propagação *in vitro*. Os trabalhos de propagação com espécies hiperacumuladoras são raros. Bhatia et al. (2002a) estudaram a propagação assexuada de *Stackhousia tryonii* e concluíram que a estaquia pode ser uma ferramenta promissora para multiplicação dessa hiperacumuladora de níquel. Tappero et al. (2007) propagaram *Alyssum murale*, hiperacumuladora de Co, através do plantio de sementes até o desenvolvimento de uma planta adulta, a partir daí foi escolhida uma planta matriz para a propagação vegetativa, visando minimizar variações genéticas nos experimentos. Tu & Ma, (2002) especificam a forma de propagação de *Pteris vitatta* (hiperacumuladora de As) como sendo através de esporos.

Apesar de não existir nenhuma informação sobre propagação em *Alternanthera* sp., alguns trabalhos foram realizados com outras espécies da família Amaranthaceae. Por exemplo, pesquisas sobre a propagação de *Pfaffia glomerata* sugerem que as plantas originadas de sementes são muito heterogêneas, devido à grande variabilidade morfológica e genética da espécie (Magalhães, 2002; Taschetto & Pagliarini, 2003). Uma das técnicas de propagação utilizadas para a obtenção de clones é a estaquia e o seu sucesso está associado ao desenvolvimento de raízes, que depende de diversos fatores, tais como, características intrínsecas da espécie, tipo de estaca, ambiente de enraizamento e presença de indutores (Hartmann et al., 2002), entre outros, como substrato, irrigação, fotoperíodo, pragas e doenças. A aplicação exógena de indutores, como por exemplo, auxina, também proporciona maior



porcentagem, velocidade, qualidade e uniformidade de enraizamento de estacas (Hartmann et al., 2002). Outros estudos, com multiplicação vegetativa, apontam a estaquia como sendo fisiologicamente viável, porém, tecnicamente de baixo rendimento. Isso ocorre porque o número de mudas obtido é bastante reduzido em função da pequena disponibilidade de estacas de ramo por planta (Nicoloso et al., 1999, 2001).

Considerando essa limitação potencial da estaquia como método de produção de plantas em larga escala, acredita-se que a propagação *in vitro* tem se difundido devido à possibilidade de produzir um grande número de plantas homogêneas e com elevada qualidade sanitária (Flores et al., 2006). Além disso, resolve o problema da demanda de mudas, já que essa técnica de propagação tem sido útil em programas de melhoramento genético, em estudos de eventos fisiológicos, na produção comercial de mudas de diversas espécies (Nicoloso et al., 2001) e em estudos com hiperacumuladoras (Doran, 2009). Essa técnica é desenvolvida em ambiente livre de microrganismos e é considerada uma ferramenta conveniente para estudos de fitorremediação. O desenvolvimento de um protocolo de propagação *in vitro* é um método eficiente e rápido para a propagação clonal e conservação de muitas espécies raras e endêmicas (Sudha & Seeni, 1996; Sudha et al., 1998).

Depois de estabelecida a metodologia, a cultura *in vitro* pode ser propagada indefinidamente, além de ser forma de propagação mais rápida (Doran, 2009). Conforme Bhatia et al. (2002b), a micropropagação pode ser utilizada para produzir plantas de *Stackhousia tryonii*, uma hiperacumuladora de Ni, para exploração comercial.

O conhecimento das diferentes formas de propagação de ecótipos coletados em áreas contaminadas é a primeira etapa para o seu manejo, além de permitir a obtenção de material vegetal para a avaliação da tolerância, do potencial fitoextrator e posterior utilização em programas de fitorremediação de

áreas impactadas negativamente por metais pesados. Acredita-se ser possível encontrar espécie nativa em área de mineração e caracterizá-la e promover sua propagação.

Desta forma, o objetivo desse trabalho foi coletar, identificar e caracterizar as formas de propagação de uma espécie adaptada a condições edafoclimáticas presentes em área de mineração de zinco.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Caracterização do local

A área de investigação foi o entorno de uma região de mineração de zinco, na cidade de Vazante, no noroeste de Minas Gerais (Figura 1 e 2). Nas serras do Poço Verde e do Sucuri, a principal atividade é a mineração de zinco. O clima é considerado tropical semi-úmido. A média de temperatura anual varia de 21 a 24°C, nos meses mais quentes é de 21 a 26 °C e dos meses mais frios é de 17 a 22 °C. A umidade relativa no verão oscila entre 75 e 80% e no inverno entre 50 e 60%.

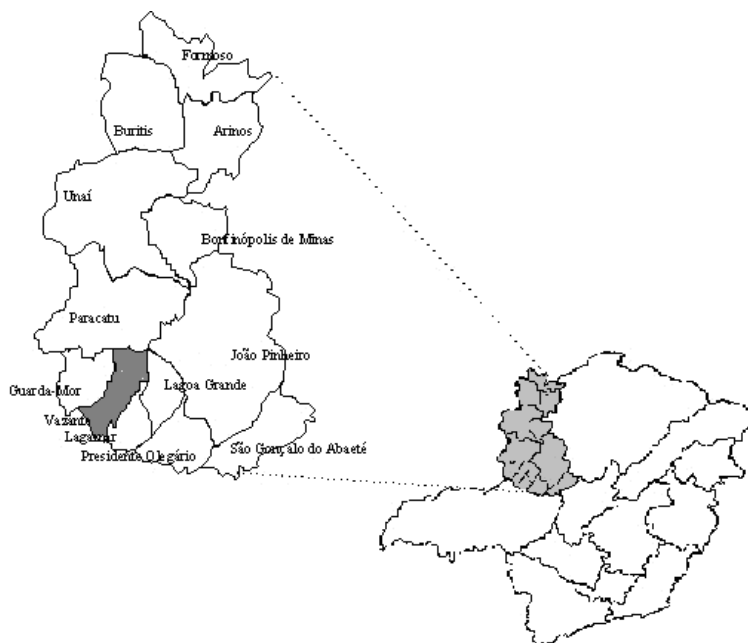


FIGURA 1 Mapa de Minas Gerais com destaque para a região noroeste do estado, onde se encontra o município de Vazante.



FIGURA 2 Localização da área de estudo em unidade de mineração de zinco em Vazante – M.G. A.M.= área de mineração e A.U.= área urbana.

#### 4.2 Amostragem de plantas, sementes e solo

O presente trabalho focou na coleta de planta que fosse adaptada às condições edafoclimáticas locais, principalmente no que diz respeito aos altos teores de metais pesados que são comumente encontrados em áreas de mineração. As plantas e as amostras de solo foram coletadas em dezembro de 2009, portanto, adaptadas a altas temperaturas e clima úmido e em cinco diferentes locais conforme Figura 3. Em cada local foi coletada uma planta, com exceção do local 2, onde foram coletadas duas. As plantas foram coletadas com o auxílio de enxadão tomando-se o cuidado de manter o torrão de solo, visando à manutenção do sistema radicular (Figura 4).

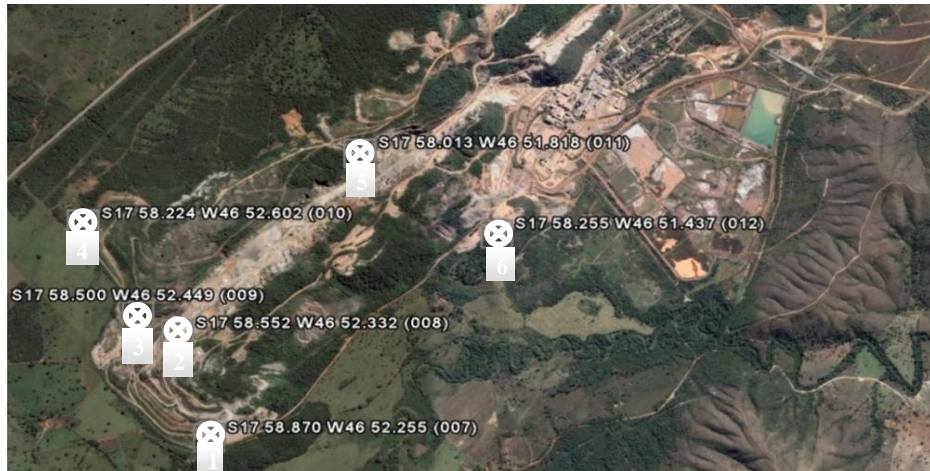


FIGURA 3 Locais de coleta de plantas e solo (1, 2, 3, 4 e 5), sementes (6) em área de mineração de zinco em Vazante – MG.



FIGURA 4 Detalhes das coletas de plantas em diferentes locais em área de mineração de zinco em Vazante – MG.

Imediatamente após a coleta, as plantas foram acondicionadas em sacos plásticos. No entorno das plantas, quando possível, foram coletadas amostras simples de solo, na profundidade de 0 a 20cm. As sementes foram coletadas diretamente de plantas ou no chão, em um único local.

#### **4.3 Montagem das exsiccatas**

A partir dos ramos das plantas coletadas, com folhas e flores, montaram-se exsiccatas. Primeiramente, os ramos passaram por processo de desidratação no qual o material vegetal foi colocado em jornal entre camadas de papelão e prensado. Para a secagem utilizou-se estufa com temperatura de 45°C até que o material atingisse peso constante. O material foi então fixado em cartolina branca rígida com tamanho de 35 x 45 x 20 cm. As informações do local e ambiente de coleta e do coletor foram descritas em etiqueta afixada no canto inferior direito da cartolina e do outro lado foi lançado o número de registro da exsicata.

#### **4.4 Identificação e caracterização**

Algumas exsiccatas se encontram depositadas no Herbário da Universidade Federal de Lavras, número de inscrição 23.015, enquanto outras foram encaminhadas para o professor Dr. Josafá Carlos de Siqueira, da Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, para a professora Dra. Luisa Ramos Senna Souza, da Universidade Estadual de Feira de Santana, para a pesquisadora Maria Raquel Cota da Universidade de Brasília, para a identificação.

A caracterização da biologia floral foi realizada no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras. A partir das inflorescências, foram isoladas flores que foram selecionadas, analisadas e visualizadas em microscópio estereoscópio com

aumento de 400 vezes. As partes reprodutivas (androceu e gineceu) foram descritas dentro da biologia floral, sendo a morfologia e estrutura destas, indicativos do mecanismo reprodutivo da espécie.

#### **4.5 Análise de planta e solo**

Em razão do pequeno número de plantas coletadas, escolheu-se a planta colhida no local 2 para a realização da análise foliar porque esta apresentava o maior número de folhas para a análise foliar. Os solos e as folhas foram digeridos segundo o método 3051 da United States Environmental Protection Agency - USEPA (1995) e os teores de cádmio, cálcio, magnésio, cobre, ferro, manganês e zinco foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica, usando equipamento Perkin Elmer AAnalyst 800® com atomizador tipo chama, o teor de potássio foi determinado por fotometria de chama e o teor de fósforo foi por colorimetria (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, 1999). O controle e a garantia da qualidade dos resultados das análises de Cd e nutrientes foram assegurados pelo uso de material de referência *Tomato Leaves*, do NIST (SRM 1573a, National Institute of Standards and Technology – NIST) em cada bateria de análise, bem como de uma amostra em branco. Os resultados obtidos foram satisfatórios, com recuperação de 74% a 122%.

#### **4.6 Propagação**

O material genético (sementes e estacas) foi obtido nos locais de coleta apresentados na figura 3.

Inicialmente, um teste foi realizado com as sementes de *Alternanthera* sp, as quais foram colocadas para germinar em caixas gerbox com cinquenta sementes depositadas em papel tipo CEL-065 umedecido e mantidas em germinadores com temperatura de 20 a 35 °C. Observações foram feitas

diariamente, analisando-se a percentagem de emergência. À medida que germinavam, as sementes eram transferidas para bandejas de isopor contendo 200 células, com substrato comercial Plantmax. As mudas foram mantidas em casa de vegetação climatizada e após pegamento foram transferidas para vasos com 3 quilos de substrato e mantidas em casa de vegetação.

Na propagação assexuada, um experimento foi realizado utilizando-se estacas obtidas da planta coletada no local 2, esta planta foi escolhida porque apresentava maior número de ramos. Os tratamentos constituíram de uma combinação fatorial (3x4) representado por 3 posições de estaca no ramo (basal, mediana e apical) e 4 concentrações do fitorregulador ácido indol butírico (AIB) (0, 50, 100 e 200 mg L<sup>-1</sup>), em cinco repetições. As estacas foram obtidas a partir de cortes sucessivos da base do ramo para o ápice. O corte da parte superior da estaca foi feito acima e o inferior abaixo de um nó, mantendo-se 3 a 4 nós. As folhas presentes nos ramos foram retiradas visando à uniformização das estacas. Imediatamente após o corte, as estacas foram mantidas nas soluções com diferentes concentrações do fitorregulador AIB por 24 horas, no escuro e em condição de alta umidade.

Após esse período, as estacas foram transferidas para bandejas de isopor contendo 200 células com substrato de casca de arroz e foram mantidas em casa de vegetação climatizada por 60 dias, com adubação semanal com solução nutritiva de Clark (½ da força iônica) preparada com reagentes p.a. e continha: 7,26 mmol L<sup>-1</sup> N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>; 0,90 mmol L<sup>-1</sup> N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>; 0,07 mmol L<sup>-1</sup> P; 1,80 mmol L<sup>-1</sup> K; 2,60 mmol L<sup>-1</sup> Ca; 0,60 mmol L<sup>-1</sup> Mg; 0,50 mmol L<sup>-1</sup> S; 7,0 µmol L<sup>-1</sup> Mn; 2 µmol L<sup>-1</sup> Zn; 0,5 µmol L<sup>-1</sup> Cu; 19 µmol L<sup>-1</sup> B; 0,60 µmol L<sup>-1</sup> Mo; e 38 µmol L<sup>-1</sup> Fe complexado com Na<sub>2</sub>-EDTA.

Após o estaqueamento, as variáveis avaliadas foram: a produção de matéria seca de raízes e o comprimento de raízes. As raízes foram lavadas em água deionizada e medidas com régua graduada em centímetros para a obtenção



do comprimento e posteriormente, utilizou-se uma única estaca para a obtenção de matéria seca em cada tratamento (as demais estacas foram utilizadas em outro). As raízes de cada estaca foram secas em estufa em temperatura entre 65 e 75°C até atingir massa constante. Determinou-se em balança de precisão (0,01g) o peso de matéria seca das raízes.

Os resultados do comprimento das raízes foram submetidos à análise de variância, por meio do uso do programa estatístico Sisvar. As equações de regressão foram escolhidas pelo melhor ajuste, através do programa Table Curve 2D for Windows v. 2.03 (Jandel Corporation). Já os valores obtidos

A propagação *in vitro* foi desenvolvida no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras. O material vegetal utilizado foi retirado de plantas de *Alternanthera* sp. provenientes da propagação por estaquia, cultivadas em vasos em casa de vegetação climatizada. Essas plantas apresentavam ramos jovens em pleno crescimento, onde foram escolhidas brotações axilares (meristemas apicais) e também coletadas algumas sementes. Inicialmente, as brotações e sementes foram desinfestadas em água de torneira corrente por 30 minutos e, posteriormente, imersas em solução de hipoclorito de sódio 40% por 20 minutos, sendo, em seguida, lavadas três vezes em água destilada e autoclavada. Após a desinfestação e lavagem, as brotações e as sementes foram inoculadas em tubos de ensaio de 25 x 150 mm contendo 12 mL do meio de cultura, sendo inoculadas uma brotação ou duas sementes por tubo, os quais foram, posteriormente, fechados.

O meio de cultura utilizado constitui-se do meio MS (Murashige & Skoog, 1962) 50%, solidificado com 0,6% de agar (Merck®), sendo o pH ajustado para  $5,7 \pm 0,1$  e em seguida autoclavado a 120°C e 1 atm por 20 minutos. Os cinquenta tubos inoculados com as brotações e sementes foram

mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo de 16/8 horas luz/escuro sob intensidade luminosa de  $25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , à temperatura de  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Plantas cultivadas *in vitro* até 40 dias após a inoculação foram submetidas ao processo de aclimatização *ex vitro*, que consistiu no transplante para bandejas de isopor de 128 células contendo substrato comercial Plantmax. As bandejas foram colocadas em casa de vegetação para o processo de aclimatização, reduzindo-se gradativamente a irrigação e aumentando-se a luminosidade. Foram feitas observações diariamente, analisando-se a percentagem de sobrevivência das plântulas. Após 10 dias de aclimatização em bandejas, as mudas foram transplantadas para vasos de três litros contendo o mesmo substrato comercial Plantmax e adubadas semanalmente com solução nutritiva de Clark ( $\frac{1}{2}$  da força iônica).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Caracterização da espécie

As exsicatas das plantas encaminhadas para os especialistas foram classificadas como pertencentes à família Amaranthaceae, gênero *Alternanthera*, mas não foi possível a identificação da espécie. Por ser endêmica, provavelmente ainda não tenha sido identificada.

O nome *Alternanthera* tem origem no latim e se refere aos estames e pseudoestaminódios que se alternam (*alternus* + *anthera*). São plantas com folhas opostas com inflorescência em espiga e flor hermafrodita com estames soldados na base formando um tubo baixo (Edwin & Reitz, 1967).

A inflorescência cimosa, na qual cada eixo termina em uma flor e a flor de *Alternanthera* sp. é apresentada na Figura 5. A flor é completa e, desta forma, convivem na mesma estrutura o androceu (pólen) e o gineceu (óvulo). O filete é maior que o estilete, permitindo que as anteras estejam posicionadas acima do estigma, o que favoreceria a autofecundação. Entretanto, a estrutura floral hermafrodita não permite classificá-la como autógama ou alógama, pois as plantas desenvolveram durante sua evolução diversos mecanismos relacionados à prevenção da autofecundação (Proctor et al., 1996). Através da visualização da biologia floral, parece ocorrer o fenômeno da protandria, ou seja, os grãos de pólen estão maduros antes do estigma apresentar receptivo (Figura 5C). Assim, a fecundação só ocorreria com a polinização cruzada, que é realizada, preferencialmente, pelos insetos (entomofília). No entanto, seriam necessários mais estudos e análises para o conhecimento e determinação desse mecanismo.

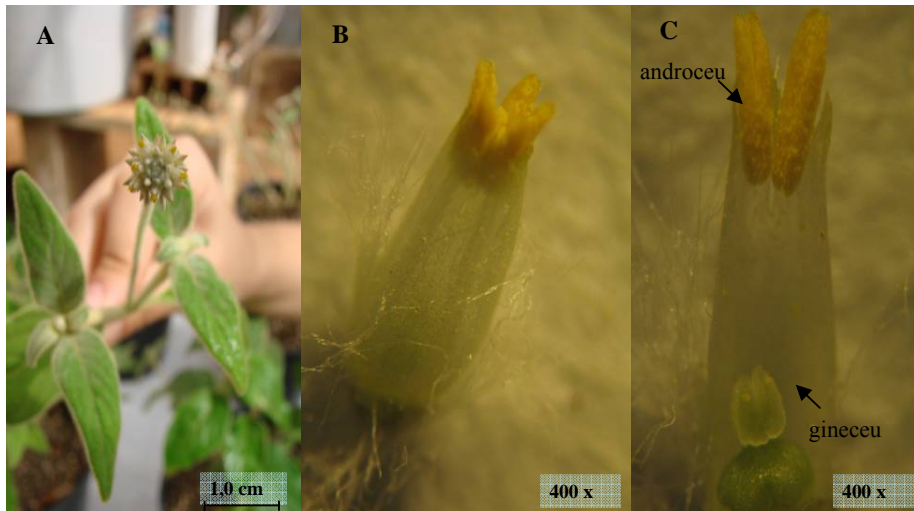


FIGURA 5 (A) Inflorescência de *Alternanthera* sp.; (B) Estames evidentes com anteras carregadas de pólen; (C) Órgão masculino (androceu) e órgão feminino (gineceu) da flor.

## 5.2 Composição química do solo e planta

Análises prévias das amostras de solos, na profundidade de 0 a 20 cm, das áreas onde foram coletadas as plantas indicaram a presença de metais pesados (Tabela 2) e em alguns locais com concentrações superiores às comumente encontradas em solos (Tabela 3).

Conforme Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA (2009) os valores sugeridos como padrões acima dos quais existem riscos potenciais, diretos ou indiretos, à saúde humana, considerando um cenário de exposição padronizado (valores de investigação) para concentração de Cd e Zn no solo (em  $\text{mg kg}^{-1}$ ) atualmente utilizados no Brasil são: área agrícola = Cd 3 e Zn 450; área residencial = Cd 8 e Zn 1000; área industrial = Cd 20 e Zn 2000.

TABELA 2 Metais pesados em amostras de solo (0-20 cm) dos locais de coleta de plantas de *Alternanthera* sp.

	Teor Semi-total				
	-----mg kg <sup>-1</sup> -----				
	Cd	Cu	Mn	Pb	Zn
Média	60,7	24	610	182	6592
mediana	1,9	23	410	20	135
Máximo	2.442,7	80	2.375	4.566	21.3004
Mínimo	< LD	13	38	4	23

LD = limite de detecção; Cd, Cu, Mn, Pb e Zn – USEPA 3051.

TABELA 3 Teores totais de metais pesados encontrados em solos agrícolas, contaminados e não contaminados.

Metal Pesado	Teores totais (mg kg <sup>-1</sup> )			
	Solos agrícolas permitidos	Solos não contaminados Média	Solos não contaminados Máximo	Solos contaminados - atividade industrial valor encontrado
Cd	1 - 5	0,37 – 0,45	1,6 – 2,7	até 1.500
Zn	100 - 300	45 – 60	220 – 362	até 80.000

Fonte: Kabata-Pendias & Pendias (2001).

As folhas da planta coletada no local 2 apresentaram concentração de Cd de 3,00 mg kg<sup>-1</sup> (Tabela 4), valor superior a faixa normalmente tolerável para a maioria das espécies, 0,05 a 0,5 mg kg<sup>-1</sup> (Kabata-Pendias & Pendias, 2001), sem apresentar sintomas visíveis de toxicidade.

TABELA 4 Concentrações de nutrientes e cádmio presentes em folhas de *Alternanthera* sp. coletada em área de mineração de zinco.

Concentração de nutrientes em folhas								
P	K	Ca	Mg	Cu	Cd	Fe	Mn	Zn
-----g kg <sup>-1</sup> -----				-----mg kg <sup>-1</sup> -----				
1,70	31,88	8,76	3,44	7,73	3,00	238,19	36,5	54,38

O fato da concentração de cádmio no tecido vegetal não ser tão alta quando comparada às concentrações do solo pode ser explicado pela menor disponibilidade de Cd em condições de alto pH (Kabata-Pendias & Pendias, 2001; Kirkham 2006), condição esta encontrada na área estudada (pH 7,8 a 8,2).

### **5.3 Propagação**

Observou-se baixa germinação de sementes, aproximadamente 0,5%. Isso provavelmente ocorreu porque as sementes foram coletadas em campo e, portanto, a viabilidade e maturidade fisiológica das mesmas não eram conhecidas. As plantas apresentaram desuniformidade de crescimento, o que está de acordo com os resultados encontrados por Magalhães (2002) e Taschetto & Pagliarini (2003), estudando *Pfaffia glomerata*.

Embora a propagação via sementes tenha se mostrado limitante, os resultados desse trabalho mostram que é possível propagar vegetativamente a *Alternanthera* sp. a partir de estacas de plantas matrizes. Resultados semelhantes foram obtidos por Bhatia et al. (2002a), estudando a propagação vegetativa de hiperacumuladora de Ni. Estes autores observaram que a estaquia pode ser utilizada efetivamente para multiplicação da espécie *Stackhousia tryonii* e concluíram que, uma vez que a germinação por sementes apresenta baixa viabilidade, a propagação vegetativa pode ser uma técnica mais fácil para produção de plantas para serem utilizadas em programas de fitorremediação, até que sejam realizados outros estudos.

O comprimento das raízes em função da posição da estaca no ramo foi diferente estatisticamente na ausência de AIB, sendo as estacas medianas as que apresentaram maior comprimento de raízes. A interação entre posições de estaca e concentrações de AIB foi significativa, pois, a partir da concentração 50 mg L<sup>-1</sup>, houve redução no comprimento de raízes das estacas medianas (Figura 6).

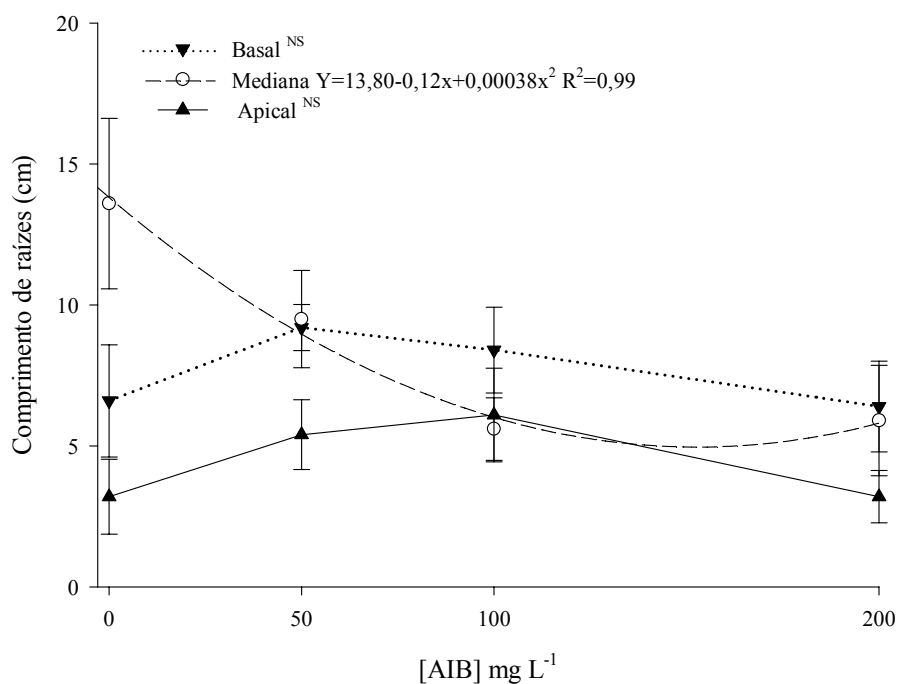


FIGURA 6 Comprimento de raízes nas diferentes posições da estaca no ramo (basal, mediana e apical) de *Alternanthera* sp. em função de concentrações crescentes de AIB.

O comprimento de raízes das estacas basais e apicais não foi influenciado pelo uso de AIB, enquanto que nas estacas medianas, na medida em que se elevou a concentração de AIB, houve redução no comprimento de raízes (Figura 6). O tratamento que permitiu o maior comprimento de raízes foi obtido com a estaca mediana, na ausência do fitorregulador.

Pode-se observar uma tendência no aumento da produção de matéria seca com a utilização de 50 mg L<sup>-1</sup> de AIB em todas as posições de estaca no ramo (Figura 7). As estacas apicais apresentaram menor produção de matéria seca até a concentração de 100 mg L<sup>-1</sup> de AIB. Com a utilização do AIB,

independentemente da concentração, as estacas basais apresentaram a maior produção de matéria seca de raízes.

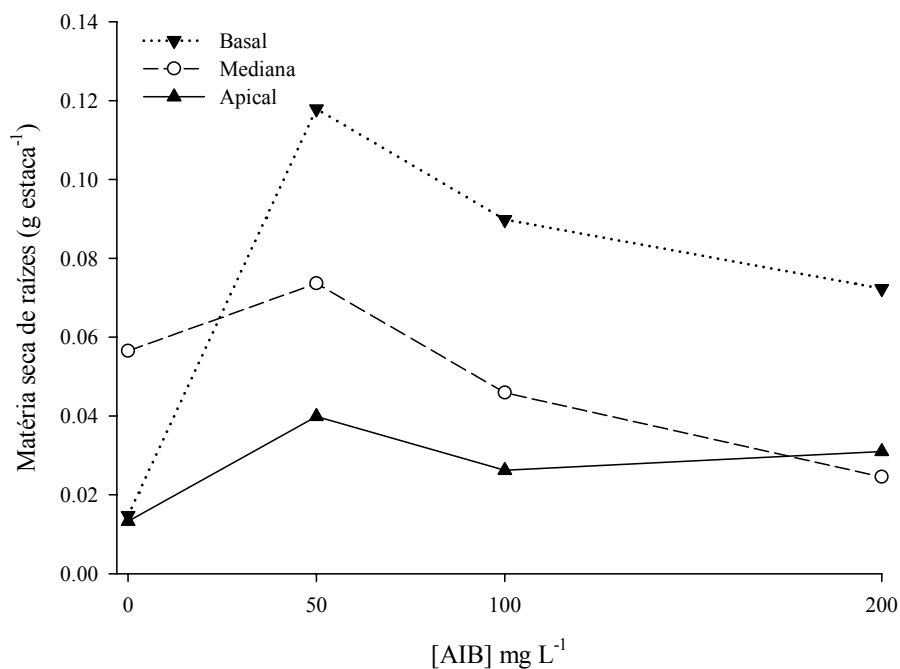


FIGURA 7 Produção de matéria seca de raízes nas diferentes posições da estaca no ramo (basal, mediana e apical) de *Alternanthera* sp. em função de concentrações crescentes de AIB.

Experimentos conduzidos por Nicoloso et al. (1999) e Ming et al. (2002) comprovaram que o enraizamento de estacas de *P. glomerata* é melhor quando a posição da estaca no ramo está mais próxima da base da planta, o que pode ser confirmado pelos resultados encontrados. Em outras espécies, a capacidade de enraizamento é crescente da parte apical para a basal, o que é atribuído á acumulação de carboidratos na base do caule (Hartmann et al., 2002; Alfenas et al., 2004).



A aplicação do ácido indol butírico tem sido testada em vários estudos com o objetivo de obter maior enraizamento no processo de formação de mudas. Nesse estudo, as baixas concentrações de AIB, até 50 mg L<sup>-1</sup>, favoreceram as duas variáveis estudadas. Resultados semelhantes foram encontrados em trabalhos com outras espécies (Bastos et al., 2004; Franco et al., 2007).

Acidentalmente, descobriu-se outra forma de propagação: a alporquia, também conhecida como mergulhia aérea, que consiste na indução do enraizamento de ramos por meio de um anelamento envolvido com substrato. Após as raízes serem formadas na parte apical do anelamento, aquele ramo pode ser separado da planta matriz (Hartmann et al., 2002). Esse fenômeno ocorreu com uma planta matriz que quebrou acidentalmente e a parte mediana do ramo ao tocar o solo enraizou e o que permitiu a constatação da alporquia.

Além da propagação vegetativa via estacas, observou-se também que a clonagem de *Alternanthera* sp. pelo cultivo de meristemas apicais e sementes *in vitro* foi viável (Figura 8). Os resultados desse estudo indicam claramente que a técnica de propagação *in vitro* através da utilização de meristema apical pode ser usada para a produção de mudas de *Alternanthera* sp. em larga escala com a finalidade de fitorremediação, visto que a porcentagem de desenvolvimento dos meristemas foi de 99%.

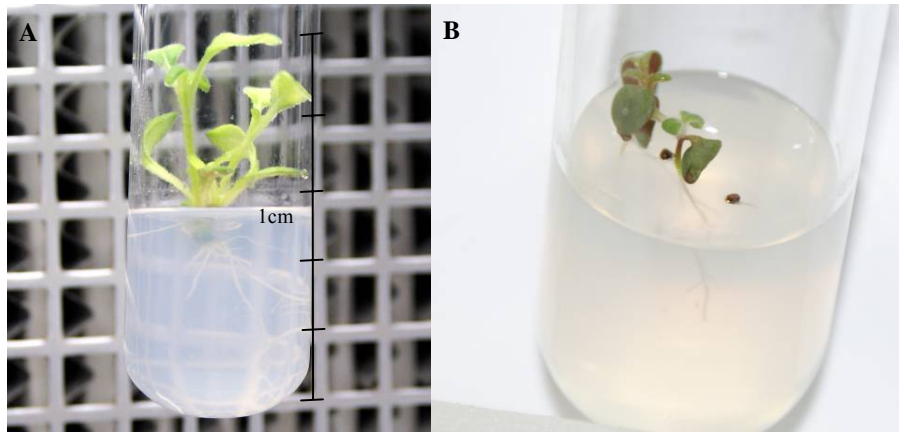


FIGURA 8 Cultura *in vitro* de *Alternanthera* sp. (A) Planta proveniente de meristema apical; (B) Planta proveniente de semente.

O procedimento de desinfestação utilizado no estudo de propagação *in vitro* eliminou praticamente toda a contaminação das brotações e sementes.

A porcentagem de sobrevivência (99%) indicou que as plantas obtiveram excelente aclimatização, embora um número expressivo de espécies vegetais micropropagadas não sobrevive quando transferidas das condições *in vitro* para ambiente de casa de vegetação ou campo (Hararika, 2003).

## 6 CONCLUSÃO

A espécie herbácea nativa coletada é pertencente à família Amaranthaceae, gênero *Alternanthera*, monóica, com flores hermafroditas, nas quais os estames estão posicionados acima do estigma.

A propagação de *Alternanthera* sp. a partir de estacas de plantas matrizes e através do cultivo de meristemas apicais *in vitro* é viável. A propagação via sementes apresenta baixa viabilidade nas condições estudadas.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; SCHAEFER, C. E. (Ed.). **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. v. 1, p. 299-352.
- ALFENAS, A. C.; ZAUCA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças de eucalipto**. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2004. 442 p.
- ALKORTA, I.; HERNÁNDEZ-ALLICA, J.; BECERRIL, J. M.; AMEZAGA, I.; ALBIZU, I.; GARBISU, C. Recent findings on the phytoremediation of soils contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc, cadmium, lead, and arsenic. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, Netherlands, v. 3, n. 1, p. 71-90, Mar. 2004.
- ANGLE, J. S.; LINACRE, N. A. Metal phytoextraction: a survey of potential risks. **International Journal of Phytoremediation**, London, v. 7, n. 3, p. 241-254, July 2005.
- BAKER, A. J. M.; REEVES, R. D.; HAJAR, A. S. M. Heavy metal accumulation and tolerance in British populations of the metallophyte *Thlaspi caerulescens* J.&C. Presl (Brassicaceae). **New Phytologist**, Cambridge, v. 127, n. 1, p. 61-68, May 1994.
- BAKER, A. M. J.; BROOKS, R. R. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements: a review of their distribution, ecology and phytochemistry. **Biorecovery**, Great Britain, v. 1, n. 2, p. 81-126, 1989.
- BASTOS, D. C.; MARTINS, A. B. G.; SCALOPPI JÚNIOR, E. J.; SARZI, I.; FATINANSI, J. C. Influencia do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de caramboleira (*Averrhoa carambola* L.) sob nebulização intermitente. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 2, p. 284-286, ago. 2004.
- BENSON, L. M.; PORTER, E. K.; PETERSON, P. J. Arsenic accumulation, tolerance and genotypic variation in plants on arsenical mine wastes in South-West England. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 3, n. 1/4, p. 655-666, 1981.

BHATIA, N. P.; BHATIA, P.; ASHWASH, N. Asexual propagation of *Stackhousia tryonii*: a step towards restoration of a rare metallophyte. **Australian Journal of Botany**, Melbourne, v. 50, n. 5, p. 577-582, 2002a.

BHATIA, P.; BHATIA, N. P.; ASHWATH, N. *In vitro* propagation of *Stackhousia tryonii* Bailey (Stackhousiaceae): a rare and serpentine-endemic species of central Queensland, Australia. **Biodiversity and Conservation**, London, v. 11, n. 8, p. 1469-1477, Aug. 2002b.

BROOKS, R. R. **Plants that hyperaccumulate heavy metals**: their role in phytoremediation, microbiology, archaeology, mineral exploration and phytomining. Cambridge: CAB Internacional, 1998. 380 p.

CAILLE, N.; SWANWICK, S.; ZHAO, F. J.; MCGRATH, S. P. Arsenic hyperaccumulation by *Pteris vittata* from arsenic contaminated soils and the effect of liming and phosphate fertilization. **Environmental Pollution**, Barking, v. 132, n. 1, p. 113-120, Nov. 2004.

CAO, X.; MA, L. Q.; CHEN, M.; SINGH, S. P. S.; HARRIS, W. G. Impacts of phosphate amendments on lead biogeochemistry in a contaminated site. **Environmental Science Technology**, Easton, v. 36, n. 24, p. 5296-5304, Dec. 2002.

CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Comportamento de espécies herbáceas em misturas de solo com diferentes graus de contaminação com metais pesados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 11, p. 1629-1638, nov. 2002.

CARRILO-GONZÁLEZ, R.; GONZÁLEZ-CHAVEZ, M. C. A. Metal accumulation in wild plants surrounding mining wastes. **Environmental Pollution**, Barking, v. 144, n. 1, p. 84-92, Nov. 2006.

CHERAGHI, M.; LORESTANI, B.; KHORASANI, N.; YOUSEFI, N.; KARAMI, M. Findings on the phytoextraction and phytostabilization of soils contaminated with heavy metals. **Biological Trace Element Research**, Clifton, v. 127, n. 1, p. 1-9, Jan. 2009.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução n° 420, de 28 de dezembro de 2009.** Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=620>>. Acesso em: 2 fev. 2010.

CUNINGHAM, S. D.; BERTI, W. R. Remediation of contaminated soils with green plants: an overview. **Vitro Cellular and Developmental Biology**, Columbia, v. 29, n. 4, p. 207-212, Oct. 1993.

DAHMANI-MULLER, H.; OORT, F. van; GÉLIE, B.; BALABANE, M. Strategies of heavy metal uptake by three plant species growing near a metal smelter. **New Phytologist**, Cambridge, v. 109, n. 2, p. 231-238, Aug. 2000.

DEL RIO, M.; FONT, R.; ALMELA, C.; VÉLEZ, D.; MONTORO, R.; BAILON, A. D. Heavy metals and arsenic uptake by wild vegetation in the Guadamar River area after the toxic spill of the Aznalcóllar mine. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 98, n. 1, p. 125-137, Sept. 2002.

DORAN, P. M. Application of plant tissue cultures in phytoremediation research: incentives and limitations, a review. **Biotechnology & Bioengineering**, New York, v. 103, n. 1, p. 60-76, May 2009.

EDWIN, G.; REITZ, P. R. Amaranthacea. In: REITZ, P. R. **Flora ilustrada catarinense**. Itajaí: Ed. Herbário Barbosa Rodrigues/CNPq, 1967. p. 1-47.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: Ministério da Agricultura e Abastecimento, 1999. 370 p.

FLORES, R.; MALDANER, J.; NICOLOSO, F. T. Otimização da micropropagação de *Pfaffia tuberosa* (Spreng.) Hicken. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 3, p. 845-851, maio/jun. 2006.

FRANCESCONI, K.; VISOOTTIVISETH, P.; SRIDOKCHAN, W.; GOESSLER, W. Arsenic species in an arsenic hyperaccumulating fern, *Pityrogramma calomelanos*: a potencial phytoremediator of arsenic-contaminated soils. **The Science of the Total Environment**, Oxford, v. 284, n. 1/3, p. 27-35, Feb. 2002.

FRANCO, D.; OLIVEIRA, I. V. M.; HERBERT, I.; CAVALCANTE, L.; CERRI, P. E.; MARTINS, A. B. G. Estaquia como processo de clonagem do bacupari (*Redhia gardneriana* Miers ex Planch e Triana). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 1, p. 176-178, abr. 2007.

GISBERT, C.; ALMELA, C.; VÉLEZ, D.; LÓPEZ-MOYA, J. R.; HARO, A.; SERRANO, R.; MONTORO, R.; NAVARRO-AVIÑÓ, J. Identification of as accumulation plant species growing on highly contaminated soils. **International Journal of Phytoremediation**, London, v. 10, n. 3, p. 185-196, May 2008.

HARARIKA, B. N. Acclimatization of tissue-cultured plants. **Current Science**, Bangalore, v. 85, n. 12, p. 1704-1712, Dec. 2003.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JÚNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 7. ed. New Jersey: Prentice-Hall, 2002. 880 p.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. 3. ed. Boca Raton: CRC, 2001. 413 p.

KIRKHAM, M. B. Cadmium in plants on polluted soils: effects of soil factors hyperaccumulation, and amendments. **Geoderma**, Amsterdam, v. 137, n. 1/2, p. 19-32, Dec. 2006.

KISSMANN, K. G.; GROTH, G. **Plantas infestantes e nocivas**. 2. ed. São Paulo: Basf, 1999. 976 p.

LIU, X.; GAO, Y.; KHAN, S.; DUAN, G.; CHEN, A.; LING, L.; ZHAO, L.; LIU, Z.; WU, X. Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on contaminated sites and their potential accumulation capacity in Heqing, Yunnan. **The Journal of Environmental Sciences**, Los Angeles, v. 20, n. 12, p. 1469-1474, 2008.

MA, L. Q.; KOMAR, K. M.; TU, C. A fern that hyperaccumulation arsenic. **Nature**, London, v. 409, p. 579-579, Feb. 2001.

MAGALHÃES, P. M. **Agrotecnologia para o cultivo da Pfaffia**. Campinas: CPQBA/UNICAMP, 2002. 5 p.

MING, L. C.; CORREA JÚNIOR, C.; CHAVES, F. C. M. Influência do diâmetro e posição no ramo no pegamento de estacas caulinares de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PLANTAS MEDICINAIS, 17., 2002, Cuiabá. **Anais...** Cuiabá: UFMT, 2002. CD-ROM.

MORENO-JIMÉNEZ, E.; PEÑALOSA, J. M.; MANZANO, R.; CARPENA-RUIZ, R. O.; GAMARRA, R.; ESTEBAN, E. Heavy metals distribution in soils surrounding an abandoned mine in NW Madrid (Spain) and their transference to wild flora. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 162, n. 2/3, p. 854-859, Mar. 2009.

MULLIGAN, C. N.; YONG, R. N.; GIBBS, B. F. Remediation technologies for metal-contaminated soils and groundwater, an evaluation. **Engineering Geology**, Amsterdam, v. 60, n. 1/4, p. 193-207, June 2001.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, July 1962.

NICOLOSO, F. T.; ERIG, A. C.; MARTINS, C. F.; RUSSOWSKI, D. Micropropagação do ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 3, n. 2, p. 11-18, abr. 2001.

NICOLOSO, F. T.; FORTUNATO, R. P.; FOGAÇA, M. A. F. Influência da posição da estaca no ramo sobre o enraizamento de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen em dois substratos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 2, p. 277-283, maio/jun. 1999.

PHAENARK, C.; POKETHITIYOOK, P.; KRUATRACHUE, M.; NGERNSANSARUAY, C. Cd and Zn accumulation in plants from the Padaeng Zinc Mine area. **International Journal of Phytoremediation**, London, v. 11, n. 5, p. 479-495, July 2009.



PROCTOR, M.; YEO, P.; LACK, A. **The natural history of pollination**. Portland: Timber, 1996. 487 p.

RASKIN, I.; KUMAR, P. B. A. N.; DUSHENKOV, S.; SALT, D. D. Bioconcentration of heavy metals by plants. **Current Opinion Biotechnology**, London, v. 5, n. 3, p. 285-290, June 1994.

RASKIN, I.; SMITH, R. D.; SALT, D. E. Phytoremediation of metals using plants to remove pollutants from the environment. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 8, n. 2, p. 221-226, Apr. 1997.

ROTKITTIKHUN, P.; KRUATRACHUE, M.; CHAIYARAT, R.; NGERNSANSARUAY, C.; POKETHITIYOOK, P.; PAIJITPRAPAPORN, A.; BAKER, A. J. M. Uptake and accumulation of lead by plants from the Bo Ngam lead mine area in Thailand. **Environmental Pollution**, Barking, v. 144, n. 2, p. 681-688, Nov. 2006.

SALT, D. E.; BLAYLOCK, M.; KUMAR, N. P. B. A.; DUSHENKOV, V.; ENSLEY, B. D.; CHET, I.; RASKIN, I. Phytoremediation: a novel strategy for removal of toxic metals from the environment using plants. **Bio Technology**, New York, v. 13, n. 5, p. 468-474, May 1995.

SANTOS, R. C. Planta do cerrado absorve metal nocivo ao meio ambiente. **Jornal da UNICAMP**, Campinas, v. 23, n. 409, set. 2008. Disponível em: <[www.ib.unicamp.br/node/152](http://www.ib.unicamp.br/node/152)>. Acesso em: 3 nov. 2008.

SIQUEIRA, J. C. Fitogeografia das Amaranthaceae brasileiras. **Pesquisas Botânica**, São Leopoldo, n. 45, p. 5-21, 1994/1995.

SÓLIS-DOMINGUÉZ, F. A.; GONZÁLEZ-CHÁVEZ, M. C.; CARRILO-GONZÁLEZ, R.; RODRIGUÉZ-VÁZQUEZ, R. Accumulation and localization of cadmium in *Equinochloa polystachya* grown within a hydroponic system. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 141, n. 3, p. 630-636, Mar. 2007.

SUDHA, C. G.; KRISHNAN, P. N.; PUSHPAHGADAN, P. *In vitro* propagation of *Holostemma annulare* (Roxb.) K. Schum., a rare medicinal plant. **In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant**, Columbia, v. 34, n. 1, p. 57-63, Jan./Mar. 1998.

SUDHA, C. G.; SEENI, S. *In vitro* propagation of *Rauwolfia micrantha*, a rare medicinal plant. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 44, n. 3, p. 243-248, Mar. 1996.

TAPPERO, R.; PELTIER, E.; GRÄFE, M.; HEIDEL, K.; GINDER-VOGEL, M.; LIVI, K. J. T.; RIVERS, M. L.; MARCUS, M. A.; CHANEY, R. L.; SPARKS, D. L. Hyperaccumulator *Alyssum murale* relies on a different metal storage mechanism for cobalt than for nickel. **New Phytologist**, Cambridge, v. 175, n. 4, p. 641-654, 2007.

TASCETTO, O. M.; PAGLIARINI, M. S. Occurrence of 2n and jumbo pollen in the Brazilian ginseng (*Pfaffia glomerata* e *P. tuberosa*). **Euphytica**, Wageningen, v. 133, n. 1, p. 139-145, July 2003.

TU, C.; MA, L. Q. Effects of arsenic concentrations and forms on arsenic uptake by the hyperaccumulator ladder brake. **Journal Environmental Quality**, Madison, v. 31, n. 2, p. 641-647, Mar. 2002.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Test methods for evaluating soil waste, physical/chemical methods SW-846**. 3. ed. Washington, 1995. Disponível em: <<http://www.epa.gov/SW-846/3051a.pdf>>. Acesso em: 1 ago. 2008.

WATANABE, M. E. Phytoremediation on the brink of commercialization. **Environmental Science & Technology**, Easton, v. 31, n. 4, p. 182A-186A, Apr. 1997.

WEI, L.; SHU, W.; LAN, C. *Viola baoshanensis*, a plant that hyperaccumulates cadmium. **Chinese Science Bulletin**, Beijing, v. 49, n. 1, p. 29-32, Jan. 2004.

WEI, S.; ZHOU, Q.; SAHA, U. K.; XIAO, H.; HU, Y.; REN, L.; PING, G. Identification of a Cd accumulator *Conyza Canadensis*. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 163, n. 1, p. 32-35, Apr. 2009.

WEI, S. H.; ZHOU, Q. X.; WANG, X.; ZHANG, K. S.; GUO, G. L.; MA, L. A newly-discovered Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. **Chinese Science Bulletin**, Beijing, v. 50, n. 1, p. 33-38, Jan. 2005.

XU, L.; ZHOU, S.; WU, L.; LI, N.; CUI, L.; LUO, Y.; CHRISTIE, P. Cd and Zn tolerance and accumulation by *Sedum Jinianum* in east China. **International Journal of Phytoremediation**, London, v. 11, n. 3, p. 283-295, Mar. 2009.

## **CAPÍTULO 2**

### **FITOTOXICIDADE E POTENCIAL FITORREMEDIADOR DE CÁDMIO POR AMARANTHACEAE**

## 1 RESUMO

O cádmio (Cd) é reconhecido como um poluente que causa impactos negativos à saúde humana e ao meio ambiente. A contaminação com Cd tem ocorrido no mundo todo e grande esforço tem sido feito e diversas técnicas de remediação são utilizadas visando à recuperação de solos contaminados com esse elemento. Uma das alternativas para se recuperar a funcionalidade e a diversidade de ecossistemas é através da fitorremediação. Este trabalho objetivou avaliar a fitotoxidez de Cd para a *Alternanthera* sp. em relação à *Nicotiana tabacum* como espécie indicadora (controle) e avaliar o potencial fitoextrator de Cd da *Alternanthera* sp. e *Nicotiana tabacum* expostas a concentrações crescentes deste elemento em solução nutritiva. Dois experimentos independentes foram realizados em delineamento inteiramente casualizado, sendo os tratamentos constituídos de cinco doses crescentes de Cd (0; 5; 10; 25 e 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  fornecido como  $\text{CdSO}_4$ ) e quatro repetições. Após 42 dias, as plantas foram colhidas e a produção de matéria seca da parte aérea e raízes, assim como a concentração de Cd e nutrientes foram mensuradas. Os resultados mostraram que o aumento da concentração de Cd na solução nutritiva não afetou a produção de matéria seca da parte aérea e raízes quando a planta testada foi *Alternanthera* sp., mas causou decréscimo na produção de biomassa da parte aérea e raízes de *Nicotiana tabacum*, além da manifestação de sintomas severos de toxidez de Cd. As concentrações de Cd testadas afetaram a acumulação de nutrientes por *Nicotiana tabacum* e *Alternanthera* sp. A proporção da concentração de Cd da parte aérea pela concentração de Cd na raiz foi menor que 1 em *Alternanthera* sp. em todos os tratamentos. Entretanto, a concentração de Cd na parte aérea de *Alternanthera* sp. alcançou  $100 \mu\text{g g}^{-1}$  em  $25 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Cd na solução. A *Alternanthera* sp. é uma planta acumuladora de Cd e pode ser usada em programas de fitorremediação para estabilizar áreas contaminadas com este elemento.

## 2 ABSTRACT

Cadmium (Cd) is recognized as a pollutant as having negative environmental and human health effects. The Cd contamination has occurred worldwide and great efforts have been made and various remediation techniques have been used in order to rectify soil contaminated with this element. One of the alternatives to recover the functionality and diversity of the ecosystem is through phytoremediation. This study aimed at assessing the phytotoxicity of Cd for *Alternanthera* sp. in relation to the *Nicotiana tabacum* as an indicator species (control), and at assessing the Cd potential for phytoextraction of *Alternanthera* sp. and *Nicotiana tabacum* exposed to increasing concentrations of this element in nutrient solution. Two independent experiments were carried out in a completely randomized design. The treatments consisted of five increasing doses of Cd (0; 5; 10; 25 e 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  supplied as  $\text{CdSO}_4$ ) and four replications. Upon 42 days, the shoot and the root system were collected, then obtaining the dry matter as well as measuring the nutrients and the Cd concentration. The results showed that an increase of Cd concentration in nutrient solution did not affect the dry matter production of shoot and root when the plant being tested was *Alternanthera* sp, but it caused a production decrease in shoot and root biomass of *Nicotiana tabacum*, in addition to signs of severe Cd toxicity symptoms. The tests on Cd concentrations affected the accumulation of nutrients by *Nicotiana tabacum* and *Alternanthera* sp. The shoot to root ratio for Cd concentration in *Alternanthera* sp. was smaller than 1 in all treatments. However, Cd concentration in the shoots of *Alternanthera* sp. reached  $100 \mu\text{g g}^{-1}$  at  $25 \mu\text{mol L}^{-1}$  Cd in solution. The *Alternanthera* sp. is a Cd accumulator plant and can be used in phytoremediation programs to stabilize areas contaminated with this element.

### 3 INTRODUÇÃO

O cádmio (Cd) é reconhecido como um poluente que causa impactos negativos na saúde humana e no meio ambiente. Contaminações ambientais com Cd são freqüentes em áreas contendo rejeito de mineração de Zn, composto de lixo e lodo de esgoto, indústrias de plástico e lubrificante e, em alguns casos, onde ocorre a aplicação de fertilizantes fosfatados ricos em Cd (Bergmann, 1992; Kirkham, 2006). Apesar do Cd não ser um elemento essencial para o metabolismo das plantas, os íons de  $Cd^{+2}$  são rapidamente absorvidos pelas raízes e translocados para a parte aérea na maioria das espécies, podendo, desta forma, entrar na cadeia trófica. Muitos trabalhos têm sido publicados a respeito de danos fisiológicos provocados pelo excesso de metais em plantas e relatam os efeitos tóxicos: mudanças na permeabilidade da membrana celular, reações de grupos tiólicos com os cátions metálicos, afinidade com grupo fosfato do ADP e ATP e inativação de enzimas e proteínas funcionais (Santos et al., 2006). Nos animais, o Cd se acumula principalmente nos rins, fígado e órgãos reprodutivos (Kabata-Pendias & Mukherjee, 2007).

A contaminação com Cd tem ocorrido no mundo todo (Kirkham, 2006). Grande esforço tem sido feito e diversas técnicas de remediação são utilizadas visando à recuperação de solos contaminados com esse elemento. Uma das alternativas para se recuperar a funcionalidade e a diversidade desses ecossistemas é a fitorremediação. Esta apresenta inúmeras vantagens, dentre elas a sua natureza permanente, combinada aos baixos custos de manutenção, à proteção contra a erosão eólica e hídrica, à melhoria na estrutura do solo, ao aumento da fertilidade do solo e à recuperação da estética aérea do solo (Accioly & Siqueira, 2000; Wei et al., 2004). A fitorremediação apresenta custo relativamente baixo, provavelmente, sua principal vantagem quando comparada

com técnicas convencionais de remediação (Salido et al., 2003), desta forma, comporta-se como uma atrativa opção para a despoluição de solos com metais pesados, principalmente em países em desenvolvimento, nos quais financiamentos para recuperação ambiental são escassos (Nascimento & Xing, 2006). O custo da remediação convencional é de aproximadamente 30 a 300 dólares por m<sup>3</sup>, enquanto que a fitorremediação pode custar 0,05 dólares por m<sup>3</sup> (Cunningham et al., 1997), ou de 20 a 80 dólares por tonelada (Ensley, 2000).

A fitorremediação prevê vários mecanismos de despoluição, sendo que para áreas contaminadas com elementos-traço destaca-se a fitoestabilização e a fitoextração. A fitoestabilização visa a reduzir o potencial de dano ao ambiente, pela redução da mobilidade e disponibilidade do contaminante no solo, sendo as plantas, neste caso, escolhidas por tolerar as condições da área, controlar a erosão e a lixiviação e evitar a translocação do contaminante para a parte aérea.

A fitoextração consiste na absorção e acumulação de elementos-traço na parte aérea de plantas (Santos et al., 2006). O potencial de fitoextração depende da interação entre solo, metal, planta e microrganismos de solo (Lasat, 2002). A planta ideal para fitoextração de elementos-traço deve ser tolerante aos seus altos níveis, acumular grandes quantidades na parte aérea, ter alta taxa de crescimento, produzir muita biomassa e ter sistema radicular abundante (Garbisu & Alkorta, 2001; Vassilev et al., 2002). A translocação do contaminante da raiz para a parte aérea facilita a retirada do contaminante, e, no final do ciclo da planta, quando a parte aérea é colhida, estas poderão ser dispostas em aterros sanitários ou recicladas para a recuperação do metal (Cunningham & Ow, 1996), ou utilizadas como biocombustível (Schröder et al., 2008).

Plantas com alto fator de bioacumulação (FB) – concentração do elemento na planta em relação à concentração do elemento no solo (FB>1) – apresentam habilidade para a fitoextração e quanto maior este coeficiente, maior a absorção do contaminante (González & González-Chavez, 2006; Branquinho

et al., 2007). Por outro lado, plantas com baixo fator de translocação (FT) – concentração do elemento na parte aérea em relação ao elemento nas raízes ( $FT < 1$ ) – apresentam habilidade para fitoestabilização (Lubben & Saueerbeck, 1991; Baker & Whiting, 2002; González & Gonzáles-Chavez, 2006; Yoon et al., 2006; Branquinho et al., 2007).

Em relação à absorção de metais, Baker (1981) classifica as plantas em: i) excludentes: cuja concentração é mantida em nível constante até que se atinja um valor crítico no solo, no qual esse mecanismo é quebrado, resultando na não restrição ao transporte do metal; ii) indicadoras: onde a absorção e o transporte de metais é linear, sendo que a concentração interna reflete o nível externo; e, iii) acumuladoras: onde há acumulação de metais nas partes da planta em baixo ou alto nível de metais no solo.

A hiperacumulação de metais é um raro fenômeno em plantas superiores terrestres. Aproximadamente 400 espécies de plantas são identificadas como hiperacumuladoras de metais, representando menos de 0,2% de todas as angiospermas (Baker & Brooks, 1989; Baker et al., 2000). A descoberta de plantas com capacidade de acumular grandes quantidades de metais (hiperacumuladoras) resultou em avanços em seu uso para remediação de solos contaminados (Baker, 1981). Os fatores considerados primordiais para uma planta ser considerada hiperacumuladora apresentam diferentes interpretações, o que permite divergências conceituais entre autores. Baker et al. (2000) considera como hiperacumuladora, a planta que tenha habilidade para absorver e reter na parte aérea (caule e folhas) no mínimo  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  de Cd. Shen & Liu (1998) sugerem que plantas hiperacumuladoras são aquelas que apresentam em seu tecido concentração de elemento-traço cerca de 10 a 500 vezes maior que as concentrações encontradas na maioria das plantas (no caso específico de Cd,  $1 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ ). Outros autores sugerem como hiperacumuladoras, plantas com FT e FB superior a 1 (Baker & Whiting, 2002; González & Gonzáles-Chavez, 2006;



Yoon et al., 2006; Branquinho et al., 2007). As plantas possuem grande variação na tolerância e habilidade em absorver e transportar Cd. Diferenças na capacidade de acumulação e na localização do Cd parecem ser os fatores que mais se relacionam com a tolerância da planta quando exposta a esse elemento (Obata & Umebayashi, 1993). Exemplos de algumas espécies hiperacumuladoras de Cd, segundo critério proposto por Baker et al. (2000) são apresentados na Tabela 1.

TABELA 1 Concentração de cádmio na raiz e folhas de algumas espécies de plantas hiperacumuladoras.

Espécies	[Cd] raiz	[Cd] folhas	Referência:
	-----µg g <sup>-1</sup> -----		
<i>Sedum jineanum</i>	937	474	Xu et al. (2009)
<i>Chromolaena odoratum</i>	110,6	166	Phaenark et al. (2009)
<i>Gynura pseudochina</i>	76,3	457,7	Phaenark et al. (2009)
<i>Impatiens violaeiflora</i>	185	212,3	Phaenark et al. (2009)
<i>Justicia procumbens</i>	527,4	548	Phaenark et al. (2009)
<i>Echinochloa polystachya</i>	299	233	Solís-Dominguez et al. (2007)
<i>Phragmites karka</i>	53	399,5	Ghosh & Singh (2005)
<i>Solanum nigrum</i>	96,3	124,6	Wei et al. (2005)
<i>Viola baoshnensis</i>	981	1168	Wei et al. (2004)
<i>Arabidopsis halleri</i>	660	157	Bert et al. (2003)
<i>Thlaspi caerulescens</i>	-	116 - 263	Lombi et al. (2001)
<i>Diantus chinenses</i>	-	115	Chen & Lee (1997)

As informações sobre hiperacumuladoras de clima tropical são escassas (Brooks, 1998). A maioria das espécies estudadas é de clima temperado e tem a desvantagem de produzir pequena quantidade de biomassa. Além disso, o número de hiperacumuladoras de Cd é restrito, tornando-se necessária a identificação de novas hiperacumuladoras de Cd para subsidiar a técnica da

fitorremediação em áreas contaminadas com esse elemento-traço (Wei et al., 2004).

Importante fonte potencial de espécies apropriadas para a fitorremediação é a vegetação encontrada naturalmente em áreas contaminadas, pois essas plantas apresentam-se adaptadas ao ambiente estressante (Watanabe, 1997; Alkorta et al., 2004; Carrilo-González & González-Chavez, 2006; Gisbert et al., 2008).

Um exemplo desta situação é o genótipo de planta encontrado em área de mineração de calamina (minério de zinco), identificado como do gênero *Pfaffia* (*Alternanthera*), conhecida vulgarmente por *calaminaceae*, o qual se mostrou bem adaptado às condições de multicontaminação por zinco, cobre, cádmio e chumbo em relação a outras espécies estudadas (Accioly & Siqueira, 2000). Em estudo com a *Pfaffia* sp., Carneiro et al. (2002) constataram que as concentrações de Cd na parte aérea aumentaram linearmente com a contaminação, atingindo valores superiores a  $100 \mu\text{g g}^{-1}$  de Cd. A partir desse resultado, esses autores puderam indicar esta planta como hiperacumuladora de Cd, fato que até então não havia sido relatado na literatura com relação a este gênero de plantas.

Estudos com esse enfoque não são conhecidos nas condições brasileiras, onde a contaminação do solo e a existência de áreas degradadas pelo excesso de elementos-traço são cada vez mais numerosas. Portanto, o conhecimento do comportamento de espécies herbáceas com potencial para fitorremediação dessas áreas se reveste de maior importância (Carneiro et al., 2002).

Com o intuito de facilitar o entendimento da absorção de metais em plantas acumuladoras e tolerantes, experimentos em solução nutritiva têm sido realizados, pois este sistema tem sido uma ferramenta para determinar a eficiência de absorção e a tolerância a metais pesados em espécies com potencial de fitorremediação (Marchiol et al., 2004).

Diante da importância da fitoextração como técnica remediadora para áreas contaminadas por metais pesados (cádmio), depreende-se, pois, da necessidade de estudos que relacionam a tolerância de espécies de clima tropical, desenvolvidas em níveis crescentes de contaminação, com os aspectos fisiológicos dessas plantas, para que possam ser efetivamente cultivadas como fitoextratoras nas áreas contaminadas no Brasil. Acredita-se que a espécie *Alternanthera* sp., herbácea comumente encontrada em área de mineração de zinco, possa ser utilizada em programas de fitorremediação de solos contaminados com Cd.

Desta forma, este trabalho objetivou avaliar a fitotoxidez de Cd para a *Alternanthera* sp. em relação à *Nicotiana tabacum* como espécie indicadora (controle) e avaliar o potencial fitoextrator de Cd da *Alternanthera* sp. e *Nicotiana tabacum* expostas a concentrações crescentes deste elemento em solução nutritiva.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Obtenção das plantas

O local escolhido para a coleta de sementes de *Alternanthera* sp. foi a área da Companhia Mineira de Metais (CMM), localizada na cidade de Vazante, noroeste do estado de Minas Gerais.

Inicialmente, foi realizado um teste com as sementes de *Alternanthera* sp. que foram colocadas para germinar em caixas gerbox, com papel tipo CEL-065 umedecido e mantidas em germinadores com temperatura de 20 a 35 °C. À medida que germinavam, eram transferidas para bandejas de isopor contendo 200 células, com substrato comercial Plantmax. As plântulas foram mantidas em casa de vegetação climatizada até desenvolverem 6 folhas definitivas. Plantas com altura e idade semelhantes foram selecionadas, seu sistema radicular foi lavado em água destilada para a retirada do excesso de substrato. As plantas foram transferidas para vasos de 2 litros, uma planta por vaso, contendo solução nutritiva de Clark com 50% da força iônica original (solução de adaptação), sob aeração constante e pH ajustado para 5,5.

As sementes de fumo (*Nicotiana tabacum*) foram obtidas no Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Lavras e as mesmas foram semeadas em bandejas de isopor contendo 200 células, com substrato comercial Plantmax e irrigadas diariamente. Após a germinação, as plântulas foram mantidas em casa de vegetação climatizada até desenvolverem 4 folhas definitivas e, posteriormente, passaram por processo semelhante ao descrito para as plântulas de *Alternanthera* sp.. O fumo foi utilizado como planta controle para facilitar a visualização da susceptibilidade a toxidez de Cd em relação à *Alternanthera* sp.

As plântulas de *Alternanthera* sp. e de *Nicotiana tabacum* permaneceram em solução de adaptação por 1 semana e, então, foram transferidas para solução de Clark com a força iônica original por mais 2 semanas, sob aeração constante e pH ajustado para 5,5. A solução nutritiva foi preparada conforme Clark (1975) com reagentes p.a. e continha: 7,26 mmol L<sup>-1</sup> N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>; 0,90 mmol L<sup>-1</sup> N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>; 0,07 mmol L<sup>-1</sup> P; 1,80 mmol L<sup>-1</sup> K; 2,60 mmol L<sup>-1</sup> Ca; 0,60 mmol L<sup>-1</sup> Mg; 0,50 mmol L<sup>-1</sup> S; 7,0 μmol L<sup>-1</sup> Mn; 2 μmol L<sup>-1</sup> Zn; 0,5 μmol L<sup>-1</sup> Cu; 19 μmol L<sup>-1</sup> B; 0,60 μmol L<sup>-1</sup> Mo; e 38 μmol L<sup>-1</sup> Fe complexado com Na<sub>2</sub>-EDTA.

Para o preparo das soluções estoque e padrões foi utilizada água deionizada. Toda a vidraria utilizada foi lavada com solução de ácido clorídrico 30% (v/v) e, então, enxaguada três vezes em água destilada antes do uso.

Antes de serem expostas às concentrações de Cd, todas as raízes das plântulas foram pigmentadas, através da imersão em suspensão de água destilada e pó fino de carvão ativo e, posteriormente, enxaguadas em água destilada, conforme metodologia descrita por Schat & Ten Bookum (1992). Esse método permitiu a visualização do crescimento radicular, pois, inicialmente, todo o sistema radicular estava escuro e toda a raiz formada após a exposição ao Cd apresentaria coloração clara.

#### **4.2 Condução experimental**

O estudo foi realizado em casa de vegetação do Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em cultivo hidropônico.

Ensaio independentes foram realizados para fitoextração de Cd por *Alternanthera* sp. e por *Nicotiana tabacum*. Os tratamentos foram constituídos de concentrações crescentes de Cd (0; 5; 10; 25 e 50 μmol L<sup>-1</sup>, fornecido como CdSO<sub>4</sub>), com quatro repetições, dispostas em delineamento inteiramente

casualizado, totalizando 20 parcelas para cada experimento. Os vasos utilizados apresentavam capacidade de 2 L e continham uma única planta.

Após três semanas de adaptação em solução nutritiva de Clark, as plantas foram expostas às concentrações de Cd. As soluções foram renovadas semanalmente e o pH mantido em 5,5 com adição de NaOH ou HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>, quando necessário o ajuste.

As plantas foram mantidas por um período de 42 dias em exposição ao Cd, período no qual foram observados a ocorrência de eventuais sintomas de toxidez e os efeitos no crescimento das plantas. Ao final do experimento, as plantas foram colhidas e parte aérea (folha e caule) e raízes foram separadas. A parte aérea foi lavada em água deionizada e as raízes foram imersas em solução de ácido clorídrico 10% (v/v) por um minuto e em seguida enxaguadas em água deionizada. Em seguida, ambas as partes foram secas em estufa em temperatura entre 65 e 75° C até atingir massa constante. O peso da matéria seca foi determinado em balança de precisão (0,01 g) que em seguida foi moída em moinho tipo Wiley equipado com peneira com malha de 0,38 mm, para ser analisada quimicamente.

#### **4.3 Análise de Cd e nutrientes nas plantas**

O material moído foi digerido segundo o método 3051 da United States Environmental Protection Agency - USEPA (1995), utilizando-se de 0,5 g de material em 10 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado em forno de microondas com tubos de Teflon® PTFE à pressão 0,76 MPa por dez minutos. A temperatura alcançada à pressão de 0,76 MPa é de aproximadamente 175° C. Após a digestão, o extrato foi filtrado e seu volume completado até 20 mL com água destilada. A partir dos extratos, o teor de cádmio, cálcio, magnésio, cobre, ferro, manganês e zinco foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica, usando equipamento Perkin Elmer AAnalyst 800® com atomizador tipo chama, o teor

de potássio foi determinado por fotometria de chama, o teor de fósforo por colorimetria e o teor de enxofre por turbidimetria (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, 1999). O controle e a garantia da qualidade dos resultados das análises de Cd e nutrientes foram assegurados pelo uso de material de referência *Tomato Leaves*, do NIST (SRM 1573a, National Institute of Standards and Technology – NIST) em cada bateria de análise, bem como de uma amostra em branco. Os resultados obtidos foram satisfatórios, com recuperação de 74% a 122%.

O acúmulo de cádmio, ou fitoextração de Cd por planta, foi calculado através da multiplicação da matéria seca produzida na parte aérea pela concentração de Cd no tecido vegetal.

A especiação do cádmio em solução nutritiva foi obtida através do programa Visual Minteq versão 2.53 (Gustaffson, 2007) objetivando verificar as principais formas de Cd em cada concentração estudada e sua disponibilidade.

#### **4.4 Cálculo do FB, FT e dose crítica de toxidez**

A habilidade das plantas em tolerar e acumular elementos-traço é útil para a identificação de plantas com propósito de fitoextração e fitoestabilização. Esta habilidade pode ser mensurável através do fator de bioacumulação (FB) e do fator de translocação (FT), que são definidos como a concentração do elemento na planta em relação à concentração do elemento no solo e concentração do elemento na parte aérea em relação à concentração do elemento nas raízes, respectivamente. Como o experimento foi realizado em solução nutritiva utilizaram-se, para os cálculos, as concentrações dos elementos presentes em solução, conforme fórmulas abaixo:

$$FB = [Cd]_{\text{parte aérea}} / [Cd]_{\text{solução}} \text{ e } [Cd]_{\text{raiz}} / [Cd]_{\text{solução}}$$

$$TF = [Cd]_{\text{parte aérea}} / [Cd]_{\text{raízes}}$$

onde  $[Cd]_{\text{parte aérea}}$  e  $[Cd]_{\text{raízes}}$  representam a concentração do elemento na parte aérea e nas raízes, respectivamente ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ), enquanto  $[Cd]_{\text{solução}}$  é a concentração do elemento em solução nutritiva ( $\text{mg L}^{-1}$ ) (Lubben & Sauerbeck, 1991; Srivastana et al., 2000; Baker & Whiting, 2002; Wei & Chen, 2006; Wei et al., 2006; González & Gonzáles-Chavez, 2006; Yoon et al., 2006; Branquinho et al., 2007; Jankong et al., 2007; Wang et al., 2007).

Os níveis críticos de toxidez de Cd na solução nutritiva (concentração do elemento que reduz em 50% a produção de matéria seca da parte aérea e raízes) foram estimados com base nas equações de regressão obtidas em cada espécie, em resposta às concentrações do elemento em solução.

#### **4.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) com Espectrometria de Energia Dispersiva (EDS)**

Segmentos de tecidos de raízes e folhas de *Alternanthera* sp. foram coletados após dez dias de exposição ao Cd e analisados para determinar modificações induzidas pela presença do elemento. Os segmentos, com 2 cm de largura e 3 cm de altura, foram lavados em água deionizada e imersos em fixador Karnovsk modificado, composto por glutaraldeído 2,5%, formaldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio  $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7,2,  $\text{CaCl}_2$   $0,001 \text{ mol L}^{-1}$ , por um período de 24 horas. Em seguida, foi feita a transferência do material para glicerol 30% por 30 minutos. Após esta etapa, foi feita a imersão do material em nitrogênio líquido e feita sua fratura sobre uma superfície metálica resfriada com nitrogênio líquido, utilizando-se um bisturi. A pós-fixação foi realizada com imersão em solução de tetróxido de ósmio 1% em água, por uma hora, a temperatura ambiente, em capela de exaustão. Após esse período, as amostras foram lavadas por três vezes em água destilada e, em seguida, desidratadas com gradiente em acetona (25, 50, 75, 90 e 100%, por três vezes). As amostras foram levadas ao aparelho de ponto crítico, para completar a



secagem, montadas em porta-espécime (*stubs*) e cobertas por uma fina camada de ouro. As amostras foram observadas em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) com Espectrometria de Energia Dispersiva (EDS), equipamento Jeol JSM – T300.

#### **4.6 Análises estatísticas**

Os resultados da produção de matéria seca e as concentrações de Cd e nutrientes na parte aérea e raízes foram submetidos à análise de variância, por meio do uso do programa estatístico Sisvar. As equações de regressão foram escolhidas pelo melhor ajuste, através do programa Table Curve 2D for Windows v. 2.03 (Jandel Corporation). O coeficiente de correlação de Pearson foi utilizado para determinar relações significativas entre a concentração de Cd e cada nutriente (P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn e Zn) na parte aérea.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Produção de matéria seca

As plantas de *Alternanthera* sp. tiveram o crescimento aparentemente normal em todas as concentrações de Cd testadas. O aumento das concentrações de Cd não exerceu efeito significativo sobre a produção de matéria seca da parte aérea, raízes e, conseqüentemente, da matéria seca total de *Alternanthera* sp. (Figura 1). Conforme Barceló & Poschenrieder (1990), o sintoma mais característico de toxicidade por elementos-traço é a redução do crescimento da planta. Em experimento realizado por Vasiliadou & Dordas (2009), com diferentes cultivares de fumo expostas à doses crescentes de Cd em solo, foi observado que o número de folhas por planta foi afetado pelos níveis de Cd, sendo que na concentração 300 mg L<sup>-1</sup> as plantas apresentaram um menor número de folhas, tendo sido constatado ainda que a toxidez de Cd afetou o crescimento das plantas.

No entanto, para *Nicotiana tabacum* houve um decréscimo significativo na matéria seca da parte aérea, raízes e total (Figura 1). Resultados semelhantes foram encontrados por outros autores, em experimentos com outras espécies, demonstrando que o incremento na concentração de Cd no meio de crescimento pode diminuir o crescimento e o desenvolvimento, afetando o número de folhas, a área e o desenvolvimento foliar (Haag-Kerwer et al., 1999; Sandalio et al., 2001; Liu et al., 2007).

De acordo com Brown et al. (1994), em soluções de solo contendo concentrações de Cd superiores a 35 µmol, somente hiperacumuladoras de Cd poderiam crescer.

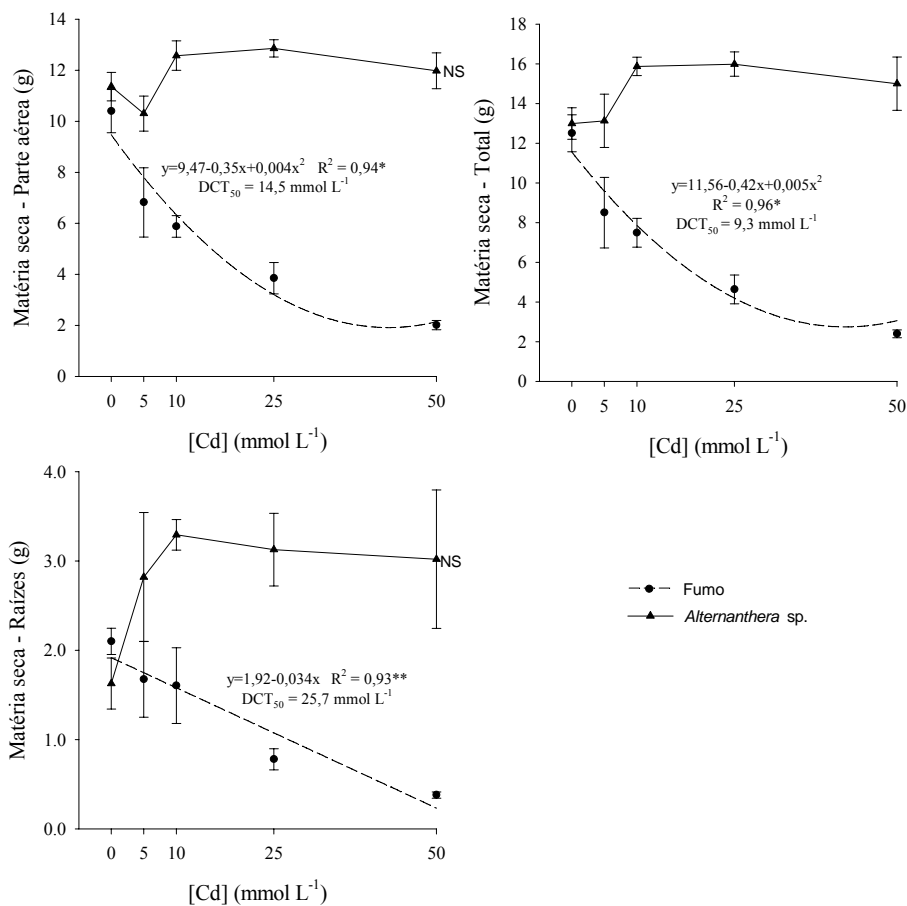


FIGURA 1 Produção de matéria seca da parte aérea, das raízes e produção total das espécies *Alternanthera sp.* e *Nicotiana tabacum* em função de concentrações crescentes de cádmio em solução nutritiva. NS = não significativo;  $DCT_{50}$  = dose crítica de toxidez capaz de reduzir em 50% a produção de matéria seca.

*Nicotiana tabacum*, uma espécie que absorve Cd e é conhecida como uma eficiente acumuladora de Cd (Lugon-Moulin et al., 2004), apresentou redução de 50% na produção de matéria seca de parte aérea e raízes nas

concentrações  $14,5 \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $25,7 \mu\text{mol L}^{-1}$  de cádmio em solução (dose crítica de toxidez), respectivamente. Este resultado demonstra que a parte aérea do fumo é mais afetada pelo aumento das concentrações de cádmio que as raízes. As plantas de *Nicotiana tabacum* apresentaram sintomas típicos de toxidez a partir da segunda semana de exposição, o que não foi observado em *Alternanthera* sp.. Os sintomas apresentados foram clorose foliar, necrose, redução do crescimento de raízes e parte aérea e distúrbio no balanço hídrico da planta (murchamento), sintomas descritos também por Di Toppi & Gabrielli (1999) e Soares et al. (2005). A redução do crescimento pode estar relacionada ao efeito fitotóxico do Cd na extensibilidade ou síntese de material de parede celular (Barceló & Poschenrieder, 1992).

O fato da *Alternanthera* sp. não ter diminuído a produção de matéria seca, mesmo nas concentrações mais elevadas, demonstra sua tolerância a esse elemento-traço, o que reafirma a hipótese de que as plantas tolerantes são endêmicas de solos poluídos e sugere significativa adaptação ecofisiológica, manifestando resistência à contaminação do solo com elementos-traço. Portanto, esta tolerância afirma o seu potencial para ser utilizada como espécie fitoextratora em áreas com elevados teores de Cd.

## 5.2 Especiação de Cd na solução

Resultados da especiação de Cd na solução nutritiva de Clark na maior concentração ( $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) revelaram que 70,53% do Cd estava na forma  $\text{CdEDTA}^{-2}$ , 25,73% como  $\text{Cd}^{+2}$ , 1,22% como  $\text{CdSO}_{4(\text{aq})}$ , 0,91% como  $\text{CdHPO}_{4(\text{aq})}$ , 0,90% como  $\text{CdCl}^{+}$ , 0,37% como  $\text{CdNO}_3^{+}$  e 0,34% como  $\text{CdEDTA}^{-1}$ . Isso evidencia que 100% do elemento estava dissolvido em solução e prontamente disponível para ser absorvido pelas plantas.

## 5.3 Concentração e acúmulo de Cd nas plantas

Com o acréscimo de cádmio na solução, houve um acréscimo na concentração desse elemento em ambas as plantas (Figura 2). Na *Alternanthera* sp., a concentração de Cd na parte aérea foi menor que a concentração nas raízes,  $[Cd]_{\text{parte aérea}} < [Cd]_{\text{raízes}}$ . Resultados semelhantes foram encontrados em diversos estudos com angiospermas, *Agrotis tenuis* e *Armeria marítima* ssp. *halleri*, crescendo próximo a local de fundição de metais (Dahmani-Muller et al., 2000), em populações tolerantes a Cd de *Silene vulgaris* (Verkleij & Prast, 1989), em *Carex rostrata*, *Eriphorum angustifolium* e *Phragmites australis* presentes em área de mineração (Stoltz & Greger, 2002). Em contraste, altas concentrações nas folhas em relação às raízes têm sido encontradas em hiperacumuladoras *Thlaspi caerulescens*, *Arabidopsis halleri* (Dahmani-Muller et al., 2001; Keller et al., 2003), *Viola baoshanensis* (Wei et al., 2004) e *Solanum nigrum* (Wei et al., 2005), mas também em espécies não acumuladoras como *Brassica juncea*, *Nicotiana tabacum*, *Zea mays* e *Salix viminalis* (Keller et al., 2003).

As concentrações de Cd na parte aérea e nas raízes de *Alternanthera* sp. aumentaram linearmente com o aumento da concentração de Cd na solução nutritiva. O valor estimado de  $[Cd]_{\text{raízes}}$  para a maior concentração de Cd na solução ( $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) foi  $808,82 \mu\text{g g}^{-1}$ , enquanto que para  $[Cd]_{\text{parte aérea}}$  foi  $235,88 \mu\text{g g}^{-1}$ . Estudos anteriores têm demonstrado que plantas podem sofrer toxidez quando a concentração de Cd no tecido vegetal é de 3 a  $10 \mu\text{g g}^{-1}$  de matéria seca (Balsberg-Pahlsson, 1989; Polle & Schützendübel, 2003; Ghosh & Singh, 2005), surpreendentemente a concentração de Cd na parte aérea de *Alternanthera* sp é superior a esta faixa normalmente tolerável para a maioria das espécies e mesmo com a concentração de Cd acima de  $200 \mu\text{g g}^{-1}$  não apresentou sintomas visíveis de toxidez e não houve inibição do crescimento das plantas conforme demonstrado na Figura 1, 3 e 4. A elucidação dos mecanismos bioquímicos e moleculares de homeostase do Cd na parte aérea e raízes de

*Alternanthera* sp. é fundamental e, portanto, será imprescindível em um futuro estudo.

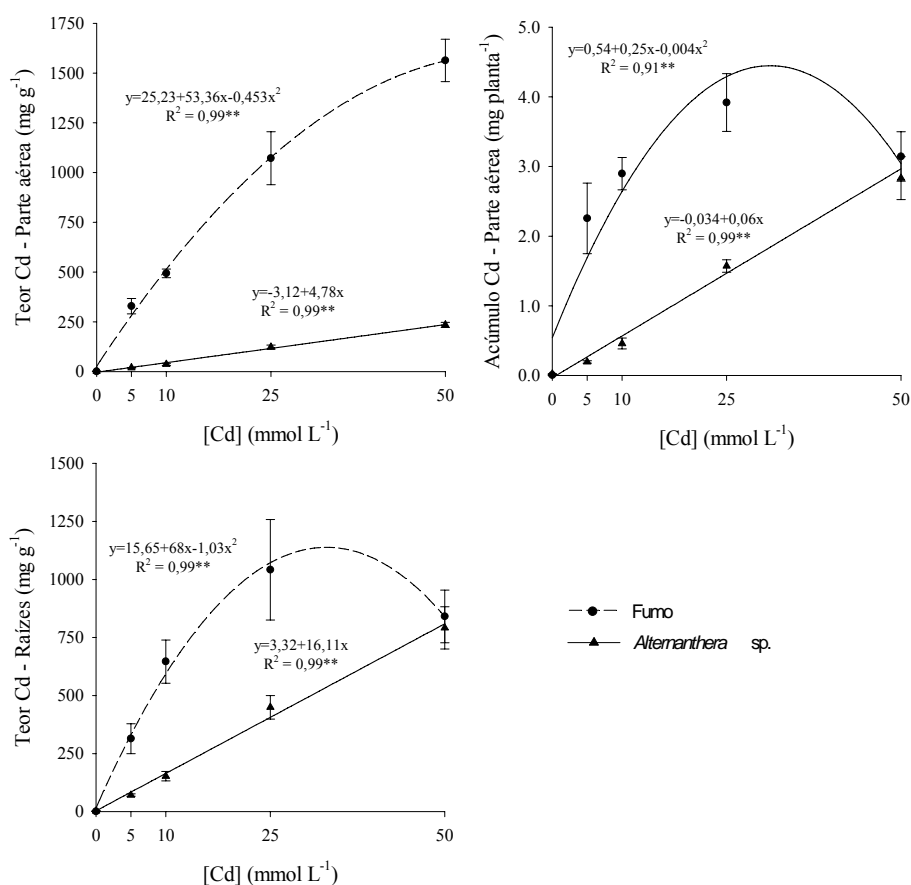


FIGURA 2 Concentração de Cd na parte aérea, nas raízes e acúmulo em plantas de *Alternanthera* sp. e *Nicotiana tabacum* em função de concentrações crescentes de cádmio em solução nutritiva. NS=não significativo.



FIGURA 3 Plantas de *Alternanthera* sp. em solução contendo concentrações crescentes de Cd. Foto obtida no 42º dia após a exposição (os valores em cada vaso representam a concentração de Cd na solução em  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ).

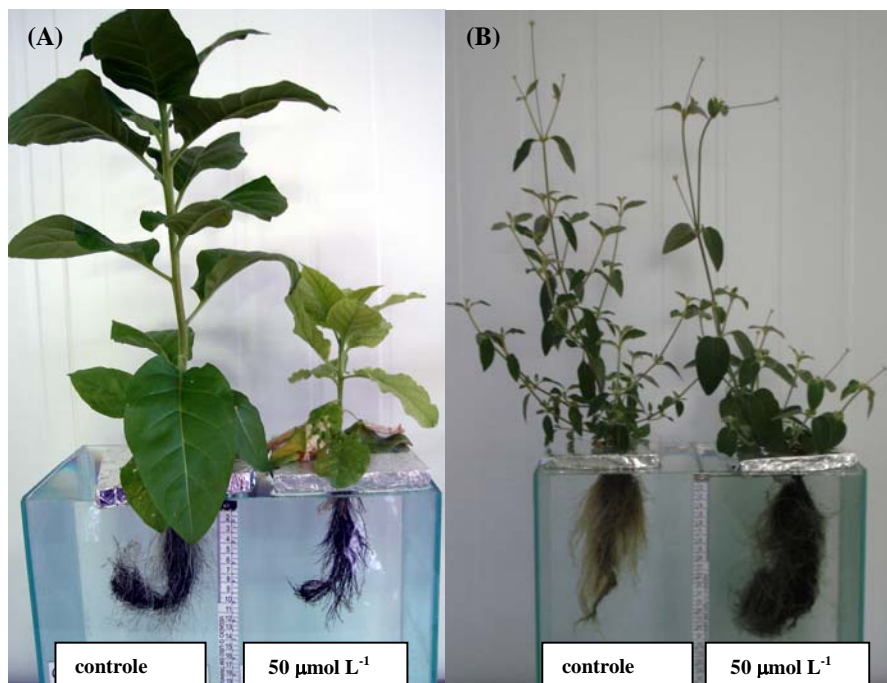


FIGURA 4 Crescimento da parte aérea e raízes de plantas de *Nicotiana tabacum* (A) e *Alternanthera* sp. (B) em solução nutritiva controle e com  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Cd.

Esse resultado demonstra que *Alternanthera* sp. tem a capacidade de hiperacumular Cd na parte aérea e, conseqüentemente, é uma espécie com potencial para ser usada como fitoextratora. O valor estimado de  $[\text{Cd}]_{\text{solução}}$  para a obtenção de  $100 \mu\text{g g}^{-1}$  de Cd na parte aérea, valor mínimo necessário para torná-la hiperacumuladora, foi de  $24 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Levando em consideração que não houve redução na produção de matéria seca, o potencial de acumular Cd poderia ainda ser mais alto do que o valor encontrado nesse estudo. Sóliz-Domingues et al. (2007) observaram que a hiperacumuladora *Echinochloa polystachya* só atingiu concentrações superiores a  $100 \mu\text{g g}^{-1}$  na matéria seca após a concentração de  $100 \text{mg L}^{-1}$  ( $892 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) na solução nutritiva. Já Wei et



al. (2004) observaram que a hiperacumuladora *Viola baoshanensis*, crescendo em solução nutritiva, atingiu a concentração de  $4825 \mu\text{g g}^{-1}$  de Cd na matéria seca quando a concentração de Cd na solução era de  $50 \text{ mg L}^{-1}$  ( $446 \mu\text{mol L}^{-1}$ ).

Já *Nicotiana tabacum* apresentou maior concentração de Cd nos tecidos vegetais que a *Alternanthera* sp., embora tenha apresentado drástica redução no crescimento e produção de matéria seca, com sintomas visíveis de toxidez a partir da concentração  $10 \mu\text{mol L}^{-1}$  (Figura 4 e 5).



FIGURA 5 Plantas de *Nicotiana tabacum* em solução contendo concentrações crescentes de Cd. Foto obtida no 21º dia após a exposição (valores em cada vaso representam a concentração de Cd na solução em  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ).

Ressalta-se que a concentração de Cd foi maior na parte aérea que nas raízes,  $[\text{Cd}]_{\text{parte aérea}} > [\text{Cd}]_{\text{raízes}}$  e que, a partir da concentração  $25 \mu\text{mol L}^{-1}$ , valor crítico de toxidez para as raízes, houve transferência de quantidades substanciais de Cd para a parte aérea, o que pode explicar a elevada toxicidade deste

elemento em concentrações mais altas na solução.

O acúmulo de Cd refere-se ao total de Cd transportado para a parte aérea e é calculado pela concentração de Cd, na parte aérea, multiplicado pela produção de matéria seca da parte aérea. Esse parâmetro é muito importante para avaliar o potencial de hiperacumulação da planta para ser utilizada na fitorremediação (Yang et al., 2002). Com base nos resultados obtidos, pode-se observar que o acúmulo ou potencial de fitoextração de Cd pelas duas plantas tende a se igualar (Figura 2), pois, apesar da concentração de Cd na parte aérea de *Nicotiana tabacum* ter sido maior, a produção de matéria seca decresceu nas maiores concentrações de Cd em solução, enquanto que em *Alternanthera* sp. o aumento da concentração de Cd na solução nutritiva propiciou um aumento linear na concentração de Zn da parte aérea sem comprometer a sua produção de matéria seca.

#### **5.4 Coeficientes de bioacumulação e translocação**

Diversos trabalhos têm destacado a importância dos fatores de bioacumulação ( $FB > 1$ ) e translocação ( $FT > 1$ ) para a classificação da planta como hiperacumuladora (Lubben & Sauerbeck, 1991; Baker & Whiting, 2002; Wei et al., 2004; Wei et al., 2005; Gonzáles & Gonzáles-Chávez, 2006; Yoon et al., 2006; Branquinho et al., 2007). O FT demonstra a eficiência da planta no transporte do elemento das raízes para a parte aérea, enquanto o FB avalia a eficiência da planta em acumular o elemento em relação a uma determinada concentração (Nascimento & Xing, 2006).

Os fatores de bioacumulação e translocação para *Alternanthera* sp. e *Nicotiana tabacum* são apresentados na Tabela 2.

TABELA 2 Fatores de translocação e bioacumulação (parte aérea e raiz) para cádmio em plantas de *Alternanthera* sp. e *Nicotiana tabacum* expostas a concentrações crescentes de cádmio em solução nutritiva (desvio padrão entre parêntesis).

Tratamentos Cd ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Translocação	Fator	
		Bioacumulação	
		Parte aérea	Raiz
----- <i>Alternanthera</i> sp.-----			
5	0,268 a (0,040)	34 a(7)	127 a (18)
10	0,250 a (0,105)	32 a(9)	136 a (36)
25	0,290 a (0,103)	44 a(7)	160 a (36)
50	0,303 a (0,038)	42 a(4)	141 a (32)
----- <i>Nicotiana tabacum</i> -----			
5	1,113 b (0,261)	585 a (136)	559 a (229)
10	0,808 b (0,226)	439 ab (38)	575 a (166)
25	1,143 b (0,432)	382 b (95)	371 ab(154)
50	1,945 a (0,504)	278 b (38)	159 b (40)

Os resultados mostram que *Alternanthera* sp. não apresentou diferença no FT e FB (parte aérea e raiz) nas diferentes concentrações de Cd. O FT não foi superior a 1 em nenhuma concentração, ou seja, pode haver uma certa restrição na translocação para a parte aérea, pois  $[\text{Cd}]_{\text{raiz}} > [\text{Cd}]_{\text{parte aérea}}$ . Mas, apesar da restrição na translocação do Cd para a parte aérea os teores encontrados na planta são elevados

Para tentar minimizar os efeitos adversos à exposição de elementos-traço as plantas desenvolveram uma variedade de mecanismos de tolerância a esses elementos. Conforme Baker (1987), os mecanismos responsáveis pela tolerância de plantas a metais incluem a exclusão e a acumulação. Na exclusão a absorção é evitada, o que previne a entrada de íons no citosol. A imobilização de Cd na parede celular das raízes é a primeira importante barreira contra o estresse

promovido pelo Cd (Nishizono et al., 1989) e há uma restrição na translocação para a parte aérea (Baker, 1987). A imobilização nas células da raízes, juntamente com os valores de FT baixos (Baker, 1987), associado a  $FB < 1$  (Lehmann & Rebele, 2004) podem caracterizar mecanismo de exclusão, visando a minimizar a toxidez do Cd (Baker, 1987). Já a acumulação de metais é caracterizada por mecanismo fisiológico que permite a absorção e acumulação de elevadas concentrações de metais pelas plantas, na parte aérea, com a compartimentalização em vacúolo (Baker, 1987; Dahmani-Muller et al., 2000).

Shi & Cai (2009), estudando oito espécies com potencial para produção de biocombustível submetidas a concentrações crescentes de cádmio, observaram que o fator de transferência de Cd das raízes para a parte aérea foi baixo. Sóliz-Domingues et al. (2007), em experimento com a gramínea hiperacumuladora *E. polystachya*, encontraram nas concentrações de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de Cd ( $89 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ) e  $100 \text{ mg L}^{-1}$  de Cd ( $892 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ) os seguintes valores de FT: 0,52 e 0,77, respectivamente. Já a hiperacumuladora *Viola baoshanensis* apresentou o FT maior que 1 em todas as concentrações de Cd estudadas em solução nutritiva e a média do FB da parte aérea foi de 2,38 (Wei et al., 2004). Da mesma forma, *Solanum nigrum* também apresentou FT maior que 1, sem redução de crescimento, até a concentração  $25 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$  de Cd no solo, sendo o FB da parte aérea de 3,17 (Wei et al., 2005). Também foi encontrado FT superior a 1 na hiperacumuladora *Sedum jinianum* quando exposta a concentrações de 50 a  $200 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  de Cd. Então, se comparada à maioria das hiperacumuladoras, *Alternanthera* sp. apresentou baixo FT, mas atingiu a concentração de Cd na parte aérea necessária para torná-la hiperacumuladora.

*Nicotiana tabacum* apresentou FT superior ao encontrado pela *Alternanthera* sp. em todas as concentrações e valor próximo ou igual a 1, sendo que na maior concentração ( $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  de Cd) houve um aumento significativo do FT, atingindo aproximadamente o valor 2. No entanto, esse resultado não

pode ser interpretado de maneira isolada, pois, não houve restrição na translocação de Cd por *Nicotiana tabacum*, não pela eficiência de translocação, mas sim pela falta de um mecanismo de tolerância, como a exclusão, pois, a planta acumulou tanto Cd na parte aérea que apresentou sintomas de toxidez, caracterizados pela redução drástica no crescimento e clorose das folhas; se ficasse exposta por mais tempo a essa concentração teria morrido (figuras 3 e 5).

O fator de bioacumulação da parte aérea é a proporção da concentração da parte aérea em relação à concentração da solução e esse fator em *Nicotiana tabacum* foi superior ao de *Alternanthera* sp. e em ambas os valores foram superiores a 1 em todas as concentrações. Para *Alternanthera* sp., o FB das raízes foi maior que o FB da parte aérea, reafirmando a restrição na translocação. Entretanto, o valor de BF (parte aérea e raiz) demonstra a eficiência da planta em acumular o elemento sem redução no crescimento e os valores encontrados nesse estudo foram altos em relação ao FB de outras hiperacumuladoras. A hiperacumuladora *Viola baoshanensis* apresentou a média do FB da parte aérea igual a 2,38 (Wei et al., 2004). Da mesma forma, *Solanum nigrum* apresentou FB da parte aérea igual a 3,17 (Wei et al., 2005).

A acumulação de metais é caracterizada por mecanismo fisiológico que permite a absorção e acumulação de elevadas concentrações de metais pelas plantas na parte aérea (Baker, 1987; Dahmani-Muller et al., 2000). Isso ocorre através da síntese de peptídeos ou proteínas, como fitoquelatinas e metalotioneínas, que complexam o Cd, através da compartimentalização do Cd em vacúolo e do aumento do sistema de defesa antioxidante, que são os principais mecanismos envolvidos na destoxificação em plantas (Salt et al., 1998; Lugon-Moulin et al., 2004; Kirkham, 2006).

Os resultados mostram que *Alternanthera* sp. acumula Cd nos tecidos, mas tem certa restrição em translocá-lo das raízes para a parte aérea. O padrão de absorção de Cd encontrado a classifica como uma espécie indicadora

conforme a classificação de Baker, 1981, na qual a concentração de Cd interna reflete a concentração externa, ou seja, com o aumento da concentração de Cd na solução, há um aumento na concentração de Cd na parte aérea.

Esse estudo indica que o metal pesado Cd pode ser absorvido por *Alternanthera* sp. e ser removido através da fitoextração. A eficiência da fitoextração é determinada pela quantidade total de Cd extraída pela planta, o qual é dependente de dois fatores principais: a concentração do metal na matéria seca e o total de biomassa produzida. A planta ideal para fitoextração seria aquela com crescimento rápido, sistema radicular abundante e de fácil propagação (Ghosh & Sing, 2005). A *Alternanthera* sp., quando comparada a hiperacumuladoras, possui uma maior produção de biomassa e concentrações elevadas de Cd na matéria seca e não apresenta dificuldades em propagação, além de possuir a vantagem de rebrotar após o corte.

### **5.5 Concentração de nutrientes na planta e correlação com Cd**

Poucos são os estudos que relacionam a influência da presença do Cd sobre a concentração de nutrientes nas plantas. Esforços devem ser feitos para conhecer as conseqüências da presença do Cd não só em termos de sobrevivência das plantas, mas quanto aos seus efeitos sobre a nutrição, fator essencial para o desenvolvimento das espécies vegetais. Desta forma, o entendimento da relação entre a absorção de Cd e a nutrição da planta é essencial para o desenvolvimento de estratégias eficientes para o crescimento de plantas e, conseqüentemente, a fitoextração desse elemento em programas de fitorremediação.

A presença de Cd na solução afetou a concentração de todos os nutrientes em *Nicotiana tabacum* e em *Alternanthera* sp., o potássio (K), magnésio (Mg), cobre (Cu) e manganês (Mn) não foram alterados (Tabela 3).

TABELA 3 Concentrações de macro e micronutrientes na parte aérea das plantas de *Alternanthera* sp. e *Nicotiana tabacum* expostas a concentrações crescentes de Cd.

	Concentrações de Cd $\mu\text{mol L}^{-1}$					Equação
	0	5	10	25	50	
<i>Alternanthera</i> sp.						
	-----g kg <sup>-1</sup> -----					
P	0,7	0,6	0,2	0,3	0,4	$y=0,176+0,02x-0,2x^{0,5}$ R <sup>2</sup> =0,76**
K	24,3	21,2	25,3	23,6	22,6	N.S.
Ca	15,3	11,9	12,9	12,1	8,7	$y=14,05-0,10x$ R <sup>2</sup> =0,79**
Mg	2,0	1,7	2,2	1,8	1,9	N.S.
S	2,35	2,93	8,15	4,46	6,14	S.A.
	-----mg kg <sup>-1</sup> -----					
Cu	5,8	6,0	5,3	6,2	6,4	N.S.
Fe	77,6	63,6	40,0	36,3	30,5	$y=31+47,9\exp(-x/8,7)$ R <sup>2</sup> =0,95**
Mn	25,0	24,7	27,1	26,4	26,0	N.S.
Zn	37,9	39,4	34,7	32,8	31,0	$y=37,91-0,154x$ R <sup>2</sup> =0,80
<i>Nicotiana tabacum</i>						
	-----g kg <sup>-1</sup> -----					
P	1,7	2,6	2,6	4,4	6,1	$y=1,88+0,088x$ R <sup>2</sup> =0,98**
K	38,7	45,6	41,0	46,5	40,2	S.A.
Ca	13,8	16,7	15,1	22,4	27,3	$y=14,15+0,27x$ R <sup>2</sup> =0,95**
Mg	3,9	3,8	3,2	4,2	5,0	$y=3,94+0,07x-0,34x^{0,5}$ R <sup>2</sup> =0,86*
S	3,6	5,2	6,2	10,4	13,5	$y=3,5+0,34x-0,0027x^2$ R <sup>2</sup> =0,99*
	-----mg kg <sup>-1</sup> -----					
Cu	9,4	12,6	13,6	19,2	21,3	$y=9,50+0,53x-0,006x^2$ R <sup>2</sup> =0,99*
Fe	57,4	67,8	61,2	70,0	93,0	$y=58,16+0,65x$ R <sup>2</sup> =0,90**
Mn	76,3	103,0	85,5	90,8	101,3	S.A.
Zn	63,8	80,6	82,2	93,0	98,8	$y=64,1-0,36x+7,48x^{0,5}$ R <sup>2</sup> =0,99*

N.S. = não significativo; S.A. = sem ajuste, \* significativo a 5%; \*\* significativo a 1%.

O aumento nas concentrações de nutrientes em *Nicotiana tabacum*

ocorreu provavelmente devido à redução no crescimento, causando o efeito de concentração. Esse fato pode ser confirmado pela correlação positiva entre as concentrações de Cd na parte aérea e a concentração de todos os nutrientes (P, K, Ca, Mg, S, Cu e Fe), exceto o Mn (Tabela 4).

Por outro lado, o aumento da concentração de Cd na parte aérea das plantas de *Alternanthera* sp. correlacionou-se negativamente com a concentração de Ca, Fe e Zn na parte aérea (Tabela 4). Desta forma, com o aumento da concentração de Cd, a concentração de Ca, Fe e Zn diminuiu, demonstrando que esses nutrientes possuem um comportamento antagônico com o Cd. A correlação negativa entre Cd e Zn corrobora resultados encontrados em outros estudos (Smith & Brennan, 1983; Cataldo et al., 1983; Vasiliadou & Dordas, 2009).

TABELA 4 Correlação de Pearson entre concentrações de cádmio e nutrientes da matéria seca da parte aérea de plantas de *Alternanthera* sp. e *Nicotiana tabacum* expostas a concentrações crescentes de Cd. (n=20 amostras)

Nutrientes na Parte Aérea	Cádmio na Parte Aérea	
	<i>Alternanthera</i> sp.	<i>Nicotiana tabacum</i>
P	-0,39 <sup>NS</sup>	0,91 <sup>**</sup>
K	-0,14 <sup>NS</sup>	0,14 <sup>NS</sup>
Ca	-0,70 <sup>**</sup>	0,94 <sup>**</sup>
Mg	-0,06 <sup>NS</sup>	0,56 <sup>**</sup>
S	0,37 <sup>NS</sup>	0,96 <sup>**</sup>
Cu	0,31 <sup>NS</sup>	0,93 <sup>**</sup>
Fe	-0,69 <sup>**</sup>	0,79 <sup>**</sup>
Mn	0,14 <sup>NS</sup>	0,38 <sup>NS</sup>
Zn	-0,56 <sup>*</sup>	0,76 <sup>**</sup>

N.S. = não significativo; \* significativo a 5%; \*\* significativo a 1%.



### 5.6 Microscopia eletrônica de varredura com Espectrometria de Energia Dispersiva (EDS)

A observação da folha de *Alternanthera* sp. exposta à maior concentração de Cd ( $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) revelou a presença de uma grande quantidade de cristais (Figura 6), que não foram observados na folha da planta controle. No entanto, o espectro de MEV/EDS da amostra não revelou ser um cristal composto por Cd (Figura 7). Os resultados demonstram que os cristais podem ser compostos orgânicos de cálcio, por exemplo, oxalato de cálcio, pois, o espectro do EDS mostrou picos de carbono, oxigênio e cálcio. Já os picos de ósmio (Os) apresentados estão relacionados à solução fixadora de tetróxido de ósmio que foi utilizada. As amostras das raízes não apresentaram modificações visíveis quando expostas a concentrações crescentes de Cd na solução. Provavelmente, devido ao curto período de exposição da planta ao Cd, somente 10 dias, não foi possível a identificação desse elemento em estruturas de folhas e raízes.

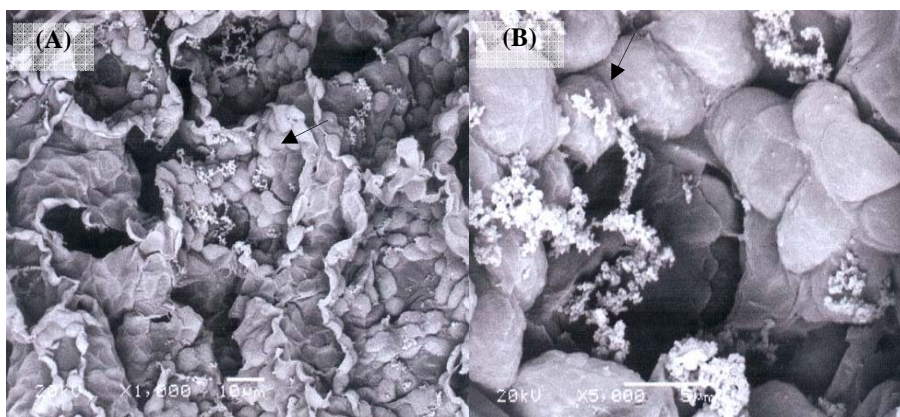


FIGURA 6 Micrografia de folha de *Alternanthera* sp. após 10 dias de exposição a  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Cd em solução nutritiva. (A) ampliada 1000 vezes; (B) ampliada 5000 vezes.

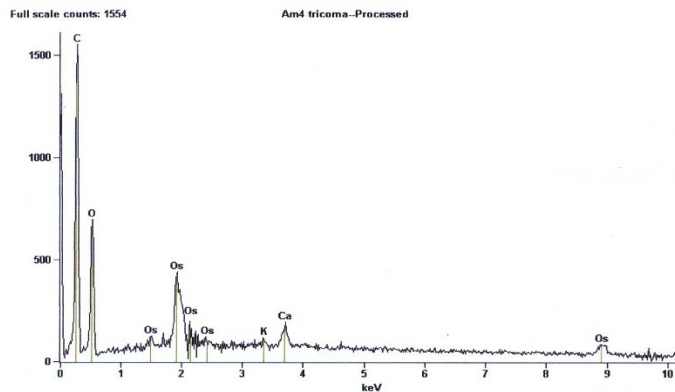


FIGURA 7 Espectro de MEV/EDS da amostra de folha de *Alternanthera* sp. demonstrando que não foi detectada a presença de Cd nos cristais.

Sóliz-Dominguez et al. (2007), observando tecidos de raízes e folhas de *E. polystachia*, em microscopia de transmissão, após 52 dias de exposição ao Cd, encontraram a presença desse elemento em vacúolos na concentração 100 mg L<sup>-1</sup>. Também foi observada a presença de Cd no xilema, indicando o transporte das raízes para as folhas.

Portanto, outros estudos com microscopia devem ser realizados visando à observação da presença de Cd no xilema e vacúolo em *Alternanthera* sp., após um maior período de exposição da planta a este elemento.

Pode-se afirmar que *Alternanthera* sp. foi uma importante descoberta para ser usada como planta modelo para estudos de mecanismos de hiperacumulação e destoxificação de Cd em plantas superiores de clima tropical. Embora essa planta possa ser adicionada à lista das hiperacumuladoras, será necessário estudo sobre os mecanismos envolvidos na hiperacumulação de Cd e ensaio para conhecer o seu desempenho *in situ*.

## 6 CONCLUSÃO

A *Alternanthera* sp. é hiperacumuladora de Cd e pode ser utilizada em programas de fitorremediação para estabilizar áreas contaminadas com altas concentrações desse elemento.

O Cd induziu modificações anatômicas na folha de *Alternanthera* sp. caracterizadas pela presença de cristais.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ALKORTA, I.; HERNÁNDEZ-ALLICA, J.; BECERRIL, J. M.; AMEZAGA, I.; ALBIZU, I.; GARBISU, C. Recent findings on the phytoremediation of soils contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc, cadmium, lead, and arsenic. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, Netherlands, v. 3, n. 1, p. 71-90, Mar. 2004.

BAKER, A. J. M. Accumulators and excluders: strategies in the response of plants to heavy metals. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 3, n.1/4, p. 643-654, 1981.

BAKER, A. J. M. Metal tolerance. **New Phytologist**, Cambridge, v. 106, n. 1, p. 93-111, May 1987.

BAKER, A. J. M.; MCGRATH, S. P.; REEVES, R. D.; SMITH, J. A. C. Metal hyperaccumulator plants: a review of the ecology and physiology of a biochemical resource for phytoremediation of metal polluted soils. In: TERRY, N.; BAÑUELOS, G. (Ed.). **Phytoremediation of contaminated soil and water**. Boca Raton: Lewis, 2000. p. 85-107.

BAKER, A. J. M.; WHITING, S. N. In search of the holy grail - a further step in understanding metal hyperaccumulation? **New Phytologist**, Cambridge, v. 155, n. 1, p. 1-4, July 2002.

BAKER, A. M. J.; BROOKS, R. R. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements: a review of their distribution, ecology and phytochemistry. **Biorecovery**, Great Britain, v. 1, n. 2, p. 81-126, 1989.

BALSBERG-PAHLSSON, A. M. Toxicity of heavy metals (Zn, Cu, Cd, Pb) to vascular plants. **Water Air & Soil Pollution**, Dordrecht, v. 47, n. 3/4, p. 287-319, Oct. 1989.

BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C. Plant water relations as affected by heavy metal stress: a review. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 13, n. 1, p. 1-37, Jan. 1990.

BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C. Respuestas de las plantas a la contaminación por metales pesados. **Suelo y Planta**, Madrid, v. 2, n. 2, p. 345-361, 1992.

BERGMANN, W. **Nutritional disorders of plants: development, visual and analytical diagnosis**. New York: Gustav Fisher, 1992. 741 p.

BERT, V.; MEERTS, P.; SAUMITOU-LAPRADE, P.; SALIS, P.; GRUBER, W.; VERBRUGGEN, N. Genetic basis of Cd tolerance and hyperaccumulation in *Arabidopsis halleri*. **Plant and Soil**, The Hague, v. 249, n. 1, p. 9-18, Feb. 2003.

BRANQUINHO, C.; SERRANO, H. C.; PINTO, M. J.; MARTINS-LOUÇÃO, M. A. Revisiting the plant hyperaccumulation criteria to rare plants and earth abundant elements. **Environmental Pollution**, Barking, v. 146, n. 2, p. 437-443, Mar. 2007.

BROOKS, R. R. **Plants that hyperaccumulate heavy metals: their role in phytoremediation, microbiology, archaeology, mineral exploration and phytomining**. Cambridge: CAB Internacional, 1998. 380 p.

BROWN, S. L.; CHANEY, R. J.; ANGLE, J. S.; BAKER, A. J. M. Phytoremediation potential of *Thlaspi caerulescens* and *Bladder campion* for zinc and cadmium contaminated soils. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 23, n. 6, p. 1151-1157, Nov./Dec. 1994.

CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Comportamento de espécies herbáceas em misturas de solo com diferentes graus de contaminação com metais pesados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 11, p. 1629-1638, nov. 2002.

CARRILO-GONZÁLEZ, R.; GONZÁLEZ-CHAVEZ, M. C. A. Metal accumulation in wild plants surrounding mining wastes. **Environmental Pollution**, Barking, v. 144, n. 1, p. 84-92, Nov. 2006.

CATALDO, D. A.; GARLAND, T. R.; WILDUNG, R. E. Cadmium uptake kinetics in intact soybean plants. **Plant Physiology**, Washington, v. 73, n. 3, p. 844-848, Nov. 1983.

CHEN, Z. S.; LEE, D. Y. Evaluation of remediation techniques on two cadmium-polluted soils in Taiwan. In: ISKANDAR, I. K.; ADRIANO, D. C. (Ed.). **Remediation of soils contaminated with metals**. Northwood: Science Reviews, 1997. p. 209-223.

CLARK, R. B. Characterization of phosphates in intact maize roots. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 23, n. 3, p. 458-460, May/June 1975.

CUNNINGHAM, S. D.; OW, D. W. Promises and prospects of phytoremediation. **Plant Physiology**, Washington, v. 110, n. 3, p. 715-719, Mar. 1996.

CUNNINGHAM, S. D.; SHAN, J. R.; CROWLEY, J. R.; ANDERSON, T. Phytoremediation of contaminated water and soil. In: KRUEGER, E. L.; ANDERSON, T. A.; COATS, J. R. (Ed.). **Phytoremediation of soil and water contaminants**. Washington: American Chemical Society, 1997. chap. 1, p. 2-17.

DAHMANI-MULLER, H.; OORT, F. van; BALABANE, M. Metal extraction by *Arabidopsis halleri* on an unpolluted soil amended with various metal-bearing solids: a pot experiment. **Environmental Pollution**, Barking, v. 114, n. 1, p. 77-84, Aug. 2001.

DAHMANI-MULLER, H.; OORT, F. van; GÉLIE, B.; BALABANE, M. Strategies of heavy metal uptake by three plant species growing near a metal smelter. **New Phytologist**, Cambridge, v. 109, n. 2, p. 231-238, Aug. 2000.

DI TOPPI, L. S.; GABBRIELLI, R. Response to cadmium in higher plants: review. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 41, n. 2, p. 105-130, Apr. 1999.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: Ministério da Agricultura e Abastecimento, 1999. 370 p.

ENSLEY, B. D. Rationale for use of phytoremediation. In: RASKIN, I.; ENSLEY, B. D. (Ed.). **Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment**. New York: J. Wiley, 2000. p. 3-11.

GARBISU, C.; ALKORTA, I. Phytoextraction: a cost effective plant-based technology for the removal of metals from the environment. **Bioresource Technology**, Essex, v. 77, n. 3, p. 229-236, May 2001.

GHOSH, M.; SINGH, S. P. A comparative study of cadmium phytoextraction by accumulator and weed species. **Environmental Pollution**, Barking, v. 133, n. 2, p. 365-371, Jan. 2005.

GISBERT, C.; ALMELA, C.; VÉLEZ, D.; LÓPEZ-MOYA, J. R.; HARO, A.; SERRANO, R.; MONTORO, R.; NAVARRO-AVIÑÓ, J. Identification of as accumulation plant species growing on highly contaminated soils. **International Journal of Phytoremediation**, London, v. 10, n. 3, p. 185-196, May/June 2008.

GONZÁLEZ, R. C.; GONZÁLEZ-CHÁVEZ, M. C. A. Metal accumulation in wild plants surrounding mining wastes. **Environmental Pollution**, Barking, v. 144, n. 1, p. 84-92, Nov. 2006.

GUSTAFFSON, J. P. **Visual Minteq ver.2.53, KTH**. Stockholm: Department of Land and Water Resources Engineering, 2007. Disponível em: <<http://www.lwr.kth.se/English/OurSoftware/vminteq/>>. Acesso em: 10 fev. 2008.

HAAG-KERWER, A.; SCHAFFER, H. J.; HEISS, S.; WALTER, C.; RAUSH, T. Cadmium exposure in *Brassica juncea* causes a decline in transpiration rate and leaf expansion without effect on photosynthesis. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 50, n. 341, p. 1827-1835, Dec. 1999.

HENRY, J. R. **An overview of the phytoremediation of lead and mercury**. Washington: EPA, 2000. 51 p. Disponível em: <<http://www.clu-in.gov/>>. Acesso em: 25 jul. 2008.

JANKONG, P.; VISOOTIVISETH, P.; KHOKIATTIWONG, S. Enhanced phytoremediation of arsenic contaminated land. **Chemosphere**, Oxford, v. 68, n. 10, p. 1906-1912, Aug. 2007.

KABATA-PENDIAS, A.; MUKHERJEE, A. B. **Trace elements from soil to human**. New York: Springer-Verlag, 2007. 550 p.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. 3. ed. Boca Raton: CRC, 2001. 413 p.

KELLER, C.; HAMMER, D.; KAYSER, A.; RICHNER, W.; BRODBECK, M.; SENNHAUSER, M. Root development and heavy metal phytoextraction efficiency: comparison of different plant species in the field. **Plant and Soil**, The Hague, v. 249, n. 1, p. 67-81, Feb. 2003.

KIRKHAM, M. B. Cadmium in plants on polluted soils: effects of soil factors hyperaccumulation, and amendments. **Geoderma**, Amsterdam, v. 137, n. 1/2, p. 19-32, Dec. 2006.

LASAT, M. M. Phytoextraction of toxic metals: a review of biological mechanisms. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 31, n. 1, p. 109-120, Jan. 2002.

LEHMANN, C.; REBELE, F. Assessing the potential for cadmium phytoremediation with *Calamagrostis epigejos*: a pot experiment. **International Journal of Phytoremediation**, London, v. 6, n. 2, p. 169-183, Apr. 2004.

LIU, J.; CAI, G.; QIAN, M.; WANG, D.; XU, J.; YANG, J.; ZHU, Q. Effect of Cd on the growth, dry matter accumulation and grain yield of different rice cultivars. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 87, n. 6, p. 1088-1095, Apr. 2007.

LOMBI, E.; ZHAO, F. J.; DUNHAM, S. J.; MCGRATH, S. P. Phytoremediation of heavy metal-contaminated soils: natural hyperaccumulation versus chemically enhanced phytoextraction. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 30, n. 6, p. 1919-1926, Dec. 2001.

LUBBEN, S.; SAUERBECK, D. The uptake and distribution of heavy-metals by spring wheat. **Water Air & Soil Pollution**, Dordrecht, v. 57, n. 1, p. 239-247, Aug. 1991.

LUGON-MOULIN, N.; ZHANG, M.; GADANI, F.; ROSSI, L.; KOLLER D.; KRAUSS, M.; WANGER, G. J. Critical review of the science and options for reducing cadmium in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) and other plants. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 83, p. 111-180, 2004.



- MARCHIOL, L.; ASSOLARI, S.; SACCO, P.; ZERBI, G. Phytoextraction of heavy metals by canola (*Brassica napus*) and radish (*Raphanus sativus*) grown on multicontaminated soil. **Environmental Pollution**, Barking, v. 132, n. 1, p. 21-27, Nov. 2004.
- NASCIMENTO, C. W. A.; XING, B. Phytoextraction: a review on enhanced metal availability and plant accumulation. **Science Agricola**, Piracicaba, v. 63, n. 3, p. 299-311, maio/jun. 2006.
- NISHIZONO, H.; KUBOTA, K.; SUZUKI, S.; ISHII, F. Accumulation of heavy metals in cell walls of *Polygonum cuspidatum* roots from metalliferous habitats. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v. 30, n. 4, p. 595-598, June 1989.
- OBATA, H.; UMEBAYASHI, M. Production of SH compounds in higher-plants of different tolerance to Cd. **Plant and Soil**, The Hague, v. 156, n. 1, p. 533-536, Oct. 1993.
- PHAENARK, C.; POKETHITIYOOK, P.; KRUATRACHUE, M.; NGERNSANSARUAY, C. Cd and Zn accumulation in plants from the Padaeng Zinc Mine area. **International Journal of Phytoremediation**, London, v. 11, n. 5, p. 479-495, July 2009.
- POLLE, A.; SCHÜTZENDÜBEL, A. Heavy metal signalling in plants: linking cellular and organismic responses. In: HIRT, H.; SHINOZAKI, K. (Ed.). **Plant responses to abiotic stress**. Berlin: Springer-Verlag, 2003. p. 187-215.
- SALIDO, A. L.; HASTY, K. L.; LIM, J.; BUTCHER, D. J. Phytoremediation of arsenic and lead in contaminated soil using chinese brake ferns (*Pteris vittata*) and Indian Mustard (*Brassica juncea*). **International Journal of Phytoremediation**, London, v. 5, n. 2, p. 89-103, Apr. 2003.
- SALT, D. E.; SMITH, R. D.; RASKIN, I. Phytoremediation. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 49, p. 643-668, June 1998.
- SANDALIO, L. M.; DALURZO, H. C.; GOMEZ, M.; ROMERO-PUERTAS, M. C.; DEL RIO, L. A. Cadmium induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 52, n. 364, p. 2115-2126, Nov. 2001.

SANTOS, F. S.; AMARAL SOBRINHO, N. M. B.; MAZUR, N. Mecanismos de tolerância de plantas a metais pesados. In: FERNANDES, M. S. **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 419-432.

SCHAT, H.; TEN BOOKUM, W. M. Genetic control of copper tolerance in *Silene vulgaris*. **Heredity**, London, v. 68, p. 219-229, 1992.

SCHRÖDER, P.; HERZIG, R.; BOJINOV, B.; RUTTENS, A.; NEHNEVAJOVA, E.; STAMATIADIS, S.; MEMON, A.; VASSILEV, A.; CAVIEZEL, M.; VANGRONSVELD, J. Bioenergy to save the world - producing novel energy plants for growth on abandoned land. **Environmental Science and Pollution Research**, Landsburg, v. 15, n. 3, p. 196-204, May 2008.

SHEN, Z. G.; LIU, Y. L. Progress in the study on the plants that hyperaccumulate heavy metal. **Plant Physiology Communications**, Shanghai, v. 34, n. 2, p. 133-139, 1998.

SHI, G.; CAI, Q. Cadmium tolerance and accumulation in eight potential energy crops. **Biotechnology Advances**, New York, v. 27, n. 5, p. 555-561, Sept./Oct. 2009.

SMITH, G. C.; BRENNAN, E. G. Cadmium-zinc interrelationships in tomato plants. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 73, n. 6, p. 879-882, June 1983.

SOARES, C. R. F. S.; SIQUEIRA, J. O.; GUEDES, J. C.; MOREIRA, F. M. S. Fitotoxicidez de cádmio para *Eucalyptus maculata* e *E. urophylla* em solução nutritiva. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 29, n. 2, p. 175-183, mar. 2005.

SÓLIS-DOMINGUÉZ, F. A.; GONZÁLEZ-CHÁVEZ, M. C.; CARRILO-GONZÁLEZ, R.; RODRIGUÉZ-VÁZQUEZ, R. Accumulation and localization of cadmium in *Equinochloa polystachya* grown within a hydroponic system. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 141, n. 3, p. 630-636, Mar. 2007.

SRIVASTANA, M.; MA, L. Q.; SANTOS, J. A. G. Three new arsenic hyperaccumulating ferns. **Science of the total environment**, Amsterdam, v. 364, n. 1/3, p. 24-31, July 2000.

STOLTZ, E.; GREGER, M. Accumulation properties of As, Cd, Cu, Pb and Zn by four wetland plant species growing on submerged mine tailings. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 47, n. 3, p. 271-280, May 2002.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Test methods for evaluating soil waste, physical/chemical methods SW-846**. 3. ed. Washington, 1995. Disponível em: <<http://www.epa.gov/SW-846/3051a.pdf>>. Acesso em: 1 ago. 2008.

VASILIADOU, S.; DORDAS, C. Increased concentration of soil cadmium affects on plant growth, dry matter accumulation, Cd and Zn uptake of different tobacco cultivars (*Nicotiana tabacum* L.). **International Journal of Phytoremediation**, London, v. 11, n. 2, p. 115-130, Feb. 2009.

VASSILEV, A.; VANGRONSVELD, J.; YORDANOV, I. Cadmium phytoextraction: present state, biological backgrounds and research needs. Reviews. **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, Sofia, v. 28, n. 3/4, p. 68-95, 2002.

VERKLEIJ, J. A. C.; PRAST, J. E. Cadmium tolerance and co-tolerance in *Silene vulgaris* (Moench.) Garcke [= *S. cucubalus* (L.) Wib.]. **New Phytologist**, Cambridge, v. 111, n. 4, p. 637-645, Apr. 1989.

WANG, H. B.; WONG, M. H.; LAN, C. Y.; BAKER, A. J. M.; QIN, Y. R.; SHU, W. S.; CHEN, G. Z.; YE, Z. H. Uptake and accumulation of arsenic by 11 *Pteris* taxa from southern China. **Environmental Pollution**, Barking, v. 145, n. 1, p. 225-233, Jan. 2007.

WATANABE, M. E. Phytoremediation on the brink of commercialization. **Environmental Science & Technology**, Easton, v. 31, n. 4, p. 182A-186A, Apr. 1997.

WEI, C. Y.; CHEN, T. B. Arsenic accumulation by two brake ferns growing on an arsenic mine and their potential in phytoremediation. **Chemosphere**, Oxford, v. 63, n. 6, p. 1048-1053, May 2006.

WEI, C. Y.; SUN, X.; WANG, W. Y. Factors influencing arsenic accumulation by *Pteris vittata*: a comparative field study at two sites. **Environmental Pollution**, Barking, v. 141, n. 3, p. 488-493, June 2006.

WEI, L.; SHU, W.; LAN, C. *Viola baoshanensis*, a plant that hyperaccumulates cadmium. **Chinese Science Bulletin**, Beijing, v. 49, n. 1, p. 29-32, Jan. 2004.

WEI, S. H.; ZHOU, Q. X.; WANG, X.; ZHANG, K. S.; GUO, G. L.; MA, L. A newly-discovered Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. **Chinese Science Bulletin**, Beijing, v. 50, n. 1, p. 33-38, Jan. 2005.

XU, L.; ZHOU, S.; WU, L.; LI, N.; CUI, L.; LUO, Y.; CHRISTIE, P. Cd and Zn tolerance and accumulation by *Sedum Jinianum* in east China. **International Journal of Phytoremediation**, London, v. 11, n. 3, p. 283-295, Mar. 2009.

YOON, J.; CAO, X.; ZHOU, O.; MA, L. Q. Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 368, n. 2/3, p. 456-464, Sept. 2006.

### **CAPÍTULO 3**

#### **FITOTOXICIDADE E POTENCIAL FITORREMEDIADOR DE ZINCO POR AMARANTHACEAE**

## 1 RESUMO

O zinco (Zn) é um micronutriente essencial para o crescimento normal das plantas. No entanto, em altas concentrações pode induzir fitotoxidez e retardar o crescimento das plantas. Este trabalho objetivou avaliar a fitotoxidez de Zn para a *Alternanthera* sp. em relação a *Nicotiana tabacum* como espécie indicadora (controle) e, avaliar o potencial fitoextrator de Zn da *Alternanthera* sp. e *Nicotiana tabacum* expostas a concentrações crescentes deste elemento em solução nutritiva. Dois experimentos independentes foram realizados em delineamento inteiramente casualizado, sendo os tratamentos constituídos de cinco doses crescentes de Zn (2; 50; 100; 200 e 300  $\mu\text{mol L}^{-1}$  fornecido como  $\text{ZnSO}_4$ ) e quatro repetições. Após 42 dias, as plantas foram colhidas e a produção de matéria seca da parte aérea e raízes, assim como a concentração de Zn e nutrientes foram mensuradas. Os resultados mostraram que o aumento da concentração de Zn na solução nutritiva não afetou a produção de matéria seca da parte aérea e raízes quando a planta testada foi *Alternanthera* sp., mas causou um decréscimo na produção de biomassa da parte aérea e raízes a partir de 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de *Nicotiana tabacum* além da manifestação de em sintomas severos de toxidez na mais alta concentração de Zn. As concentrações de Zn testadas afetaram a acumulação de nutrientes por *Nicotiana tabacum* e *Alternanthera* sp.. A proporção da concentração de Zn da parte aérea pela concentração de Zn na raiz foi menor que 1 em *Alternanthera* sp. e em *Nicotiana tabacum* em todos os tratamentos. O resultado indica que *Alternanthera* sp. é uma planta indicadora de Zn e pode ser usada em programas de fitorremediação.

## 2 ABSTRACT

Zinc (Zn) is an essential micronutrient for normal plant growth. However, in high concentrations, it could cause toxicity-induced symptoms and slow the plant growth. This study aimed at assessing the Cd phytotoxicity for *Alternanthera* sp. for *Nicotiana tabacum* as an indicator species (control), and it aimed at assessing the Zn phytoextraction potential by *Alternanthera* sp. and *Nicotiana tabacum* exposed to increasing concentration of this element in nutrient solution. Two independent experiments were carried out in a completely randomized design. The treatments consisted of five increasing doses of Zn (2; 50; 100; 200 e 300  $\mu\text{mol L}^{-1}$  supplied as  $\text{ZnSO}_4$ ) and four replications. Upon 42 days, the shoot and the root system were collected, then obtaining the dry matter in addition to measuring the nutrients and the Zn concentration. The results showed that an increase of Zn concentration in nutrient solution did not affect the dry matter production of the shoot and root systems when the tested plant was *Alternanthera* sp, but caused a production decrease in the shoot and root biomass of *Nicotiana tabacum*, when Zn solution concentration was  $> 100 \mu\text{mol L}^{-1}$ , in addition to signs of severe toxicity symptoms at the highest concentration of Zn in solution. . The tests with Zn concentrations affected the accumulation of nutrients by *Nicotiana tabacum* and *Alternanthera* sp. The Zn concentration ratio in the shoot and root systems was smaller than 1 for *Alternanthera* sp. and for *Nicotiana tabacum* in all treatments. The result shows that the *Alternanthera* sp. is a Zn indicator plant and can be used in phytoremediation programs.

### 3 INTRODUÇÃO

O aumento das atividades industriais e de mineração, aliados ao uso inadequado de fertilizantes e pesticidas no solo têm contribuído para a contaminação do solo, cursos de água e lençol freático por metais pesados (Zeitouni et al., 2007).

O zinco (Zn) é um micronutriente essencial para o crescimento normal das plantas. No entanto, em altas concentrações pode induzir fitotoxidez e retardar o crescimento das plantas (Marschner, 1995; Mendelsohn et al., 2001; Ait Ali et al., 2002).

Uma determinada área é considerada contaminada se, entre outros fatores, as concentrações de elementos ou substâncias de interesse ambiental estão acima de um dado limite denominado valor de intervenção. Acima desse limite, há um risco potencial de efeito deletério sobre a saúde humana, havendo necessidade de uma ação imediata na área (Zeitouni et al., 2007).

Os métodos correntes de remediação de solos incluem remoção, lavagem do solo e estabilização física que possuem como desvantagem o alto custo (Tu & Ma, 2002; Wei et al., 2005) e precisam ser substituídos por métodos com custos mais baixos e menos agressivos ao ambiente. Torna-se primordial o desenvolvimento de soluções tecnológicas que atendam à legislação ambiental (Zeitouni et al., 2007).

Dentro desse contexto, a fitorremediação é uma técnica emergente para descontaminação ambiental (Lindblom et al., 2006), de baixo custo e que gera o mínimo de perturbação ao solo quando comparada com outras técnicas (Henry, 2000). Consiste no uso de plantas e microbiota associada para remover, imobilizar ou tornar os contaminantes inofensivos ao ecossistema. Esta técnica apresenta inúmeras vantagens, dentre elas, a sua natureza permanente,



combinada aos baixos custos de manutenção, à proteção contra a erosão eólica e hídrica, à melhoria na estrutura do solo, ao aumento da fertilidade do solo e à recuperação da estética das áreas contaminadas (Raskin & Ensley, 2000; Accioly & Siqueira, 2000).

O sucesso na implementação da fitorremediação depende da identificação de plantas capazes de crescer em solo contaminado e de extrair grandes quantidades de metais (Yang et al., 2006). A fitorremediação prevê vários mecanismos de despoluição, sendo que para áreas contaminadas com metais pesados destaca-se a fitoestabilização e a fitoextração.

A fitoestabilização visa a reduzir o potencial de dano ao ambiente, pela redução da mobilidade e disponibilidade do contaminante no solo, sendo as plantas, neste caso, escolhidas por tolerar as condições da área, controlar a erosão e a lixiviação e evitar a translocação do contaminante para a parte aérea (Accioly & Siqueira, 2000).

A fitoextração consiste na absorção e acumulação de metais pesados na parte aérea de plantas (Santos et al., 2006). Nessa técnica, a planta ideal deve ser tolerante aos altos níveis de metal, acumular grandes quantidades na parte aérea, ter alta taxa de crescimento, produzir muita biomassa e ter sistema radicular abundante (Salt et al., 1998; Garbisu & Alkorta, 2001; Vassilev et al., 2002; Yang et al., 2002). A translocação do contaminante da raiz para a parte aérea facilita a retirada do contaminante e, no final do ciclo da planta, quando a parte aérea é colhida, esta poderá ser disposta em aterros sanitários ou utilizada como biocombustível (Kabata-Pendias & Pendias, 2001; Schröder et al., 2008) ou, ainda, ser reciclada para a recuperação do metal (Cunningham & Ow, 1996). No entanto, a reciclagem de Zn presente nas plantas, por enquanto, não tem sido economicamente viável, dadas as condições atuais de preço do Zn no mercado mundial (Vangrosveld et al., 2009).

Uma outra abordagem para plantas enriquecidas com Zn é a biofortificação, afinal o Zn é um nutriente essencial em seres humanos (Kabata-Pendias & Pendias, 2001) e aproximadamente 25% da população está deficiente (Maret & Sandstead, 2006), o que torna fácil visualizar que a fitoextração e a biofortificação de vegetais ocorrem simultaneamente em estudos de hiperacumulação de zinco (Guerinot & Salt, 2001; Roosens et al., 2008; Zhao & McGrath, 2009).

Mais de 400 espécies de hiperacumuladoras, distribuídas em 45 famílias, já foram identificadas, sendo que a grande maioria (318) é hiperacumuladora de níquel (Ni) e 18 são hiperacumuladoras de Zn (Baker & Brooks, 1989). O primeiro critério sugerido para classificação de uma planta hiperacumuladora de Zn é apresentar  $10.000 \text{ mg kg}^{-1}$  de Zn na matéria seca (Baker & Brooks, 1989). *Thlaspi caerulescens* e *Arabidopsis halleri* atendem esse critério e, portanto, são plantas identificadas como hiperacumuladoras de Zn (Brown et al., 1995; Bert et al., 2000). Longe et al. (2002) recentemente encontraram uma espécie de planta hiperacumuladora de Zn que produz muita biomassa, a *Sedum alfredii*, crescendo em área de mineração de zinco e chumbo no Leste da China. Na Tailândia, na mina de Zn Padaeng, Phaenark et al. (2009) encontraram *Justicia procumbens* com concentração de  $10.741 \text{ mg kg}^{-1}$  de Zn na parte aérea e puderam então classificá-la como uma hiperacumuladora.

No entanto, esse critério de classificação tem sido questionado por ser excessivamente restritivo, pois, o Zn é presente na maioria das plantas de solos enriquecidos em Zn na concentração de 50 a  $500 \text{ mg kg}^{-1}$ . Parece ser mais apropriado considerar níveis próximos a  $3.000 \text{ mg kg}^{-1}$  como sendo o necessário para uma espécie ser considerada hiperacumuladora (Reeves & Baker, 2000). Shen & Liu (1998) sugerem que plantas hiperacumuladoras devem ter a concentração de metais cerca 10 a 500 vezes maior que a concentração usualmente encontrada para as plantas, que no caso do Zn é de  $100 \text{ mg kg}^{-1}$ .

Conforme Reeves & Baker (2000), para ser usada em um programa de fitorremediação, deve-se ter interesse em qualquer espécie que possa acumular Zn na parte aérea em concentração próxima a  $3.000 \text{ mg kg}^{-1}$  e, particularmente, se ela for capaz de co-acumular outro metal tóxico (como Cd e Pb).

Importante fonte potencial de espécies hiperacumuladoras e tolerantes a metais, apropriadas para a fitorremediação, é a vegetação encontrada naturalmente em áreas contaminadas, pois essas plantas apresentam-se adaptadas ao ambiente estressante (Watanabe, 1997; Alkorta et al., 2004; Carrilo-González & González-Chavez, 2006; Gisbert et al., 2008). Um exemplo desta situação é o genótipo de uma planta encontrado em área de mineração de calamina (minério de zinco), identificado como do gênero *Pfaffia* (*Alternanthera*), conhecida vulgarmente por calaminaceae, o qual se mostrou bem adaptado às condições de multicontaminação por zinco, cobre, cádmio e chumbo em relação a outras espécies estudadas (Accioly & Siqueira, 2000). Carneiro et al. (2002), em estudo com a *Pfaffia* sp., constataram que a concentração de Zn na parte aérea aumentou linearmente com a contaminação, mas, não alcançou a concentração necessária para classificá-la como hiperacumuladora, embora acreditem que a hiperacumulação possa ocorrer em concentrações mais elevadas de Zn do que as concentrações estudadas.

Estudos básicos sobre fitotoxicidade dos elementos-traço e da tolerância das espécies aos estresses impostos pelo excesso destes são essenciais para o desenvolvimento de tecnologia para programas de fitorremediação. Conhecer os padrões de absorção, translocação e acúmulo de elementos-traço, os limites de tolerância e os sintomas de fitotoxidez das espécies com potencial para introdução em áreas contaminadas constitui-se de grande importância tanto sob o ponto de vista acadêmico quanto tecnológico (Huang & Cunningham, 1996). Com o intuito de facilitar o entendimento da absorção de elementos-traço em plantas acumuladoras e tolerantes, tem-se realizado experimentos em soluções

nutritivas, pois esse sistema tem sido uma ferramenta para determinar a eficiência de absorção e a tolerância de elementos-traço em espécies com potencial de fitorremediação (Marchiol et al., 2004).

Diante da importância da fitoextração como técnica remediadora para áreas contaminadas por elementos-traço, depreende-se, pois, da necessidade de estudos que relacionam a tolerância de espécies de clima tropical, desenvolvidas em níveis crescentes de contaminação, com os aspectos fisiológicos dessas plantas, para que possam ser efetivamente cultivadas como fitoextratoras nas áreas contaminadas no Brasil. Acredita-se que a espécie *Alternanthera* sp., herbácea comumente encontrada em área de mineração de zinco, possa ser utilizada em programas de fitorremediação de solos contaminados com Zn.

Este trabalho objetivou avaliar a fitotoxidez de Zn para a *Alternanthera* sp. em relação a *Nicotiana tabacum* como espécie indicadora (controle) e avaliar o potencial fitoextrator de Zn da *Alternanthera* sp. e *Nicotiana tabacum* expostas a concentrações crescentes deste elemento em solução nutritiva.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Obtenção das plantas

O local escolhido para a coleta de sementes de *Alternanthera* sp. foi a área de rejeito da Companhia Mineira de Metais (CMM), localizada na cidade de Vazante, noroeste do estado de Minas Gerais.

Inicialmente, foi realizado um teste com as sementes de *Alternanthera* sp., que foram colocadas para germinar em caixas gerbox com papel tipo CEL-065 umedecido e mantidas em germinadores com temperatura de 20 a 35 °C. À medida que germinavam, eram transferidas para bandejas de isopor contendo 200 células, com substrato comercial Plantmax. As plântulas foram mantidas em casa de vegetação climatizada até desenvolverem 6 folhas definitivas. Plantas com altura e idade semelhantes foram selecionadas, seu sistema radicular foi lavado em água destilada para a retirada do excesso de substrato e foram transferidas para vasos de 2 litros contendo solução nutritiva de Clark com 50% da força iônica original (solução de adaptação), sob aeração constante e pH ajustado para 5,5.

As sementes de fumo (*Nicotiana tabacum*) foram obtidas no Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Lavras e as mesmas foram semeadas em bandejas de isopor contendo 200 células, com substrato comercial Plantmax e irrigadas diariamente. Após a germinação, as plântulas foram mantidas em casa de vegetação climatizada até desenvolverem 4 folhas definitivas e, posteriormente, passaram por processo semelhante ao descrito para as plântulas de *Alternanthera* sp. O fumo foi utilizado como planta controle para facilitar a visualização da susceptibilidade a toxidez de Zn em relação à *Alternanthera* sp.

As plântulas de *Alternanthera* sp. e de *Nicotiana tabacum* permaneceram em solução de adaptação por 1 semana e, então, foram transferidas para solução de Clark com a força iônica original por mais 2 semanas, sob aeração constante e pH ajustado para 5,5. A solução nutritiva foi preparada conforme Clark (1975) com sais inorgânicos puros para análise e continha: 7,26 mmol L<sup>-1</sup> N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>; 0,90 mmol L<sup>-1</sup> N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>; 0,07 mmol L<sup>-1</sup> P; 1,80 mmol L<sup>-1</sup> K; 2,60 mmol L<sup>-1</sup> Ca; 0,60 mmol L<sup>-1</sup> Mg; 0,50 mmol L<sup>-1</sup> S; 7,0 μmol L<sup>-1</sup> Mn; 2 μmol L<sup>-1</sup> Zn; 0,5 μmol L<sup>-1</sup> Cu; 19 μmol L<sup>-1</sup> B; 0,60 μmol L<sup>-1</sup> Mo; e 38 μmol L<sup>-1</sup> Fe complexado com Na<sub>2</sub>-EDTA.

Para o preparo das soluções estoque e padrões foi utilizada água deionizada. Toda a vidraria utilizada foi lavada com solução de ácido clorídrico 30% (v/v) e, então, enxaguada três vezes em água destilada antes do uso.

Antes de serem expostas às concentrações mais altas de Zn, todas as raízes das plântulas foram pigmentadas, através da imersão em suspensão de água destilada e pó fino de carvão ativo e, posteriormente, enxaguadas em água destilada, conforme metodologia descrita por Schat & Ten Bookum (1992). Esse método permitiu a visualização do crescimento radicular, pois, inicialmente todo o sistema radicular estava escuro e toda a raiz formada após a exposição ao Zn apresentaria coloração clara.

#### **4.2 Condução experimental**

O estudo foi realizado em casa de vegetação do Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em cultivo hidropônico.

Ensaio independentes foram realizados para fitoextração de Cd por *Alternanthera* sp. e por *Nicotiana tabacum*. Os tratamentos foram constituídos de concentrações crescentes de Zn (2; 50; 100; 200 e 300 μmol L<sup>-1</sup> fornecido como ZnSO<sub>4</sub>), com quatro repetições, dispostas em delineamento inteiramente

casualizado, totalizando 20 parcelas para cada experimento. Os vasos utilizados apresentavam capacidade de 2 L e continham uma única planta.

Após três semanas de adaptação em solução nutritiva de Clark, as plantas foram expostas às concentrações de Zn. As soluções foram renovadas semanalmente e o pH mantido em 5,5 com adição de NaOH ou HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>, quando necessário o ajuste.

As plantas foram mantidas por um período de 42 dias em exposição ao Zn, período no qual foram observados a ocorrência de eventuais sintomas de toxidez e os efeitos no crescimento das plantas. Ao final do experimento, as plantas foram colhidas e parte aérea (folha e caule) e raízes foram separadas. A parte aérea foi lavada em água deionizada e as raízes foram imersas em solução de ácido clorídrico 10% (v/v) por um minuto e em seguida enxaguadas em água deionizada. Em seguida, ambas as partes foram secas em estufa em temperatura entre 65 e 75°C até atingir massa constante. O peso da matéria seca foi determinado em balança de precisão (0,01 g) que em seguida foi moída em moinho tipo Wiley equipado com peneira com malha de 0,38 mm, para ser analisada quimicamente.

#### **4.3 Análise de Zn e demais nutrientes na planta**

O material moído foi digerido segundo o método 3051 da United States Environmental Protection Agency - USEPA (1995), utilizando-se 0,5 g de material em 10 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado em forno de microondas com tubos de Teflon® PTFE à pressão 0,76 MPa por dez minutos. A temperatura alcançada à pressão de 0,76 MPa é de aproximadamente 175°C. Após a digestão, o extrato foi filtrado e seu volume completado até 20 mL com água destilada. A partir dos extratos, o teor de zinco, cálcio, magnésio, cobre, ferro e manganês foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica, usando equipamento Perkin Elmer AAnalyst 800® com atomizador tipo chama, o teor de potássio foi

determinado por fotometria de chama, o teor de fósforo por colorimetria e o teor de enxofre por turbidimetria (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, 1999). O controle e a garantia da qualidade dos resultados das análises de Cd e nutrientes foram assegurados pelo uso de material de referência *Tomato Leaves*, do NIST (SRM 1573a, National Institute of Standards and Technology – NIST) em cada bateria de análise, bem como de uma amostra em branco. Os resultados obtidos foram satisfatórios, com recuperação de 74% a 122%.

O acúmulo de zinco, ou fitoextração de Zn por planta, foi calculado através da multiplicação da matéria seca produzida na parte aérea pela concentração de Zn no tecido vegetal.

A especiação do zinco em solução nutritiva foi obtida através do programa Visual Minteq versão 2.53 (Gustaffson, 2007), objetivando verificar as principais formas de Zn em cada concentração estudada e sua disponibilidade.

#### **4.4 Cálculo do FB e FT**

A habilidade das plantas em tolerar e acumular elementos-traço é útil para a identificação de plantas com propósito de fitoextração e fitoestabilização. Esta habilidade pode ser mensurável através do fator de bioacumulação (FB) e do fator de translocação (FT), que são definidos como a concentração do elemento na planta em relação à concentração do elemento no solo e concentração do elemento na parte aérea em relação à concentração do elemento nas raízes, respectivamente. Como o experimento foi realizado em solução nutritiva utilizaram-se, para os cálculos, as concentrações dos elementos presentes em solução, conforme fórmulas abaixo:

$$FB = [Zn]_{\text{parte aérea}} / [Zn]_{\text{solução}} \text{ e } [Zn]_{\text{raiz}} / [Zn]_{\text{solução}}$$

$$FT = [Zn]_{\text{parte aérea}} / [Zn]_{\text{raízes}}$$



onde  $[Zn]_{\text{parte aérea}}$  e  $[Zn]_{\text{raízes}}$  representam a concentração do elemento na parte aérea e nas raízes ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ), respectivamente, enquanto  $[Zn]_{\text{solução}}$  é a concentração do elemento em solução nutritiva ( $\text{mg L}^{-1}$ ) (Lubben & Saueerbeck, 1991; Srivastana et al., 2000; Baker & Whiting, 2002; Wei & Chen, 2006; Wei et al., 2006; González & Gonzáles-Chavez, 2006; Yoon et al., 2006; Branquinho et al., 2007; Jankong et al., 2007; Wang et al., 2007).

#### **4.5 Análises estatísticas**

Os resultados da produção de matéria seca e as concentrações de Zn e demais nutrientes na parte aérea e raízes foram submetidos à análise de variância, por meio do uso do programa estatístico Sisvar. As equações de regressão foram escolhidas pelo melhor ajuste, através do programa Table Curve 2D for Windows v. 2.03 (Jandel Corporation). O coeficiente de correlação de Pearson foi utilizado para determinar relações significativas entre a concentração de Zn e cada nutriente (P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe e Mn) na parte aérea.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Produção de matéria seca

As plantas de *Alternanthera* sp. tiveram o crescimento aparentemente normal em todas as concentrações de Zn testadas. O aumento das concentrações de Zn não exerceu efeito significativo sobre a produção de matéria seca da parte aérea, das raízes e, conseqüentemente, da matéria seca total de *Alternanthera* sp. (Figura 1). Para Carneiro et al. (2002) a alta produção de raízes é uma característica importante quanto à fitoestabilização de áreas contaminadas, pois protege o solo da erosão, reduz a lixiviação, favorece a agregação e a atividade microbiana do solo.

Em *Nicotiana tabacum* houve um acréscimo na produção de biomassa da parte aérea e raiz à medida que aumentava a concentração de Zn na solução, até a concentração  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Zn. Da mesma forma, Yang et al. (2002) em estudo com a hiperacumuladora de Zn, *Sedum alfredii* Hance, observaram que a produção de biomassa da parte aérea e raiz foi maior à medida que aumentava a concentração de Zn, até a concentração  $80 \text{ mg L}^{-1}$  de Zn e que, a partir daí, houve um decréscimo. Nessa concentração, esses autores verificaram que a produção de matéria seca da parte aérea foi 57% superior àquela do tratamento controle, o que comprovou que *Sedum alfredii* Hance tinha um requerimento de zinco mais alto para o seu crescimento.

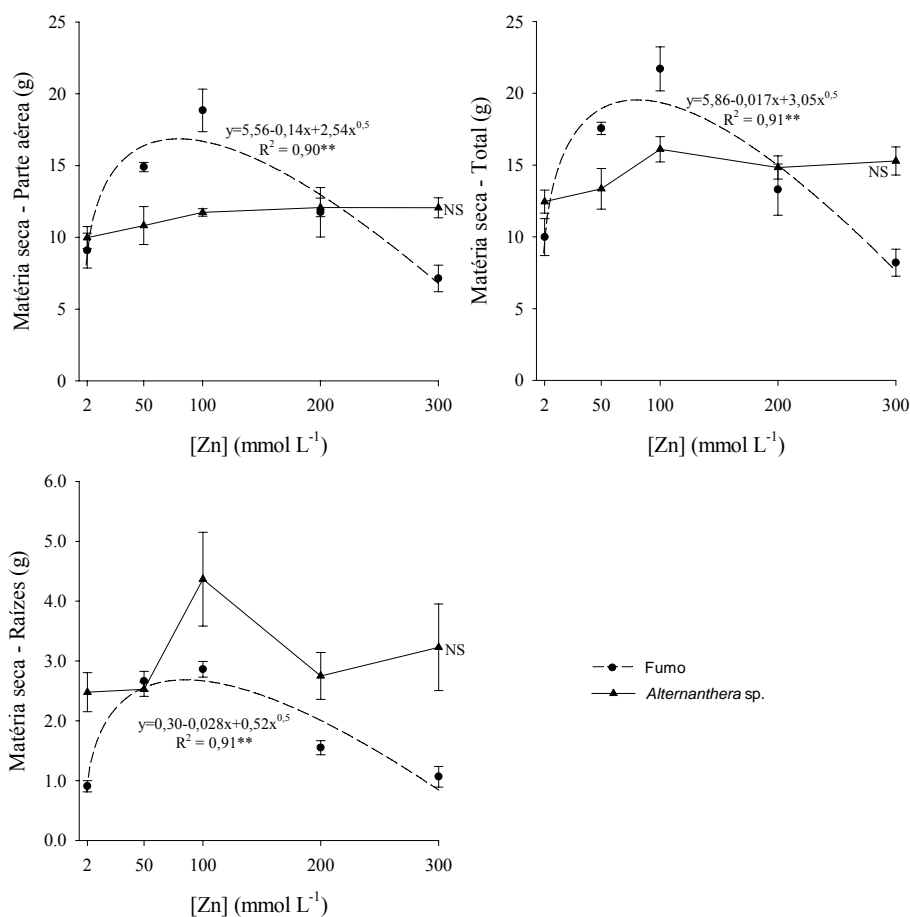


FIGURA 1 Produção de matéria seca da parte aérea, das raízes e produção total das espécies *Alternanthera* sp. e *Nicotiana tabacum* em função de concentrações crescentes de zinco em solução nutritiva. NS = não significativo.

Pode-se afirmar que, no tratamento controle, a concentração de Zn presente na solução nutritiva de Clark não foi suficiente para o desenvolvimento de *Nicotiana tabacum* e, portanto, a cultura foi responsiva a maiores concentrações de Zn. A média da produção de matéria seca na concentração 100

$\mu\text{mol L}^{-1}$  foi 100% superior à média encontrada no tratamento controle. No entanto, a partir da concentração  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Zn houve um decréscimo na produção de matéria seca. De maneira geral, os sintomas de toxidez de Zn em plantas são caracterizados por redução no crescimento (Barceló & Poschenrieder, 1992). Zeitouni et al. (2007) observaram que o desenvolvimento de *Nicotiana tabacum* foi afetado por multicontaminação do solo com Cd, Cu, Pb, Ni e Zn, mas, a produção de matéria seca da parte aérea não foi alterada.

O fato da *Alternanthera* sp. não ter sofrido redução na produção de matéria seca, mesmo nas concentrações mais elevadas, demonstra sua tolerância a esse nutriente, o que reafirma a hipótese de que as plantas tolerantes são endêmicas de solos poluídos e sugere significativa adaptação ecofisiológica, manifestando resistência à contaminação do solo com elementos-traço. Portanto, esta tolerância afirma o seu potencial para ser utilizada como espécie fitorremediadora em áreas com elevados teores de Zn.

## 5.2 Especiação de Zn na solução

Resultados da especiação de Zn na solução nutritiva de Clark na maior concentração ( $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) revelaram que 80,69% do Zn estava na forma  $\text{Zn}^{+2}$ , 12,41%  $\text{ZnEDTA}^{-2}$ , 4,64% como  $\text{ZnSO}_{4(\text{aq})}$ , 1,14% como  $\text{ZnHPO}_{4(\text{aq})}$ , 0,91% como  $\text{ZnNO}_3^+$ , 0,09% como  $\text{ZnCl}^+$ , 0,07% como  $\text{ZnHEDTA}^{-1}$ , 0,03 como  $\text{Zn}(\text{SO}_4)_2^{-2}$  e 0,02% como  $\text{ZnOH}^+$ . Isso evidencia que 100% do elemento estavam dissolvidos em solução para serem absorvidos pelas plantas.

## 5.3 Concentração e acúmulo de Zn nas plantas

Com o acréscimo de zinco na solução houve um acréscimo na concentração desse elemento nas plantas (Figura 2) e, em ambas, a concentração de Zn na parte aérea foi menor que a concentração nas raízes,  $[\text{Cd}]_{\text{parte aérea}} < [\text{Cd}]_{\text{raízes}}$ .

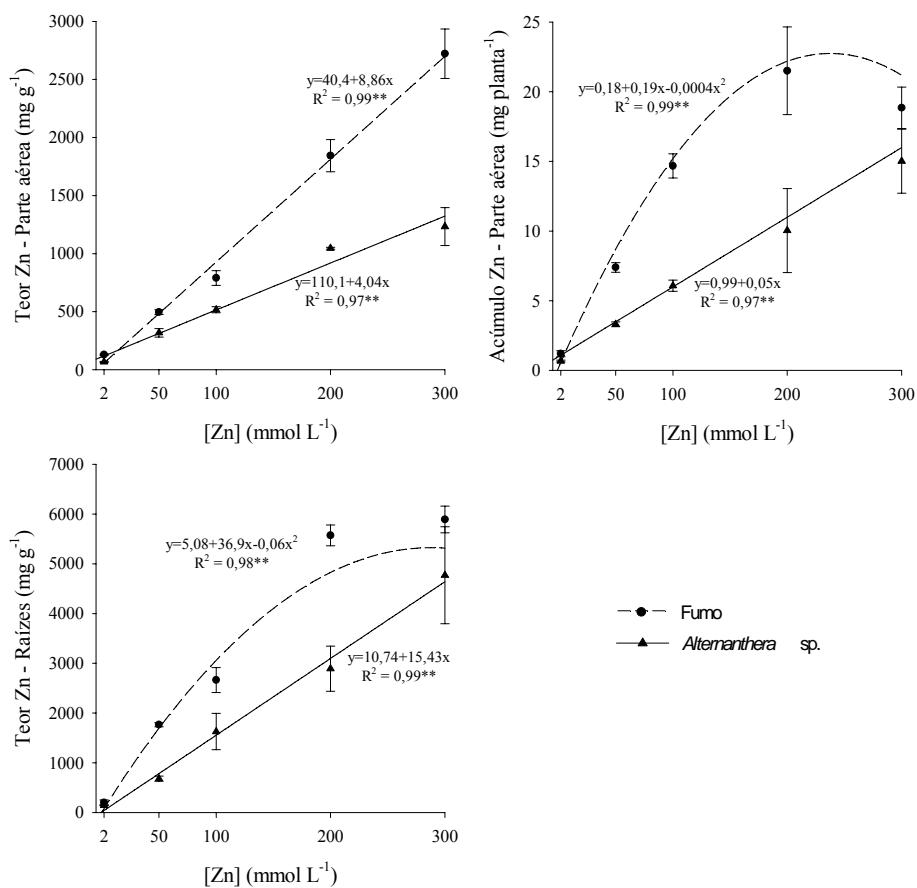


FIGURA 2 Concentração de Zn na parte aérea, nas raízes e acúmulo em plantas de *Alternanthera* sp. e *Nicotiana tabacum* em função de concentrações crescentes de cádmio em solução nutritiva. NS=não significativo.

Yang et al. (2006) encontraram concentrações mais altas de Zn na raiz que na parte aérea em ecótipos de *Sedum* não-hiperacumuladores, enquanto que em ecótipos hiperacumuladores, coletados em área de mineração, a concentração

da parte aérea foi maior que a da raiz, o que sugere o desenvolvimento de mecanismos de adaptação e translocação.

As concentrações de Zn na parte aérea e nas raízes de *Alternanthera* sp. aumentaram linearmente com o aumento da concentração de Zn na solução nutritiva. O valor estimado da  $[Zn]_{raízes}$  para a maior concentração de Zn na solução ( $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) foi  $4.639,74 \text{ mg kg}^{-1}$ , enquanto que  $[Zn]_{parte\ aérea}$  foi  $1.322,1 \text{ mg kg}^{-1}$ . Kabata-Pendias & Pendias (2001) indicam que o nível crítico de toxidez de Zn para as plantas é de 100 a  $400 \text{ mg kg}^{-1}$ . Assim, a *Alternanthera* sp. apresenta mecanismos metabólicos e fisiológicos que permitem a tolerância à concentrações elevadas de Zn em seus tecidos. E a retenção de Zn nas raízes de *Alternanthera* sp. também confirma a tolerância ao excesso de Zn, como verificado em outras espécies tolerantes (Marchiol et al., 1996; Schat & Verkleij, 1998).

Através da especiação da solução, Yang et al. (2006) constataram que nas maiores concentrações de Zn na solução nutritiva ( $1.000$  até  $5.000 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), a proporção de  $\text{ZnHPO}_4$  e  $\text{ZnSO}_4$  aumentou cinco vezes e talvez possa ter ocorrido precipitação de Zn com fosfato e sulfato dentro do apoplasto das raízes de *Sedum*, o que pode ter ocasionado uma maior concentração de Zn nas raízes em relação à parte aérea. Talvez, a precipitação de Zn no interior das raízes possa ter ocorrido no presente estudo, pois, através da especiação das soluções nutritivas constatou-se que na solução controle não houve formação de  $\text{ZnHPO}_4$  e baixa porcentagem de formação de  $\text{ZnSO}_4$  (0,01%), enquanto que na maior concentração de Zn ( $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) houve formação de  $\text{ZnHPO}_4$  (1,14%) e um aumento na formação de  $\text{ZnSO}_4$  (4,64%).

A concentração de Zn na parte aérea de *Alternanthera* sp., apesar de ser inferior à concentração encontrada na raiz, demonstra que essa espécie tem a capacidade de acumular Zn na parte aérea. No entanto, essa concentração não é a mínima necessária, que é  $10.000 \text{ mg kg}^{-1}$ , para classificá-la como

hiperacumuladora. Outros trabalhos demonstram que plantas hiperacumuladoras acumulam Zn em valores bem superiores aos encontrados nesse estudo. Por exemplo, a hiperacumuladora *Thlaspi caerulescens* pode acumular e tolerar mais de 40.000 mg kg<sup>-1</sup> de Zn na parte aérea (Brown et al., 1995). Já a *Arabidopsis halleri* tem crescimento normal em 1.000 µmol L<sup>-1</sup> de Zn em solução nutritiva, com acumulação de 32.000 mg kg<sup>-1</sup> de Zn na matéria seca da parte aérea (Küpper et al., 2000; Zhao et al., 2000). Outra hiperacumuladora de Zn, a *Sedum alfredii* Hance, apresentou 20.000 mg kg<sup>-1</sup> de Zn na parte aérea (Yang et al., 2002) e crescimento normal sem sintomas de toxidez em solução nutritiva com concentração até 1.000 µmol L<sup>-1</sup> de Zn (Yang et al., 2006).

Apesar de *Alternanthera* sp. apresentar baixa concentração de Zn na parte aérea em relação às hiperacumuladoras, vale ressaltar que quando as concentrações de Zn na maioria das plantas excedem 300 a 400 mg kg<sup>-1</sup> os efeitos tóxicos são esperados (Kabata-Pendias & Pendias, 2001). Considerando que não houve redução na produção de matéria seca e nem sintomas de toxidez em *Alternanthera* sp., mesmo com a concentração de Zn na parte aérea superior a 1.000 mg kg<sup>-1</sup> (Figura 1, 2, 3 e 4), pode-se afirmar que essa espécie possui mecanismo de tolerância ao Zn. A compartimentalização no vacúolo de células da epiderme das folhas é um dos mecanismos de tolerância ao Zn (Yang et al., 2006; Gustin et al., 2009). Dentro desse contexto, *Alternanthera* sp. pode ser usada como fitoextratora de Zn e o seu potencial em acumular Zn pode ser ainda mais alto do que o encontrado nesse estudo, para tanto sugere-se alterar as concentrações de Zn da solução, ou seja, seria interessante utilizar concentrações mais altas além de aumentar o tempo de exposição.



FIGURA 3 Plantas de *Alternanthera* sp. em solução contendo concentrações crescentes de Zn. Foto obtida no 42º dia após a exposição (os valores em cada vaso representam a concentração de Zn na solução em  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ).

Os resultados obtidos em *Nicotiana tabacum* foram bem diferentes. Essa espécie apresentou maior concentração de Zn nos tecidos vegetais quando comparada à *Alternanthera* sp.. A concentração de Zn na parte aérea aumentou linearmente com o aumento das concentrações de Zn na solução, embora tenha havido redução na produção de matéria seca a partir da concentração  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Zn, com sintomas visíveis de toxidez na maior concentração de Zn ( $300 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Zn), caracterizados por folhas verde mais claro e redução drástica do crescimento, principalmente das raízes (Figura 4 e 5). Desta forma, a maior concentração de Zn na parte aérea, nas maiores concentrações de Zn, pode ser em função do menor crescimento (efeito de concentração).



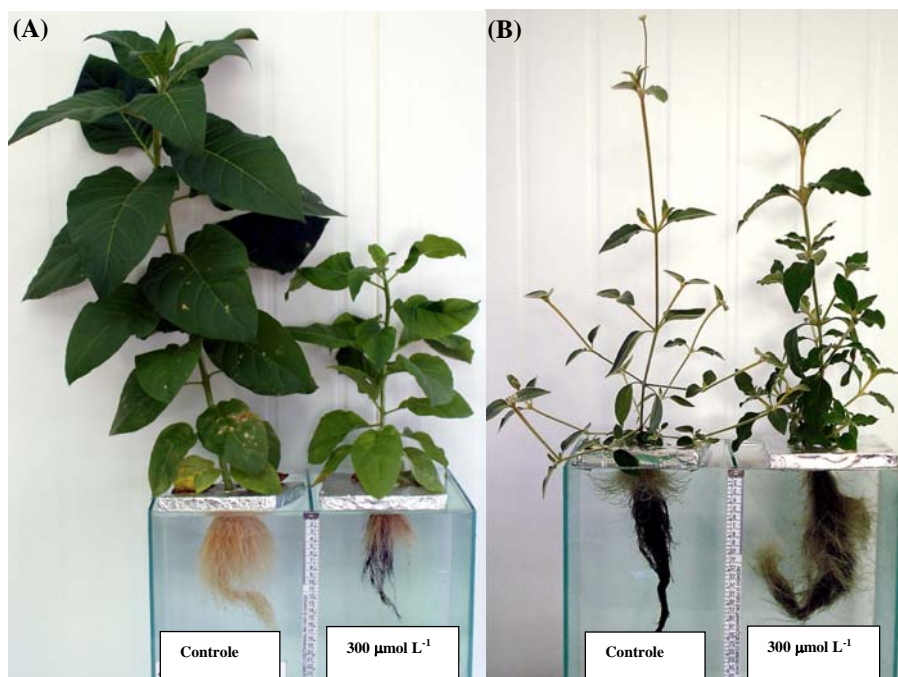


FIGURA 4 Crescimento da parte aérea e raízes de plantas de *Nicotiana tabacum* (A) e *Alternanthera* sp. (B) em solução nutritiva controle e com  $300 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Zn.

Sintomas de toxidez por Zn semelhantes foram encontrados por Yang et al. (2006) em ecótipos de *Sedum* e por Zeitouni et al. (2007) na cultura da mamona. De maneira geral, os sintomas de toxidez de Zn em plantas são caracterizados por redução no crescimento (Barceló & Poschenrieder, 1992) e clorose de folhas, semelhantemente à deficiência de Fe (Fontes & Cox, 1998). Para Breckle & Kahle (1992), a ocorrência de clorose pode estar relacionada com a deficiência múltipla de vários elementos que participam da formação, multiplicação e funcionamento de cloroplastos, ou na síntese de clorofila. Essa deficiência de nutrientes pode ser resultado da inibição competitiva que o Zn pode exercer na absorção de outros íons (Malavolta, 1994).



FIGURA 5 Plantas de *Nicotiana tabacum* em solução contendo concentrações crescentes de Zn. Foto obtida no 42º dia após a exposição (valores em cada vaso representam a concentração de Zn na solução em  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ).

O limite de toxidez de Zn para as plantas depende da espécie, do genótipo e do estágio de desenvolvimento. Plantas sensíveis podem morrer quando a concentração de Zn no solo exceder  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  e a fotossíntese pode ser interrompida quando o teor for maior que  $178 \text{ mg kg}^{-1}$  de Zn (Kabata-Pendias & Pendias, 2001). Pode-se afirmar que *Nicotiana tabacum* é uma espécie tolerante ao Zn, pois somente apresentou redução no crescimento quando a concentração interna de Zn na parte aérea foi de  $1.800 \text{ mg kg}^{-1}$ , obtida no tratamento com  $200 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Zn na solução e esse valor é bem superior ao normalmente tolerável pela maioria das plantas. Zeitouni et al. (2007) também encontraram altas concentrações de Zn ( $899 \text{ mg kg}^{-1}$ ) em *Nicotiana tabacum* sem exercer efeito tóxico e puderam concluir que dentre as espécies estudadas

*Nicotiana tabacum* foi a mais tolerante e eficiente em extrair Cd e Zn em solo multicontaminado.

O acúmulo de Zn refere-se ao total de Zn transportado para a parte aérea e é calculado pela concentração de Zn, na parte aérea, multiplicado pela produção de matéria seca da parte aérea. Esse parâmetro é muito importante para avaliar o potencial de hiperacumulação da planta para ser utilizada na fitorremediação (Yang et al., 2002). Com base nos resultados obtidos, pode-se observar que o acúmulo ou potencial de fitoextração de Zn pelas duas plantas tende a se igualar (Figura 2), pois, apesar da concentração de Zn na parte aérea de *Nicotiana tabacum* ter sido maior, a produção de matéria seca foi comprometida nas maiores concentrações de Zn em solução, enquanto que em *Alternanthera* sp. o aumento da concentração de Zn na solução nutritiva propiciou um aumento linear na concentração de Zn da parte aérea sem comprometer a sua produção de matéria seca.

#### **5.4 Coeficientes de bioacumulação e translocação**

Diversos trabalhos têm destacado a importância dos fatores de bioacumulação (FB>1) e translocação (FT>1) para a classificação da planta como hiperacumuladora (Lubben & Saueerbeck, 1991; Baker & Whiting, 2002; Wei et al., 2004, 2005; Gonzáles & Gonzáles-Chávez, 2006; Yoon et al., 2006; Branquinho et al., 2007). O FT demonstra a eficiência da planta no transporte do elemento das raízes para a parte aérea, enquanto o FB avalia a eficiência da planta em acumular o elemento em relação a uma determinada concentração (Nascimento & Xing, 2006).

O FT de *Alternanthera* sp. e de *Nicotiana tabacum* não foi superior a 1 em nenhuma concentração, ou seja, houve uma certa restrição na translocação de Zn para a parte aérea, pois a  $[Zn]_{raiz} > [Zn]_{parte\ aérea}$  (Tabela 1).

TABELA 1 Fatores de translocação e bioacumulação (parte aérea e raiz) para zinco em plantas de *Alternanthera* sp. e *Nicotiana tabacum* expostas a concentrações crescentes de zinco em solução nutritiva (desvio padrão entre parêntesis).

Tratamentos Zn ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Translocação	Fator	
		Bioacumulação	
		Parte aérea	Raiz
----- <i>Alternanthera</i> sp.-----			
2	0,465 a (0,045)	517 a (72)	1118 a (140)
50	0,465 a (0,074)	97 b (22)	209 b (31)
100	0,365 a (0,145)	79 b (8)	249 b (111)
200	0,385 a (0,097)	80 b (1,3)	221 b (69)
300	0,305 a (0,166)	63 b (17)	243 b (99)
----- <i>Nicotiana tabacum</i> -----			
2	0,773 a (0,353)	989 a (93)	1542 a (789)
50	0,280 b (0,010)	152 b (12)	540 b (25)
100	0,298 b (0,030)	121 b (19)	407 b (77)
200	0,335 b (0,078)	141 b (21)	426 b (32)
300	0,460 ab (0,034)	139 b (22)	300 b (27)

Yang et al. (2002) em estudo com a hiperacumuladora de Zn, *Sedum alfredii* Hance, encontraram maior concentração de Zn na parte aérea que nas raízes e relataram ainda, que em todas as concentrações estudadas o FT foi maior que 1. Da mesma forma, Phaenark et al. (2009) encontraram FT maior que 1 em *Justicia procubens*, uma outra espécie hiperacumuladora de Zn. A alta concentração de Zn na parte aérea indica a eficiência em translocar Zn da raiz para a parte aérea, o que é reconhecidamente uma característica de planta hiperacumuladora.

A mobilidade do Zn nas plantas depende da espécie e do estado nutricional. Na maioria dos casos, o Zn é mais concentrado em folhas maduras e

nas raízes. A rizosfera tem um importante papel na concentração de Zn nas raízes (Kabata-Pendias & Pendias, 2001).

Os resultados mostraram que *Alternanthera* sp. apresentou FT semelhante nas diferentes concentrações de Zn, o que implica que, independentemente da concentração de Zn, a planta mantém a proporção de Zn da parte aérea em relação as raízes. Já em *Nicotiana tabacum* o FT foi maior na menor concentração de Zn, demonstrando uma maior eficiência na translocação desse nutriente quando em baixa concentração. Nas concentrações 50, 100 e 200  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Zn houve uma redução no fator de translocação.

Para sobreviver à exposição a altas concentrações de metais, as plantas desenvolvem algumas estratégias. Conforme Memon & Schröder (2009), através da exclusão, a planta pode minimizar a absorção e, mesmo que apresente alta concentração do elemento nas raízes, pode restringir a sua translocação para a parte aérea. Os vacúolos são os principais sítios de seqüestro de metais nas células das raízes. Uma vez presente no citoplasma das células das raízes, o Zn é transportado para dentro do vacúolo, especialmente se ele estiver acima da necessidade nutricional da planta. O transporte do Zn para dentro do vacúolo diminui a sua translocação para a parte aérea via xilema (Palmgren et al., 2008).

A imobilização nas células das raízes juntamente com os valores de FT baixos podem caracterizar mecanismo de exclusão, visando a minimizar a toxidez (Baker, 1987).

A eficiência de plantas para serem usadas como fitoestabilizadoras é determinada pela retenção do metal nas raízes e uma menor translocação, desta forma, a planta continua crescendo, produzindo biomassa e com menor risco de entrada de elementos-traço na cadeia trófica através da herbivoria (Padmavathiamma & Li, 2009).

O fator de bioacumulação das raízes foi maior que o da parte aérea em *Alternanthera* sp. e em *Nicotiana tabacum*, reafirmando a restrição na

translocação. Em ambas as espécies, os fatores de bioacumulação (raízes e parte aérea) não apresentaram diferença a partir da concentração  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Zn. Na menor concentração de Zn, o fator de bioacumulação foi maior, provavelmente porque a solução de Clark possui uma baixa concentração de Zn, o que permite, proporcionalmente, um maior acúmulo na planta em relação as demais concentrações estudadas.

O valor de FB (parte aérea e raiz) demonstra a eficiência da planta em acumular o elemento sem redução no crescimento e os valores encontrados nesse estudo, nas duas espécies, foram altos em relação ao FB de hiperacumuladoras. Yang et al. (2002), em estudo com a hiperacumuladora de Zn, *Sedum alfredii* Hance, encontraram os valores dos FB da parte aérea variando de 1,25 a 1,94. Phaenark et al. (2009) encontraram valor do FB da parte aérea igual a 7,4 em *Justicia procumbens*. *Nicotiana tabacum* apresentou FB (raízes e parte aérea) maior que FB de *Alternanthera* sp. em todas as concentrações, demonstrando que esta espécie tem potencial para acumular Zn, embora, na última concentração, tenha apresentado redução drástica do crescimento e sintomas de toxidez.

Os resultados mostraram que *Nicotiana tabacum* e *Alternanthera* sp. acumularam Zn nos tecidos, mas ambas têm certa restrição em translocá-lo das raízes para a parte aérea. O padrão de absorção de Zn encontrado em *Alternanthera* sp. a classifica como uma espécie indicadora (Baker, 1981), na qual a concentração de Zn interna reflete a concentração externa, ou seja, o equação encontrada foi linear.

Esse estudo indica que o elemento-traço Zn pode ser absorvido por *Nicotiana tabacum* e por *Alternanthera* sp. e ser removido através da fitoextração. A eficiência da fitoextração é determinada pela quantidade total de Zn extraída pela planta, a qual é dependente de dois fatores principais: a concentração do elemento-traço na matéria seca e o total de biomassa produzida.

A planta ideal para fitoextração seria aquela com crescimento rápido, sistema radicular abundante e de fácil propagação (Ghosh & Sing, 2005). A *Alternanthera* sp., quando comparada com hiperacumuladoras de Zn, possui uma maior produção de biomassa. No entanto, as concentrações de Zn na matéria seca são bem menores. Vale ressaltar, entretanto, que *Alternanthera* sp. não apresenta dificuldades em propagação, além da vantagem de rebrotar após o corte. Já *Nicotiana tabacum*, apesar de apresentar alta concentração de Zn na parte aérea, teve sua produção de biomassa reduzida e sintomas de toxidez na maior concentração de Zn ( $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), o que implicaria restrição no seu uso como fitoextratora em áreas com concentrações de Zn superiores a esta.

#### **5.5 Concentração de nutrientes na planta e correlação com Zn**

A presença de Zn na solução afetou a concentração da maioria dos nutrientes das plantas, em *Alternanthera* sp., exceto as concentrações de potássio (K) e magnésio (Mg) em *Nicotiana tabacum* e fósforo (P) em *Alternanthera* sp. (Tabela 2).

O aumento da concentração de Zn na parte aérea das plantas de *Alternanthera* sp. correlacionou-se negativamente com o enxofre, o que está de acordo com o comportamento antagônico desse nutrientes (Kabata-Pendias & Pendias, 2001). Correlação positiva foi encontrada para manganês, enquanto que, para os demais nutrientes, não foi observada correlação significativa (Tabela 3).

TABELA 2 Concentrações de macro e micronutrientes na parte aérea das plantas de *Alternanthera* sp. e *Nicotiana tabacum* expostas a concentrações crescentes de Zn.

	Concentrações de Zn $\mu\text{mol L}^{-1}$					Equação
	2	50	100	200	300	
<i>Alternanthera</i> SP.						
	-----g kg <sup>-1</sup> -----					
P	1,6	1,6	1,7	1,7	1,7	N.S.
K	20,5	23,7	25,3	21,1	24,2	S.A.
Ca	7,7	10,9	11,3	9,1	5,5	$y=8,3+0,05x-0,0002x^2$ R <sup>2</sup> =0,91**
Mg	1,1	1,7	2,0	1,3	1,8	S.A.
S	5,4	6,6	7,1	4,5	4,0	$y=4,9-0,03x+0,48x^{0,5}$ R <sup>2</sup> =0,84**
	-----mg kg <sup>-1</sup> -----					
Cu	3,6	4,2	5,3	5,3	5,3	$y=3,6+0,11x^{0,5}$ R <sup>2</sup> =0,80*
Fe	38,5	30,9	32,7	36,8	33,7	S.A.
Mn	16,0	21,1	29,7	33,8	29,1	$y=14,7+0,19x-0,0005x^2$ R <sup>2</sup> =98**
<i>Nicotiana tabacum</i>						
	-----g kg <sup>-1</sup> -----					
P	2,7	2,4	2,2	2,4	3,4	$y=2,7-0,008x+0,00004x^2$ R <sup>2</sup> =0,99**
K	44,9	46,4	48,7	47,3	52,2	N.S.
Ca	16,0	16,3	21,6	17,1	18,2	S.A.
Mg	3,2	3,0	2,7	2,6	2,7	N.S.
S	6,2	6,7	7,7	9,2	10,1	$y=6,21+0,014x$ R <sup>2</sup> =0,99**
	-----mg kg <sup>-1</sup> -----					
Cu	12,4	14,2	13,6	15,0	16,8	$Y=12,71+0,13x$ R <sup>2</sup> =0,89**
Fe	88,8	73,6	70,0	43,4	35,0	$Y=85,96-0,18x$ R <sup>2</sup> =0,96**
Mn	79,8	67,2	61,1	61,9	68,6	$y=78,7-0,23x+0,0007x^2$ R <sup>2</sup> =0,94**

N.S. = não significativo; S.A. = sem ajuste, \* significativo a 5%; \*\* significativo a 1%.

Em *Nicotiana tabacum*, houve correlação positiva entre a concentração de Zn na parte aérea e as concentrações de P, K, S e Cu, o que provavelmente pode ter ocorrido por efeito de concentração. Houve correlação negativa com a concentração de Fe, o que é relatado na literatura como uma reação antagônica



(Kabata-Pendias & Pendias, 2001). Não se sabe a causa da deficiência induzida de Fe provocada pelo excesso de Zn, mas a similaridade entre o raio iônico desses elementos tem sido apontada como mecanismo deste fenômeno (Woolhouse, 1983). Conforme Soares et al. (2001), a deficiência de Fe é um dos fatores que prejudica o crescimento das plantas expostas à toxidez de Zn, mas não é necessariamente a causa.

TABELA 3 Correlação de Pearson entre concentrações de zinco e nutrientes da matéria seca da parte aérea de plantas de *Alternanthera* sp. e *Nicotiana tabacum* expostas a concentrações crescentes de Zn em solução nutritiva (n=20 amostras).

Nutrientes na parte aérea	Zinco na parte aérea	
	<i>Alternanthera</i> SP.	<i>Nicotiana tabacum</i>
P	0,04 <sup>N.S.</sup>	0,57 <sup>**</sup>
K	0,13 <sup>N.S.</sup>	0,52 <sup>*</sup>
Ca	-0,34 <sup>N.S.</sup>	0,16 <sup>N.S.</sup>
Mg	0,27 <sup>N.S.</sup>	-0,34 <sup>N.S.</sup>
S	-0,55 <sup>*</sup>	0,50 <sup>**</sup>
Cu	0,53 <sup>N.S.</sup>	0,75 <sup>**</sup>
Fe	-0,07 <sup>N.S.</sup>	-0,93 <sup>**</sup>
Mn	0,77 <sup>**</sup>	-0,25 <sup>N.S.</sup>

N.S. = não significativo; \* significativo a 5%; \*\* significativo a 1%.

Em termos práticos, *Alternanthera* sp. e *Nicotiana tabacum* poderiam ser utilizadas em programas de fitorremediação de áreas contaminadas com Zn. No entanto em áreas com teores mais elevados a *Alternanthera* sp. seria mais viável, visto que não apresentou redução da produção da biomassa nem sintomas visíveis de toxidez e deficiência de nutrientes independentemente da concentração de Zn estudada.

## 6 CONCLUSÃO

De acordo com os padrões da literatura, a *Alternanthera* sp. não é uma hiperacumuladora de Zn, contudo é uma planta indicadora desse elemento e pode ser utilizada em programas de fitorremediação para estabilizar áreas contaminadas com Zn.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

AIT ALI, N.; BERNAL, M. P.; ATER, M. Tolerance and bioaccumulation of copper in *Phragmites australis* and *Zea mays*. **Plant and Soil**, The Hague, v. 239, n. 1, p. 103-111, Feb. 2002.

ALKORTA, I.; HERNÁNDEZ-ALLICA, J.; BECERRIL, J. M.; AMEZAGA, I.; ALBIZU, I.; GARBISU, C. Recent findings on the phytoremediation of soils contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc, cadmium, lead, and arsenic. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, Netherlands, v. 3, n. 1, p. 71-90, Mar. 2004.

BAKER, A. J. M. Accumulators and excluders: strategies in the response of plants to heavy metals. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 3, n.1/4, p. 643-654, 1981.

BAKER, A. J. M. Metal tolerance. **New Phytologist**, Cambridge, v. 106, n. 1, p. 93-111, May 1987.

BAKER, A. J. M.; WHITING, S. N. In search of the holy grail - a further step in understanding metal hyperaccumulation? **New Phytologist**, Cambridge, v. 155, n. 1, p. 1-4, July 2002.

BAKER, A. M. J.; BROOKS, R. R. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements: a review of their distribution, ecology and phytochemistry. **Biorecovery**, Great Britain, v. 1, n. 2, p. 81-126, 1989.

BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C. Respuestas de las plantas a la contaminación por metales pesados. **Suelo y Planta**, Madrid, v. 2, n. 2, p. 345-361, 1992.

BERT, V.; MACNAIR, M. R.; DELAGUERIE, P.; SAUMITOU-LAPRADE, P.; PETIT, D. Zinc tolerance and accumulation in metallicolous and non-metallicolous populations of *Arabidopsis halleri* (Brassicaceae). **New Phytologist**, Cambridge, v. 146, n. 2, p. 225-233, May 2000.

BRANQUINHO, C.; SERRANO, H. C.; PINTO, M. J.; MARTINS-LOUÇÃO, M. A. Revisiting the plant hyperaccumulation criteria to rare plants and earth abundant elements. **Environmental Pollution**, Barking, v. 146, n. 2, p. 437-443, Mar. 2007.

BRECKLE, S. W.; KAHLE, H. Effects of toxic heavy metals (Cd, Pb) on growth and mineral nutrition of beech (*Fagus sylvatica* L.). **Plant Ecology**, Dordrecht, v. 101, n. 1, p. 43-53, July 1992.

BROWN, S. L.; CHANEY, R. L.; ANGLE, J. S.; BAKER, A. J. M. Zinc and cadmium uptake by hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* and metal tolerant *Silene vulgaris* grown on sludge amended soils. **Environmental Science & Technology**, Easton, v. 29, n. 6, p. 1581-1585, Mar. 1995.

CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Comportamento de espécies herbáceas em misturas de solo com diferentes graus de contaminação com metais pesados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 11, p. 1629-1638, nov. 2002.

CARRILO-GONZÁLEZ, R.; GONZÁLEZ-CHAVEZ, M. C. A. Metal accumulation in wild plants surrounding mining wastes. **Environmental Pollution**, Barking, v. 144, n. 1, p. 84-92, Nov. 2006.

CLARK, R. B. Characterization of phosphates in intact maize roots. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 23, n. 3, p. 458-460, May/June 1975.

CUNNINGHAM, S. D.; OW, D. W. Promises and prospects of phytoremediation. **Plant Physiology**, Washington, v. 110, n. 3, p. 715-719, Mar. 1996.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: Ministério da Agricultura e Abastecimento, 1999. 370 p.

FONTES, R. L. F.; COX, R. Iron deficiency and zinc toxicity in soybean grown in nutrient solution with different levels of sulfur. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 21, n. 8, p. 1715-1722, Aug. 1998.

- GARBISU, C.; ALKORTA, I. Phytoextraction: a cost effective plant-based technology for the removal of metals from the environment. **Bioresource Technology**, Essex, v. 77, n. 3, p. 229-236, May 2001.
- GHOSH, M.; SINGH, S. P. A comparative study of cadmium phytoextraction by accumulator and weed species. **Environmental Pollution**, Barking, v. 133, n. 2, p. 365-371, Jan. 2005.
- GISBERT, C.; ALMELA, C.; VÉLEZ, D.; LÓPEZ-MOYA, J. R.; HARO, A.; SERRANO, R.; MONTORO, R.; NAVARRO-AVIÑÓ, J. Identification of as accumulation plant species growing on highly contaminated soils. **International Journal of Phytoremediation**, London, v. 10, n. 3, p. 185-196, May 2008.
- GONZÁLEZ, R. C.; GONZÁLEZ-CHÁVEZ, M. C. A. Metal accumulation in wild plants surrounding mining wastes. **Environmental Pollution**, Barking, v. 144, n. 1, p. 84-92, Nov. 2006.
- GUERINOT, M. L.; SALT, D. E. Fortified foods and phytoremediation. Two sides of the same coin. **Plant Physiology**, Washington, v. 125, n. 1, p. 164-167, Jan. 2001.
- GUSTAFFSON, J. P. **Visual Minteq ver.2.53, KTH**. Stockholm: Department of Land and Water Resources Engineering, 2007. Disponível em: <<http://www.lwr.kth.se/English/OurSoftware/vminteq/>>. Acesso em: 10 fev. 2008.
- GUSTIN, J. L.; LOUREIRO, M. E.; KIM, D.; NA, G.; TIKHONOVA, M.; SALT, D. E. MTP1-dependent Zn sequestration into shoot vacuoles suggests dual roles in Zn tolerance and accumulation in Zn-hyperaccumulating plants. **Plant Journal: For Cell and Molecular Biology**, Oxford, v. 57, n. 6, p. 1116-1127, Mar. 2009.
- HENRY, J. R. **An overview of the phytoremediation of lead and mercury**. Washington: EPA, 2000. 51 p. Disponível em: <<http://www.clu-in.gov>>. Acesso em: 25 jul. 2008.
- HUANG, J. W.; CUNNINGHAM, S. D. Lead phytoextraction: species variation in lead uptake and translocation. **New Phytologist**, Cambridge, v. 134, n. 1, p. 75-84, Sept. 1996.

JANKONG, P.; VISOOTTIVISETH, P.; KHOKIATTIWONG, S. Enhanced phytoremediation of arsenic contaminated land. **Chemosphere**, Oxford, v. 68, n. 10, p. 1906-1912, Aug. 2007.

KABATA-PENDIAS, A.; MUKHERJEE, A. B. **Trace elements from soil to human**. New York: Springer-Verlag, 2007. 550 p.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. 3. ed. Boca Raton: CRC, 2001. 413 p.

KÜPPER, H.; LOMBI, E.; ZHAO, F. J.; MCGRATH, S. P. Cellular compartmentation of cadmium and zinc in relation to other elements in the hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*. **Planta**, Berlin, v. 212, n. 1, p. 75-84, Dec. 2000.

LINDBLOM, S. D.; ABDEL-GHANY, S.; HANSON, B. R.; HWANG, S.; TERRY, N.; PILON-SMITS, E. A. H. Constitutive expression of a high-affinity sulfate transporter in Indian mustard affects metal tolerance and accumulation. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 35, n. 3, p. 726-733, May 2006.

LONG, X. X.; YANG, X. E.; YE, Z. Q.; NI, W. Z.; SHI, W. Y. Differences of uptake and accumulation of zinc in four species of *Sedum*. **Acta Botanica Sinica**, Peiping, v. 44, n. 2, p. 152-157, 2002.

LUBBEN, S.; SAUERBECK, D. The uptake and distribution of heavy-metals by spring wheat. **Water Air & Soil Pollution**, Dordrecht, v. 57, n. 1, p. 239-247, Aug. 1991.

MALAVOLTA, E. **Fertilizantes e seu impacto ambiental: micronutrientes e metais pesados, mitos, mistificações e fatos**. São Paulo: Produquímica, 1994. 153 p.

MARCHIOL, L.; ASSOLARI, S.; SACCO, P.; ZERBI, G. Phytoextraction of heavy metals by canola (*Brassica napus*) and radish (*Raphanus sativus*) grown on multicontaminated soil. **Environmental Pollution**, Barking, v. 132, n. 1, p. 21-27, Nov. 2004.

MARCHIOL, L.; LEITA, L.; MARTIN, M.; PERESSOTTI, A.; ZERBI, G. Physiological responses of two soybean cultivars to cadmium. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 25, n. 3, p. 562-566, May/June 1996.

MARET, W.; SANDSTEAD, H. H. Zinc requirements and the risks and benefits of zinc supplementation. **Journal of Trace Elements and Medicine and Biology**, Stuttgart, v. 20, n. 1, p. 3-18, May 2006.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed. San Diego: Academic, 1995. 902 p.

MEMON, A. R.; SCHRÖDER, P. Implication of metal accumulation mechanisms of phytoremediation. **Environmental Science and Pollution Research International**, Landsburg, v. 16, n. 2, p. 162-165, Mar. 2009.

MENDELSSOHN, I. A.; MCKEE, K. L.; KONG, T. A comparison of physiological indicators of sublethal cadmium stress in wetland plants. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 46, n. 3, p. 263-275, Dec. 2001.

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

PADMAVATHIAMMA, P. K.; LI, L. Y. Phytoremediation of metal-contaminated soil in temperate humid regions of British Columbia, Canada. **Journal of Phytoremediation**, London, v. 11, n. 6, p. 575-590, Aug. 2009.

PALMGREN, M. G.; CLEMENS, S.; WILLIAMS, L. E.; KRÄMER, U.; BORG, S.; SCHJORRING, J. K.; SANDERS, D. Zinc biofortification of cereals: problems and solutions. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 13, n. 9, p. 464-473, Sept. 2008.

PHAENARK, C.; POKETHITIYOOK, P.; KRUATRACHUE, M.; NGERNSANSARUAY, C. Cd and Zn accumulation in plants from the Padaeng Zinc Mine area. **International Journal of Phytoremediation**, London, v. 11, n. 5, p. 479-495, July 2009.

RASKIN, I.; ENSLEY, B. **Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environmental**. New York: J. Wiley, 2000. 304 p.

REEVES, R. D.; BAKER, A. J. M. Metal-accumulating plants. In: RASKIN, H.; ENSLEY, B. D. (Ed.). **Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment**. London: J. Wiley, 2000. p. 193-230.

ROOSENS, N. H. C. J.; WILLEMS, G.; SAUMITOU-LAPRADE, P. Using Arabidopsis to explore zinc tolerance and hyperaccumulation. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 13, n. 5, p. 208-215, May 2008.

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

SANTOS, F. S.; AMARAL SOBRINHO, N. M. B.; MAZUR, N. Mecanismos de tolerância de plantas a metais pesados. In: FERNANDES, M. S. **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 419-432.

SCHAT, H.; TEN BOOKUM, W. M. Genetic control of copper tolerance in *Silene vulgaris*. **Heredity**, London, v. 68, p. 219-229, 1992.

SCHAT, H.; VERKLEIJ, A. C. Biological interactions: the role for non-woody plant in phytoremediation: possibilities to exploit adaptive heavy metal tolerance. In: VANGRONSVELD, J.; CUNNINGHAM, S. D. (Ed.). **Metal-contaminated soils: in situ inactivation and phytoremediation**. Berlin: Springer, 1998. p. 51-63.

SCHRÖDER, P.; HERZIG, R.; BOJINOV, B.; RUTTENS, A.; NEHNEVAJOVA, E.; STAMATIADIS, S.; MEMON, A.; VASSILEV, A.; CAVIEZEL, M.; VANGRONSVELD, J. Bioenergy to save the world - producing novel energy plants for growth on abandoned land. **Environmental Science and Pollution Research**, Landsburg, v. 15, n. 3, p. 196-204, May 2008.

SHEN, Z. G.; LIU, Y. L. Progress in the study on the plants that hyperaccumulate heavy metal. **Plant Physiology Communications**, Shanghai, v. 34, n. 2, p. 133-139, 1998.

SOARES, C. R. F. S.; GRAZZIOTTI, P. H.; SIQUEIRA, J. O.; CARVALHO, J. G.; MOREIRA, F. M. S. Toxidez de zinco no crescimento e nutrição de *Eucalyptus maculata* e *Eucalyptus urophylla* em solução nutritiva. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 2, p. 339-348, fev. 2001.

SRIVASTANA, M.; MA, L. Q.; SANTOS, J. A. G. Three new arsenic hyperaccumulating ferns. **Science of the total environment**, Amsterdam, v. 364, n. 1/3, p. 24-31, July 2000.



TU, C.; MA, L. Q. Effects of arsenic concentrations and forms on arsenic uptake by the hyperaccumulator ladder brake. **Journal Environmental Quality**, Madison, v. 31, n. 2, p. 641-647, Mar. 2002.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Test methods for evaluating soil waste, physical/chemical methods SW-846**. 3. ed. Washington, 1995. Disponível em: <<http://www.epa.gov/SW-846/3051a.pdf>>. Acesso em: 1 ago. 2008.

VANGRONSVELD, J.; HERZIG, R.; WEYENS, N.; BOULET, J.; ADRIAENSEN, K.; RUTTENS, A.; THEWYS, T.; VASSILEV, A.; MEERS, E.; NEHNEVAJOVA, E.; LELIE, D. van der; MENCH, M. Phytoremediation of contaminated soils and groundwater: lessons from the field. **Environmental Science and Pollution Research International**, Landsburg, v. 16, n. 7, p. 765-794, Nov. 2009.

VASSILEV, A.; VANGRONSVELD, J.; YORDANOV, I. Cadmium phytoextraction: present state, biological backgrounds and research needs. Reviews. **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, Sofia, v. 28, n. 3/4, p. 68-95, 2002.

WANG, H. B.; WONG, M. H.; LAN, C. Y.; BAKER, A. J. M.; QIN, Y. R.; SHU, W. S.; CHEN, G. Z.; YE, Z. H. Uptake and accumulation of arsenic by 11 *Pteris* taxa from southern China. **Environmental Pollution**, Barking, v. 145, n. 1, p. 225-233, Jan. 2007.

WATANABE, M. E. Phytoremediation on the brink of commercialization. **Environmental Science & Technology**, Easton, v. 31, n. 4, p. 182A-186A, Apr. 1997.

WEI, C. Y.; CHEN, T. B. Arsenic accumulation by two brake ferns growing on an arsenic mine and their potential in phytoremediation. **Chemosphere**, Oxford, v. 63, n. 6, p. 1048-1053, May 2006.

WEI, C. Y.; SUN, X.; WANG, W. Y. Factors influencing arsenic accumulation by *Pteris vittata*: a comparative field study at two sites. **Environmental Pollution**, Barking, v. 141, n. 3, p. 488-493, June 2006.

WEI, L.; SHU, W.; LAN, C. *Viola baoshanensis*, a plant that hyperaccumulates cadmium. **Chinese Science Bulletin**, Beijing, v. 49, n. 1, p. 29-32, Jan. 2004.

WEI, S. H.; ZHOU, Q. X.; WANG, X.; ZHANG, K. S.; GUO, G. L.; MA, L. A newly-discovered Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. **Chinese Science Bulletin**, Beijing, v. 50, n. 1, p. 33-38, Jan. 2005.

WOOLHOUSE, H. W. Toxicity and tolerance in the responses of plant to metals. In: LANGE, O. L.; OSMOND, C. B.; ZIEGLER, H. (Ed.). **Encyclopedia of plant physiology**. Berlin: Springer, 1983. v. 12, p. 245-300.

YANG, X. E.; LI, T. Q.; LONG, X. X.; XIONG, Y. H.; HE, Z. L.; STOFFELLA, P. J. Dynamics of zinc uptake and accumulation in the hyperaccumulating and non-hyperaccumulating ecotypes of *Sedum alfredii* Hance. **Plant and Soil**, The Hague, v. 284, n. 1/2, p. 109-119, June 2006.

YANG, X. E.; LONG, X. X.; NI, W.; FU, C. *Sedum alfredii* H: A new Zn hyperaccumulating plant first found in China. **Chinese Science Bulletin**, Beijing, v. 47, n. 19, p. 1634-1637, Oct. 2002.

YOON, J.; CAO, X.; ZHOU, O.; MA, L. Q. Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 368, n. 2/3, p. 456-464, Sept. 2006.

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

ZHAO, F. J.; LOMBI, E.; BREEDON, T.; MCGRATH, S. P. Zinc hyperaccumulation and cellular distribution in *Arabidopsis halleri*. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 23, n. 5, p. 507-514, May 2000.

ZHAO, F. J.; MCGRATH, S. P. Biofortification and phytoremediation. **Current Opinion in Plant Biology**, London v. 12, n. 3, p. 373-380, June 2009.

## **CAPÍTULO 4**

### **INTERAÇÃO DE CÁDMIO E ZINCO SOBRE O POTENCIAL FITORREMEDIADOR DE AMARANTHACEAE**

## 1 RESUMO

Como resultado da mineração de zinco, pode ocorrer a contaminação do solo por chumbo, cobre, cádmio e outros. Grande esforço tem sido feito e diversas técnicas de remediação são utilizadas visando à recuperação de solos contaminados. A fitorremediação, que usa a habilidade de plantas em concentrar ou tolerar metais pesados, pode ser utilizada para remediar estas áreas. Em plantas fitorremediadoras a interação Cd-Zn pode ser sinérgica ou antagônica, dependendo da espécie. Desta forma, este trabalho investigou os efeitos da interação Cd-Zn sobre o crescimento, absorção de nutrientes e potencial fitoextrator de Cd e Zn na planta *Alternanthera* sp. sob sistema hidropônico com solução nutritiva de Clark. Para tanto, um experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x3, sendo o fator 1 constituído por 4 concentrações crescentes de Cd (0; 5; 25 e 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  fornecido como  $\text{CdSO}_4$ ) e o fator 2 constituído por 3 concentrações crescentes de Zn (2; 50 e 300  $\mu\text{mol L}^{-1}$  fornecido como  $\text{ZnSO}_4$ ) e três repetições. Após 42 dias, as plantas foram colhidas e a produção de matéria seca da parte aérea e raízes, assim como a concentração de Cd, Zn e nutrientes foram mensuradas. As plantas de *Alternanthera* sp. cresceram normalmente em todas as concentrações de Cd e Zn. A maior produção de biomassa da parte aérea foi obtida na concentração 300  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Zn associada a 5  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Cd. O acréscimo de Zn na solução aumentou significativamente o teor de Cd da parte aérea e das raízes de *Alternanthera* sp.. Da mesma forma, a adição de Cd, na maior concentração de Zn, propiciou um aumento no teor de Zn da parte aérea, o que indica sinergismo entre Cd e Zn para absorção e transporte de ambos.

## 2 ABSTRACT

The soil contamination by lead, copper, cadmium and other metals can occur as a result of zinc mining. Great efforts have been made and various remediation techniques have been used to rectify contaminated soils. Based on the ability of plants to concentrate or tolerate heavy metals, the phytoremediation is a technique that can be employed to rectify these areas. The Cd-Zn interaction in phytoremediator plants can be synergistic or antagonistic, depending on the species. This study investigated the effects of Cd-Zn interaction on growth, nutrient uptake and phytoextraction potential of Cd and Zn by *Alternanthera sp.* in a hydroponics system and in a Clark's nutrition solution. An experiment was conducted in a completely randomized design in a 4x3 factorial, with factor 1 consisting of 4 increasing concentrations of Cd (0; 5; 25 and 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  supplied as  $\text{CdSO}_4$ ) and factor 2 consisting of 3 increasing concentrations of Zn (2; 50 and 300  $\mu\text{mol L}^{-1}$  supplied as  $\text{ZnSO}_4$ ) and three replications. Upon 42 days, the plants were collected, then the dry matter obtained from the shoots and roots, as well as measuring the concentration of Cd, Zn, and nutrients. The *Alternanthera sp.* plants grew normally at all Cd and Zn concentrations. The highest production of shoot biomass was obtained at a concentration 300  $\mu\text{mol L}^{-1}$  of Zn associated with 5  $\mu\text{mol L}^{-1}$  of Cd. The addition of Zn in solution significantly increased the Cd content in shoots and roots of *Alternanthera sp.* Similarly, the Cd addition in the highest concentration of Zn favored an increase in Zn levels in shoots, indicating a synergism between Cd and Zn for uptake and transport of both elements.

### 3 INTRODUÇÃO

O minério de zinco (Zn) contém diferentes elementos contaminantes, como chumbo, cobre, cádmio e outros, sendo esse último o mais intimamente relacionado ao Zn (Kabata-Pendias & Pendias, 2001). Após a mineração, todos os elementos encontrados no minério são expostos à superfície do solo sofrendo alterações de forma, podendo ser disseminados em alguns meios (água, ar) e entrar na cadeia trófica.

O cádmio (Cd) é um metal altamente tóxico que ocupa a sétima posição no *ranking* dos 20 compostos mais tóxicos, (Di Toppi & Gabbrielli, 1999) e a contaminação com esse elemento tem ocorrido no mundo todo (Kirkham, 2006). Grande esforço tem sido feito e diversas técnicas de remediação são utilizadas visando à recuperação de solos contaminados. A fitorremediação é uma técnica emergente de descontaminação ambiental (Lindblom et al., 2006), que consiste no uso de plantas e microbiota associada para remover, imobilizar ou tornar os contaminantes inofensivos ao ecossistema. Esta técnica apresenta inúmeros benefícios, pois é uma técnica *in situ*, de natureza permanente, com baixos custos de manutenção, promove proteção contra a erosão eólica e hídrica, melhora a estrutura do solo, aumenta sua fertilidade e recupera a estética das áreas contaminadas (Salt et al., 1998; Raskin & Ensley, 2000; Accioly & Siqueira, 2000; Wei et al., 2004).

A identificação de novas hiperacumuladoras de múltiplos metais é de grande importância para o sucesso da fitorremediação de solos contaminados com Cd e outros metais, porque a contaminação raramente é restrita a um único metal (Yang et al., 2004). O Cd geralmente não ocorre isolado em ambientes naturais, mas aparece como um metal acompanhante em minerais ricos em Zn e Pb (Baker et al., 1990).

Cádmio e zinco são quimicamente semelhantes (Mengel & Kirkby, 2001), sendo elementos de transição do grupo IIB, têm configuração eletrônica e valência iguais e possuem propriedades geoquímicas e ambientais muito parecidas (Nan et al., 2002). O Cd é capaz de imitar o comportamento do nutriente essencial Zn durante a absorção. Apesar disso, existe a hipótese de que elementos com propriedades físicas e químicas semelhantes possam ter comportamento antagônico biologicamente (Das et al., 1997). Há décadas já se sabe que o Zn compete com o Cd (Hawf & Schmid, 1967; Chaney, 1973) e a sua presença diminui a absorção de Cd, sendo essa dependente do conteúdo de Zn no solo; geralmente, as plantas absorvem mais Cd se o conteúdo de Zn é baixo (Mengel & Kirkby, 2001).

Há controvérsias a respeito da interação Cd e Zn e quando Cd ou Zn excedem o nível tóxico há um efeito sinérgico ou aditivo (Kabata-Pendias & Pendias, 2001). No entanto, o Zn parece ter um importante papel no controle da absorção de Cd.

Acredita-se que a absorção de Cd por plantas não acumuladoras pode ocorrer através dos mesmos carreadores de outros cátions bivalentes como o  $Zn^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$  e  $Fe^{+2}$ , ou por canais de  $Ca^{+2}$  e  $Mg^{+2}$  (Welch & Norvell, 1999). Em culturas convencionais, nota-se o efeito do Cd na inibição da absorção e acumulação de Zn, Cu, Mn e Ca (Wong et al., 1984; Yang et al., 1996).

Green et al. (2003) estudaram o efeito dos níveis de Cd e Zn na absorção e translocação de Cd em trigo (*Triticum aestivum*) e observaram ser possível reduzir a concentração de Cd através da adição de Zn. No entanto, os níveis de Cd não afetaram a absorção e translocação de Zn das raízes para a parte aérea. Desta forma, concluíram que o Zn foi efetivo para regular a absorção e translocação de Cd em trigo. Outros trabalhos demonstram que o Zn diminui a absorção de Cd em *Glycine max* (Cataldo et al., 1983), *Holcus lanatus* (Symeonides & Karataglis, 1992) e em *Lactuca sativa* (Thys et al., 1991).

Em plantas com tolerância ou hiperacumuladoras de elementos-traço, a interação Cd-Zn pode ser sinérgica ou antagônica, dependendo da espécie. Aravind & Prasat (2005) observaram que, na presença de maiores concentrações de Zn, a toxidez de Cd foi menor em *Ceratophyllum demersum* L., uma planta aquática recomendada para remediação de elementos tóxicos. Na maior concentração de Zn, houve um menor acúmulo de Cd, o que levou esses autores a concluir que a presença do Zn diminuiu a absorção de Cd, indicando uma forte competição entre Cd e Zn nessa planta.

Na hiperacumuladora de Cd *Arabidopsis halleri*, alta concentração de Zn (500  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) reduziu drasticamente a concentração de Cd na parte aérea e nas raízes (Küpper et al., 2000), o que implica que o sistema de absorção e transporte para Cd e Zn possa ser similar nessa hiperacumuladora. Uma vez que *Arabidopsis halleri* é capaz de crescer diretamente sobre a calamina (nome genérico dado ao silicato de zinco), com Zn e Cd geralmente associados, acredita-se na hipótese de que a tolerância foi desenvolvida para ambos os metais (Roosens et al., 2008).

No entanto, Yang et al. (2004), em experimento com a hiperacumuladora de Zn *Sedum alfredii* Hance, observaram que o acúmulo de Cd nas raízes e parte aérea foi crescente com o aumento do suprimento de Zn. Em outra hiperacumuladora de Cd e Zn, a *Thlaspi caerulescens*, a absorção de Cd não foi inibida pelo Zn, Cu, Mn e Fe (Zhao et al., 2002), fato confirmado pela clonagem do gene responsável pelo transporte de Zn (ZNT1) de *Thlaspi caerulescens*, que mostrou baixa afinidade pela absorção de Cd (Lasat et al., 2000; Pence et al., 2000). Através da cinética de absorção de Cd, ficou provado que existe alta afinidade de Cd por um sistema de transportadores na membrana plasmática de células das raízes de *Thlaspi caerulescens* (Lombi et al., 2001).

Diante do exposto, pode-se constatar que nas plantas existem algumas diferenças de comportamento na absorção e acúmulo de Cd e Zn em trabalhos



com interação desses elementos, principalmente em hiperacumuladoras. Diante da importância da fitoextração como técnica remediadora para áreas contaminadas por metais pesados, depreende-se, pois, da necessidade de estudos que relacionem a co-tolerância de espécies de clima tropical, desenvolvidas em níveis crescentes de multicontaminação, com os aspectos fisiológicos dessas plantas, para que possam ser efetivamente cultivadas como fitoextratoras nas áreas contaminadas no Brasil. Acredita-se que a espécie *Alternanthera* sp., herbácea comumente encontrada em área de mineração de zinco, possa ser utilizada em programas de fitorremediação de solos contaminados com Cd e Zn e que exista sinergismo para a absorção e translocação de ambos.

Esse trabalho teve como objetivo investigar os efeitos da interação Cd-Zn em *Alternanthera* sp. sobre o crescimento, a absorção de nutrientes e o potencial fitoextrator de Cd e Zn, bem como os efeitos de concentrações de Zn na acumulação de Cd e os efeitos de concentrações de Cd na acumulação de Zn, em sistema hidropônico com solução nutritiva.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Obtenção das plantas

Para a obtenção das plantas foi realizada propagação assexuada utilizando plantas matrizes geneticamente idênticas, que também foram provenientes de propagação assexuada, mediante estaquia de uma única planta coletada em área de mineração.

As estacas foram obtidas a partir de cortes do ramo na porção mediana, sendo que o corte da parte superior da estaca foi feito acima e o inferior abaixo de um nó, mantendo-se três a quatro nós. As folhas presentes nos ramos foram retiradas, visando à uniformização das estacas. Imediatamente após o corte, as estacas foram mantidas em solução com  $100 \text{ mg L}^{-1}$  do fitorregulador AIB por 24 horas, no escuro e em condição de alta umidade.

Após esse período, as estacas foram transferidas para bandejas de isopor contendo 200 células com substrato de casca de arroz e foram mantidas em casa de vegetação climatizada por 60 dias, com adubação semanal com solução de Clark 50% da força original.

Plantas com altura e idade semelhantes foram selecionadas e suas raízes foram lavadas em água destilada para a retirada do excesso de substrato. As plantas foram transferida para vaso de 2 litros contendo solução nutritiva de Clark com 50% da força iônica original (solução de adaptação) e permaneceram em solução de adaptação por 1 semana e, então, foram transferidas para solução de Clark com a força iônica original por mais 2 semanas, sob aeração constante e pH ajustado para 5,5. A solução nutritiva foi preparada conforme Clark (1975) com reagentes p.a. e continha:  $7,26 \text{ mmol L}^{-1} \text{ N-NO}_3^-$ ;  $0,90 \text{ mmol L}^{-1} \text{ N-NH}_4^+$ ;  $0,07 \text{ mmol L}^{-1} \text{ P}$ ;  $1,80 \text{ mmol L}^{-1} \text{ K}$ ;  $2,60 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Ca}$ ;  $0,60 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Mg}$ ;  $0,50$

mmol L<sup>-1</sup> S; 7,0 µmol L<sup>-1</sup> Mn; 2 µmol L<sup>-1</sup> Zn; 0,5 µmol L<sup>-1</sup> Cu; 19 µmol L<sup>-1</sup> B; 0,60 µmol L<sup>-1</sup> Mo; e 38 µmol L<sup>-1</sup> Fe complexado com Na<sub>2</sub>-EDTA.

Para o preparo das soluções estoque e padrões foi utilizada água deionizada. Toda a vidraria utilizada foi lavada com solução de ácido clorídrico 30% (v/v) e, então, enxaguada três vezes em água destilada antes do uso.

Antes de serem expostas às concentrações de Cd e Zn, todas as raízes das plântulas foram pigmentadas, através da imersão em suspensão de água destilada e pó fino de carvão ativo e posteriormente enxaguadas em água destilada, seguindo metodologia descrita por Schat & Ten Bookun (1992). Esse método permitiu a visualização do crescimento radicular, pois inicialmente, todo o sistema radicular estava escuro e toda a raiz formada após a exposição ao Cd e Zn apresentaria coloração clara.

#### **4.2 Condução experimental**

O estudo foi realizado em casa de vegetação do Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em cultivo hidropônico.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x3, sendo um fator constituído por 4 concentrações crescentes de Cd (0; 5; 25 e 50 µmol L<sup>-1</sup> fornecido como CdSO<sub>4</sub>) e o outro fator constituído por 3 concentrações crescentes de Zn (2; 50 e 300 µmol L<sup>-1</sup> fornecido como ZnSO<sub>4</sub>), com três repetições, totalizando 36 parcelas. Os vasos utilizados apresentavam capacidade de 2 L e continham uma única planta.

Após três semanas de adaptação em solução nutritiva de Clark, as plantas foram expostas às concentrações de Cd. As soluções foram renovadas semanalmente e o pH mantido em 5,5 com adição de NaOH ou HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>, quando necessário o ajuste.

As plantas foram mantidas por um período de 42 dias em exposição ao Cd e Zn, período no qual foram observados a ocorrência de eventuais sintomas de toxidez e os efeitos no crescimento das plantas. Ao final do experimento, as plantas foram colhidas e parte aérea (folha e caule) e raízes foram separadas. A parte aérea foi lavada em água deionizada e as raízes foram imersas em solução de ácido clorídrico 10% (v/v) por um minuto e em seguida enxaguadas em água deionizada. Em seguida, ambas as partes foram secas em estufa em temperatura entre 65 e 75° C até atingir massa constante. O peso da matéria seca foi determinado em balança de precisão (0,01 g) que em seguida foi moída em moinho tipo Wiley equipado com peneira com malha de 0,38 mm, para ser analisada quimicamente.

#### **4.3 Análise de Cd e nutrientes na planta**

O material moído foi digerido segundo o método 3051 da United States Environmental Protection Agency - USEPA (1995), utilizando-se de 0,5 g de material em 10 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado em forno de microondas com tubos de Teflon® PTFE à pressão 0,76 MPa por dez minutos. A temperatura alcançada à pressão de 0,76 MPa é de aproximadamente 175° C. Após a digestão, o extrato foi filtrado e seu volume completado até 20 mL com água destilada. A partir dos extratos, o teor de cádmio, cálcio, magnésio, cobre, ferro, manganês e zinco foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica, usando equipamento Perkin Elmer AAnalyst 800® com atomizador tipo chama, o teor de potássio foi determinado por fotometria de chama, o teor de fósforo por colorimetria e o teor de enxofre por turbidimetria (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, 1999). O controle e a garantia da qualidade dos resultados das análises de Cd e nutrientes foram assegurados pelo uso de material de referência *Tomato Leaves*, do NIST (SRM 1573a, National Institute of Standards and Technology – NIST) em cada bateria de análise, bem

como de uma amostra em branco. Os resultados obtidos foram satisfatórios, com recuperação de 74% a 122%.

O acúmulo de cádmio e zinco, ou fitoextração de Cd e Zn por planta, foi calculado através da multiplicação da matéria seca produzida na parte aérea pela concentração do elemento no tecido vegetal.

A especiação do cádmio e zinco em solução nutritiva foi obtida através do programa Visual Minteq versão 2.53 (Gustaffson, 2007), objetivando verificar as principais formas de Cd e Zn presentes em cada concentração estudada e sua disponibilidade.

#### 4.4 Cálculo do FB e FT

A habilidade das plantas em tolerar e acumular elementos-traço é útil para a identificação de plantas com propósito de fitoextração e fitoestabilização. Esta habilidade pode ser mensurável através do fator de bioacumulação (FB) e do fator de translocação (FT), que são definidos como a concentração do elemento na planta em relação à concentração do elemento no solo e concentração do elemento na parte aérea em relação à concentração do elemento nas raízes, respectivamente.

Como o experimento foi realizado em solução nutritiva utilizaram-se, para os cálculos, as concentrações dos elementos presentes em solução, conforme fórmulas abaixo:

$$FB = \frac{[\text{elemento}]_{\text{parte aérea}}}{[\text{elemento}]_{\text{solução}}} \text{ e } \frac{[\text{elemento}]_{\text{raiz}}}{[\text{elemento}]_{\text{solução}}}$$

$$FT = \frac{[\text{elemento}]_{\text{parte aérea}}}{[\text{elemento}]_{\text{raízes}}}$$

onde  $[\text{elemento}]_{\text{parte aérea}}$  e  $[\text{elemento}]_{\text{raízes}}$  representam a concentração do elemento (cádmio ou zinco) na parte aérea e nas raízes ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), respectivamente, enquanto  $[\text{elemento}]_{\text{solução}}$  é a concentração do elemento (cádmio ou zinco) em solução nutritiva ( $\text{mg L}^{-1}$ ) (Lubben & Sauerbeck, 1991;

Srivastana et al., 2000; Baker & Whiting, 2002; Wei & Chen, 2006; Wei et al., 2006; González & Gonzáles-Chavez, 2006; Yoon et al., 2006; Branquinho et al., 2007; Jankong et al., 2007; Wang et al., 2007).

#### **4.5 Análises estatísticas**

Os resultados da produção de matéria seca e as concentrações de Cd, Zn e nutrientes na parte aérea e raízes foram submetidos à análise de variância, por meio do uso do programa estatístico Sisvar. As equações de regressão foram escolhidas pelo melhor ajuste, através do programa Table Curve 2D for Windows v. 2.03 (Jandel Corporation). O coeficiente de correlação de Pearson foi utilizado para determinar relações significativas entre a concentração de Cd e cada nutriente (P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn e Zn) na parte aérea e a concentração de Zn e cada nutriente (P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn e Cd) na parte aérea.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Produção de matéria seca

As plantas de *Alternanthera* sp. tiveram o crescimento normal em todas as combinações de Cd e Zn em solução. As concentrações de Cd não influenciaram a produção de matéria seca, assim como as concentrações de Zn isoladamente, também não. No entanto, a interação Cd e Zn foi significativa, mostrando que existe uma combinação de Cd e Zn que proporciona uma maior produção de biomassa da parte aérea. O aumento das concentrações de Cd não exerceu efeito significativo sobre a produção de matéria seca das raízes nas diferentes concentrações de Zn (Figura 1). Da mesma forma, o aumento de cádmio não influenciou a produção de matéria seca da parte aérea e matéria seca total de *Alternanthera* sp. nas concentrações 2 e 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Zn (Figura 1). No entanto, na maior concentração de Zn (300  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) houve diferença na produção de matéria seca da parte aérea e total que foi maior na menor concentração de Cd (5  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ). Nota-se ainda que, a partir da concentração 25  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Cd houve menor produção, que não diferiu da produção obtida na concentração 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Cd (Figura 1).

A produção de biomassa foi favorecida pela mais alta concentração de Zn associada a uma pequena concentração de Cd, na proporção de Zn:Cd de 60:1.

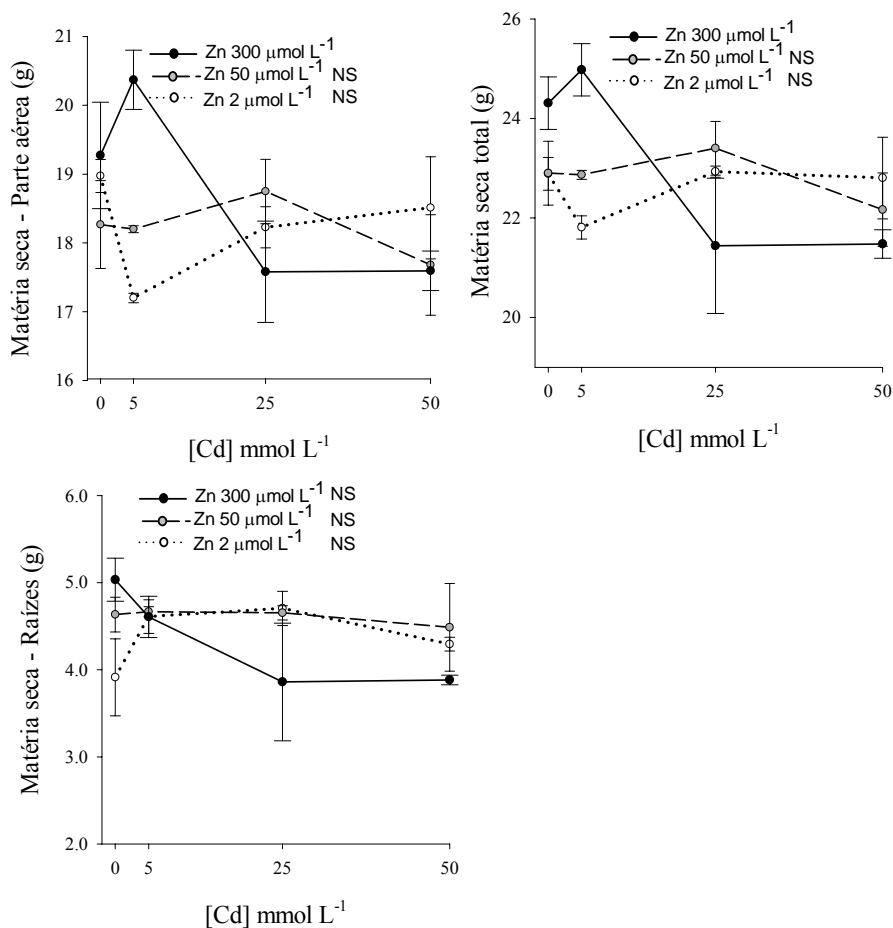


FIGURA 1 Produção de matéria seca da parte aérea, das raízes e produção total de *Alternanthera* sp. em função de concentrações crescentes de cádmio e zinco em solução nutritiva. NS = não significativo.

Nas concentrações 2 e 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Zn, independentemente da concentração de Cd, as plantas não apresentaram sintomas de toxidez ou de deficiência nutricional (Figura 2 A e B). No entanto, no tratamento com a maior



concentração de Zn ( $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) e maior concentração de Cd ( $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), as plantas apresentaram leve clorose nas folhas mais novas conforme pode ser visto na Figura 2 (C). Esse sintoma parece estar associado a toxidez de Zn, pois, de maneira geral, ocorre clorose de folhas, semelhantemente à deficiência de Fe (Fontes & Cox, 1998). Para Breckle & Kahle (1992), a ocorrência de clorose pode estar relacionada com a deficiência múltipla de vários elementos que participam da formação, multiplicação e funcionamento de cloroplastos, ou na síntese de clorofila. Essa deficiência de nutrientes pode ser resultado da inibição competitiva que o Zn pode exercer na absorção de outros íons (Malavolta, 1994). Apesar destas afirmações, torna-se difícil separar a influência do Cd e do Zn neste início de sintomatologia.

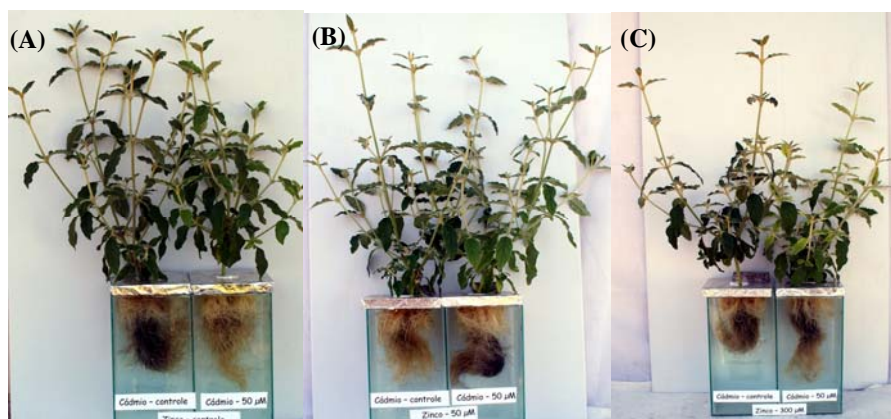


FIGURA 2 Crescimento da parte aérea e raízes de *Alternanthera* sp. em solução nutritiva controle (a esquerda) e  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Cd (a direita) em função de concentrações crescentes de Zn; (A) 2, (B) 50 e (C)  $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Foto obtida no 42º dia após exposição aos elementos.

O fato da *Alternanthera* sp. ter crescido e não ter apresentado grande diferença na produção de biomassa, mesmo nas concentrações mais elevadas de Cd e Zn, reafirma a hipótese de que as plantas tolerantes são endêmicas de solos

poluídos e sugere significativa adaptação ecofisiológica, manifestando resistência à contaminação do solo com elementos-traço, que no caso do Cd, nunca ocorre isoladamente em ambientes naturais, mas aparece como um metal acompanhante em minerais ricos em Zn e Pb (Baker et al., 1990). Portanto, esta tolerância múltipla demonstra o seu potencial para ser utilizada como espécie fitorremediadora em áreas com elevados teores de Cd e Zn, como em áreas de extração de minério de zinco ou áreas de depósito de rejeitos do processamento de zinco.

### 5.2 Especiação de Cd e Zn na solução

Os resultados da especiação de Cd na maior concentração ( $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) e na maior concentração de Zn ( $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) em solução nutritiva de Clark revelaram que 76,43% do Cd estava na forma  $\text{Cd}^{+2}$ , 12,15% como  $\text{CdEDTA}^{-2}$ , 4,94% como  $\text{CdSO}_{4(\text{aq})}$ , 2,65% como  $\text{CdHPO}_{4(\text{aq})}$ , 2,64% como  $\text{CdCl}^{+}$ , 1,08% como  $\text{CdNO}_3^{+}$ , 0,06% como  $\text{CdEDTA}^{-1}$  e 0,05 como  $\text{Cd}(\text{SO}_4)_2^{+2}$ . Para Zn, os resultados da especiação nessa mesma solução revelaram que 82,35% do Zn estava na forma  $\text{Zn}^{+2}$ , 10,40% como  $\text{ZnEDTA}^{-2}$ , 4,97% como  $\text{ZnSO}_{4(\text{aq})}$ , 1,16% como  $\text{ZnHPO}_{4(\text{aq})}$ , 0,92% como  $\text{ZnNO}_3^{+}$ , 0,09% como  $\text{ZnCl}^{+}$ , 0,06% como  $\text{ZnHEDTA}^{-1}$ , 0,03 como  $\text{Zn}(\text{SO}_4)_2^{-2}$  e 0,02% como  $\text{ZnOH}^{+}$ . Isso evidencia quase a totalidade do Cd e do Zn estavam dissolvidos em solução para serem absorvidos pelas plantas.

### 5.3 Concentração de Cd nas plantas

Com o acréscimo de Cd na solução, houve um acréscimo na concentração desse elemento na parte aérea e nas raízes de *Alternanthera* sp., em todas as concentrações de Zn estudadas. O maior teor de Cd na planta foi obtido na maior concentração de Cd (Figura 3). A interação Cd e Zn foi significativa para a concentração de Cd na parte aérea, o que demonstra que existiu uma

concentração de Cd e Zn que promoveu um maior teor de Cd em *Alternanthera* sp.. A concentração de Cd na parte aérea foi menor que a concentração nas raízes,  $[Cd]_{\text{parte aérea}} < [Cd]_{\text{raízes}}$ , independentemente da concentração de Zn.

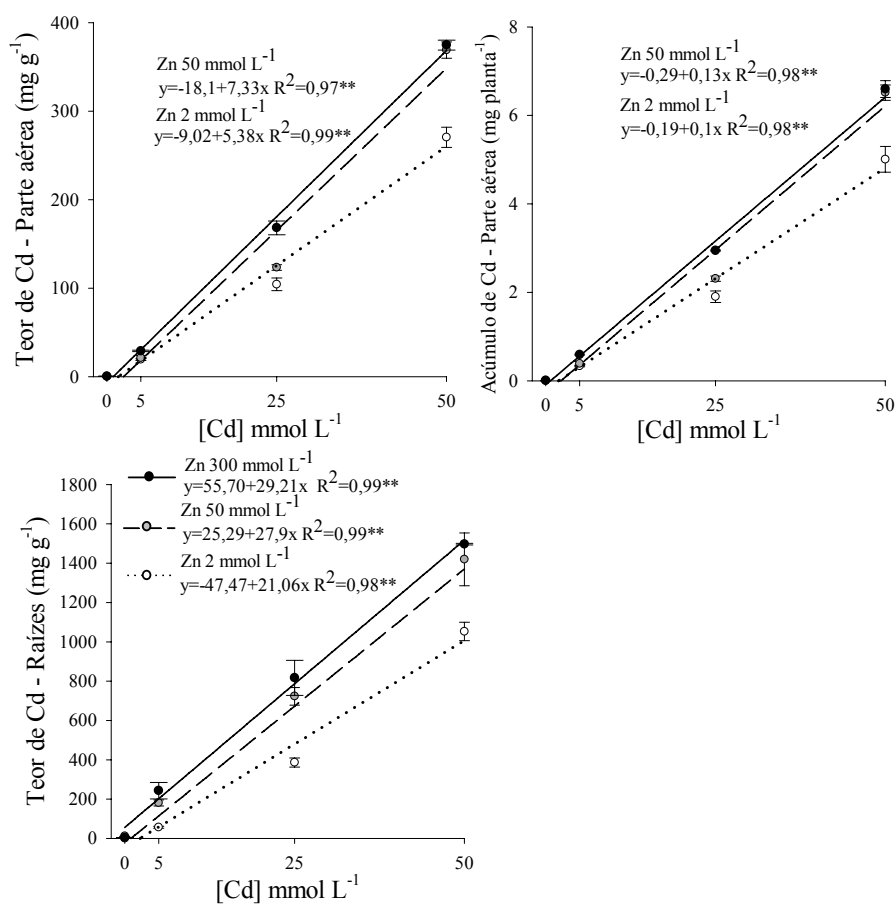


FIGURA 3 Concentração de Cd na parte aérea, raízes e acúmulo em plantas de *Alternanthera* sp. em função de concentrações crescentes de cádmio e zinco em solução nutritiva.

As concentrações de Cd na parte aérea e nas raízes aumentaram linearmente com o aumento da concentração de Cd na solução nutritiva. As concentrações 50 e 300  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Zn não apresentaram diferença significativa na concentração 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Cd e apresentaram o maior teor de Cd na parte aérea e raízes. Considerando a menor concentração de Zn na solução (2  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) e a maior concentração de Cd (50  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ), o valor estimado da  $[\text{Cd}]_{\text{raízes}}$  foi 1.005,53  $\text{mg kg}^{-1}$ , enquanto que  $[\text{Cd}]_{\text{parte aérea}}$  foi 259,98  $\text{mg kg}^{-1}$ . Da mesma forma, para a concentração 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Zn, a  $[\text{Cd}]_{\text{raízes}}$  foi 1.420,29  $\text{mg kg}^{-1}$  e a  $[\text{Cd}]_{\text{parte aérea}}$  foi 348,40  $\text{mg kg}^{-1}$ . Para a maior concentração de Zn (300  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) a  $[\text{Cd}]_{\text{raízes}}$  foi 1.516,20 e a  $[\text{Cd}]_{\text{parte aérea}}$  foi 368,44  $\text{mg kg}^{-1}$ .

Pode-se observar que na menor concentração de Cd (5  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ), a concentração de Zn na solução não influenciou o teor de Cd na planta. No entanto, em concentrações maiores de Cd (25 e 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ), as concentrações mais altas de Zn na solução propiciaram uma maior concentração de Cd na parte aérea. Isto pode ser melhor explicado pelos coeficientes angulares das equações da Figura 3. A medida que as concentrações de Zn em solução são aumentadas, houve aumento do coeficiente angular da equação para a concentração de Cd, ou seja, o aumento de Zn propicia o aumento de Cd, caracterizando sinergismo entre estes elementos.

Resultado semelhante foi encontrado por Yang et al. (2004), com a hiperacumuladora de Zn *Sedum alfredii* Hance. Da mesma forma, na hiperacumuladora de Cd e Zn *Thlaspi caerulescens*, a absorção de Cd não foi inibida pelo Zn, Cu, Mn e Fe (Zhao et al., 2002). No entanto, resultados diferentes foram encontrados na hiperacumuladora de Cd *Arabidopsis halleri*, pois em alta concentração de Zn (500  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) houve redução drástica da concentração de Cd na parte aérea e nas raízes (Küpper et al., 2000), o que implica que o sistema de absorção e transporte para Cd e Zn pode ser similar nessa hiperacumuladora.

A partir dos resultados obtidos, acredita-se que na hiperacumuladora de Cd *Alternanthera* sp., o sistema de absorção para Cd e Zn seja diferente, pois não houve competição na absorção deles. Nota-se que na maior concentração de Zn em solução houve maior absorção de Cd, caracterizando efeito sinérgico e que propiciou início de sintoma de toxidez, caracterizado pelo início de clorose nas plantas, quando ambos, Cd e Zn, estavam presentes em concentrações mais altas.

O acúmulo de Cd refere-se ao total de Cd transportado para a parte aérea e é calculado pela concentração de Cd, na parte aérea, multiplicado pela produção de matéria seca da parte aérea. A produção de matéria seca da parte aérea variou pouco em função do aumento das concentrações de Cd e Zn. No entanto, a concentração de Cd aumentou linearmente em função do incremento de Cd e Zn, demonstrando maior eficiência de fitoextração de Cd nas maiores concentrações de Cd e Zn. O parâmetro acúmulo é muito importante para avaliar o potencial de hiperacumulação da planta para ser utilizada na fitorremediação (Yang et al., 2002).

#### **5.4 Concentração de Zn nas plantas**

Com o acréscimo de Zn na solução, houve um acréscimo na concentração desse elemento na parte aérea e nas raízes de *Alternanthera* sp. em todas as concentrações de Cd estudadas (Figura 4). A interação Cd e Zn foi significativa para a concentração de Zn na parte aérea, existindo, então, uma concentração de Cd e Zn que promoveu um maior teor de Zn em *Alternanthera* sp.. A concentração de Zn na parte aérea foi menor que a concentração nas raízes,  $[Zn]_{\text{parte aérea}} < [Zn]_{\text{raízes}}$ , independentemente da concentração de Cd.

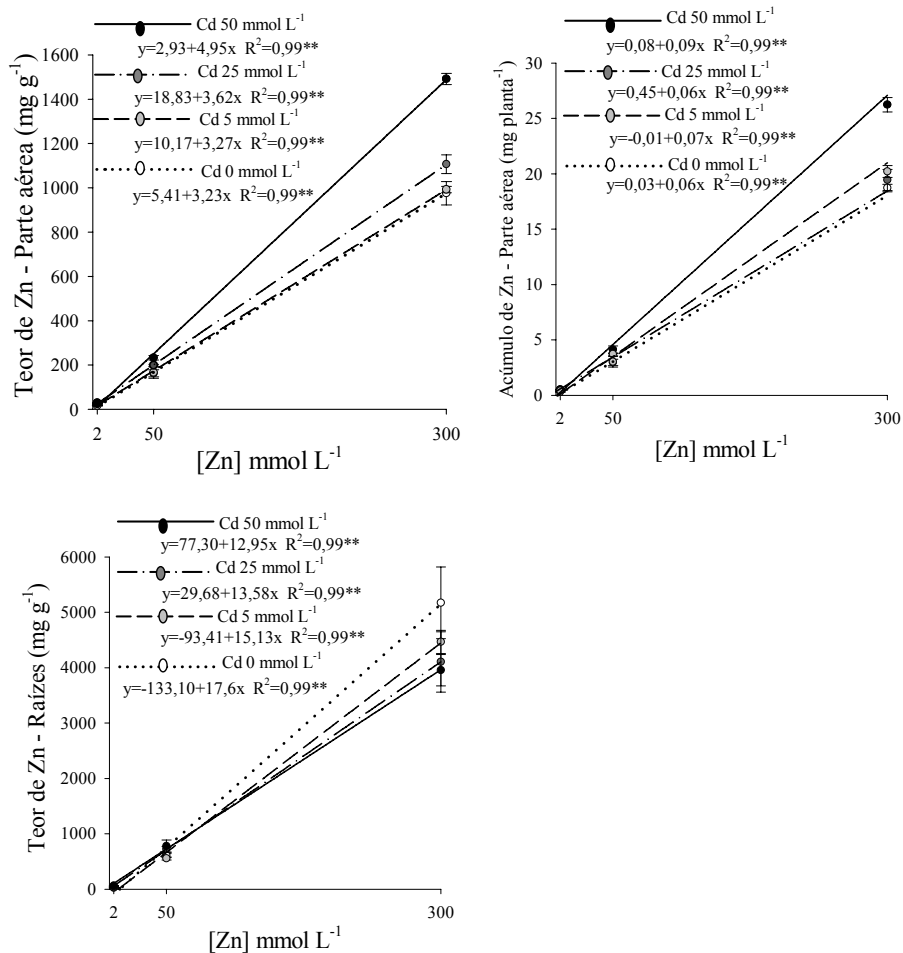


FIGURA 4 Concentração de Zn na parte aérea, nas raízes e acúmulo em plantas de *Alternanthera* sp. em função de concentrações crescentes de cádmio e zinco em solução nutritiva.

As concentrações de Zn na parte aérea e nas raízes aumentaram linearmente com o aumento da concentração de Zn na solução nutritiva. Nas concentrações 2 e 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Zn, o incremento das concentrações de Cd na

solução não interferiram na concentração de Zn da parte aérea e das raízes de *Alternanthera* sp. (Figura 4).

No entanto, na maior concentração de Zn ( $300\mu\text{mol L}^{-1}$ ), o aumento da concentração de Cd proporcionou maior concentração de Zn na parte aérea, sendo o maior valor encontrado no tratamento com  $300\mu\text{mol L}^{-1}$  de Zn e  $50\mu\text{mol L}^{-1}$  de Cd. Comportamento oposto foi encontrado para as raízes, que apresentaram menor concentração de Zn na raiz com o incremento das concentrações de Cd na solução nutritiva. Resultado semelhante foi encontrado por Yang et al. (2004), em experimento com a hiperacumuladora de Zn *Sedum alfredii* Hance, os quais observaram que o maior suprimento de Cd propiciou aumento no teor de Zn na parte aérea e menor absorção de Zn pelas raízes.

De acordo como os resultados, parece que a presença do Cd na maior concentração de Zn favoreceu a translocação de Zn, pois, houve maior concentração de Zn na parte aérea e menor concentração nas raízes. Considerando a maior concentração de Zn ( $300\mu\text{mol L}^{-1}$ ) e a maior concentração de Cd ( $50\mu\text{mol L}^{-1}$ ) o valor estimado da  $[\text{Zn}]_{\text{raízes}}$  foi  $3.962,30\text{ mg kg}^{-1}$  e a  $[\text{Zn}]_{\text{parte aérea}}$  foi  $1.487,93\text{ mg kg}^{-1}$ . Já para menor concentração de Cd ( $0\mu\text{mol L}^{-1}$ ), a  $[\text{Zn}]_{\text{raízes}}$  foi  $5.146,90\text{ mg kg}^{-1}$ , enquanto que  $[\text{Zn}]_{\text{parte aérea}}$  foi  $974,71\text{ mg kg}^{-1}$ . Para a concentração  $5\mu\text{mol L}^{-1}$  de Cd, a  $[\text{Zn}]_{\text{raízes}}$  foi  $4.445,59\text{ mg kg}^{-1}$  e a  $[\text{Zn}]_{\text{parte aérea}}$  foi  $991,17\text{ mg kg}^{-1}$ . Para a concentração  $25\mu\text{mol L}^{-1}$  de Cd, a  $[\text{Zn}]_{\text{raízes}}$  foi  $4.103,68$  e a  $[\text{Zn}]_{\text{parte aérea}}$  foi  $1.104,83\text{ mg kg}^{-1}$ .

A concentração de Zn na parte aérea de *Alternanthera* sp., apesar de ser inferior àquela concentração encontrada na raiz, demonstra que essa espécie tem a capacidade de acumular Zn na parte aérea, mesmo na presença de Cd. No entanto, essa concentração de Zn não é a mínima necessária,  $10.000\text{ mg kg}^{-1}$ , para classificá-la como hiperacumuladora de Zn (Baker & Brooks, 1989).

Reeves & Baker (2000) afirmam que deve-se ter interesse em qualquer espécie que possa acumular Zn na parte aérea em concentração próxima a  $3.000$

mg kg<sup>-1</sup> e, particularmente, se ela for capaz de co-accumular outro metal tóxico (como Cd e Pb). E este é o caso dessa espécie que é uma hiperacumuladora de Cd e indicadora de Zn e portanto, pode ser usada em programa de fitorremediação destes elementos.

### 5.5 Coeficientes de bioacumulação e translocação

Diversos trabalhos têm destacado a importância dos fatores de bioacumulação (FB>1) e translocação (FT>1) para a classificação da planta como hiperacumuladora (Lubben & Sauerbeck, 1991; Baker & Whiting, 2002; Wei et al., 2004; Wei et al., 2005; Gonzáles & Gonzáles-Chávez, 2006; Yoon et al., 2006; Branquinho et al., 2007). O FT demonstra a eficiência da planta no transporte do elemento das raízes para a parte aérea, enquanto o FB avalia a eficiência da planta em acumular o elemento em relação a uma determinada concentração (Nascimento & Xing, 2006).

Os fatores de bioacumulação (parte aérea e raiz) e translocação para Cd e Zn em *Alternanthera* sp. são apresentados nas Tabelas 1 e 2.

O FT de Cd e de Zn em *Alternanthera* sp. não foram superiores a 1 em nenhum tratamento, ou seja, houve uma certa restrição na translocação de Cd e Zn para a parte aérea.

A análise de FT de Cd, fixando a concentração de Cd e variando as concentrações de Zn, demonstrou que na menor concentração de Cd (5 µmol L<sup>-1</sup>), o aumento da concentração de Zn promoveu diminuição significativa do FT de Cd, ou seja, a presença do Zn diminuiu a translocação do Cd. Diferentemente, nas maiores concentrações de Cd (25 e 50 µmol L<sup>-1</sup>), o aumento das concentrações de Zn não influenciaram o FT de Cd (Tabela 1).

Ao fixar as concentrações de Zn e variar as de Cd, observou-se que na menor concentração, 2 µmol L<sup>-1</sup> de Zn, a translocação de Cd tendeu a ser maior na menor concentração de Cd (5 µmol L<sup>-1</sup>), mas não diferiu da maior



concentração de Cd ( $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). No entanto, quando o Zn estava em maiores concentrações ( $50$  e  $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) a translocação de Cd foi favorecida pelo aumento de sua concentração na solução (Tabela 1). Esta pode ser a principal explicação para o início de clorose nas plantas (Figura 2C).

TABELA 1 Fatores de translocação e bioacumulação (parte aérea e raiz) para cádmio em plantas de *Alternanthera* sp. expostas a concentrações crescentes de zinco e cádmio em solução nutritiva (desvio padrão entre parêntesis).

Concentrações de zinco ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	-----Concentrações de cádmio ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )-----		
	5	25	50
Fator de Translocação			
2	0,36 aA (0,03)	0,25 bA (0,02)	0,29 abA (0,08)
50	0,13 bB (0,05)	0,17 bA (0,02)	0,27 aA (0,04)
300	0,13 bB (0,04)	0,21 abA (0,07)	0,25 aA (0,01)
Fator de Bioacumulação da Parte Aérea			
2	35 bB (3)	37 bB (4)	48 aB (4)
50	38 bB(8)	44 bB (2)	66 aA (3)
300	52 bA(3)	60 abA (5)	67 aA (2)
Fator de Bioacumulação da Raiz			
2	67 bB(16)	137 abB (14)	187 aA (14)
50	321 aA(47)	257 aA (27)	253 aA (41)
300	432 aA (129)	291 bA (55)	266 bA (1)

Médias seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes pelo Teste de Tukey  $P < 0,05$ . Letras maiúsculas comparam médias na mesma concentração de Cd, letras minúsculas comparam médias dentro da mesma concentração de Zn.

Assim, as concentrações de Cd e Zn na solução podem influenciar a translocação do Cd em *Alternanthera* sp.

Para tentar minimizar os efeitos adversos à exposição de metais pesados, as plantas desenvolveram uma variedade de mecanismos de tolerância aos elementos-traço. Conforme Baker (1987), os mecanismos responsáveis pela tolerância de plantas a metais incluem a exclusão e a acumulação. Na exclusão,

a absorção é evitada, o que previne a entrada de íons no citosol. A imobilização de Cd na parede celular das raízes é a primeira importante barreira contra o estresse promovido pelo Cd (Nishizono et al., 1989) e há uma restrição na translocação para a parte aérea (Baker, 1987). A imobilização nas células da raízes, juntamente com os valores de FT baixos (Baker, 1987), associado a  $FB < 1$  (Lehmann & Rebele, 2004) podem caracterizar mecanismo de exclusão, visando a minimizar a toxidez do Cd (Baker, 1987). Já a acumulação de metais é caracterizada por mecanismo fisiológico que permite a absorção e acumulação de elevadas concentrações de metais pelas plantas, na parte aérea, com a compartimentalização em vacúolo (Baker, 1987; Dahmani-Muller et al., 2000).

Em *Alternanthera* sp., o FB de Cd das raízes foi maior que o FB da parte aérea, reafirmando a restrição na translocação. Mas ao mesmo tempo, o valor de FB (parte aérea e raiz) demonstrou a eficiência da planta em acumular o elemento sem redução no crescimento.

Fixando as concentrações de Cd, pode-se observar que independentemente da concentração (5, 25 ou 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ), com o aumento da concentração de Zn, houve um aumento no FB de Cd, tanto da parte aérea quanto das raízes, exceto na concentração 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Cd, onde o FB das raízes foi constante (Tabela 1). Desta forma, acredita-se que o Zn tenha efeito sinérgico no FB de Cd em *Alternanthera* sp.. Ao analisar as concentrações de Zn, variando-se as concentrações de Cd, pode-se observar que na concentração 2  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Zn, o aumento das concentrações de Cd proporcionou um aumento no FB de Cd tanto da parte aérea quanto das raízes. Na concentração 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Zn, o incremento de Cd aumentou o FB de Cd da parte aérea, mas não influenciou o FB de Cd das raízes. Já na maior concentração, 300  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Zn, o aumento de Cd promoveu o aumento no FB de Cd da parte aérea, no entanto, diminuiu o FB de Cd das raízes. O maior FB de Cd na parte aérea foi

obtido na maior concentração de Cd e Zn, demonstrando o efeito sinérgico do Zn no FB de Cd.

A acumulação de metais é caracterizada por mecanismo fisiológico que permite a absorção e acumulação de elevadas concentrações de metais pelas plantas na parte aérea (Baker, 1987; Dahmani-Muller et al., 2000). Isso ocorre através da síntese de peptídeos ou proteínas, como fitoquelatinas e metalotioneínas, que complexam o Cd, através da compartimentalização do Cd em vacúolo e do aumento do sistema de defesa antioxidante, que são os principais mecanismos envolvidos na destoxificação em plantas (Salt et al., 1998; Lugon-Moulin et al., 2004; Kirkham, 2006).

Os resultados mostram que *Alternanthera* sp. acumula Cd nos tecidos, mas tem certa restrição em translocá-lo das raízes para a parte aérea. O padrão de absorção de Cd encontrado foi linear, ou seja, a concentração de Cd interna refletiu a concentração externa, em outras palavras, o aumento da concentração de Cd na solução, promoveu um aumento na concentração de Cd na parte aérea.

Ao observar os resultados de FT de Zn, fixando-se as concentrações de Cd, independentemente da concentração, nota-se que o FT é maior na menor concentração de Zn ( $2 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), ou seja, o aumento da concentração de Zn promove uma diminuição no fator de translocação (Tabela 2).

Fixando-se as concentrações de Zn, observou-se que na concentração  $2 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Zn, à medida que aumentou-se a concentração de Cd, o FT de Zn diminuiu. Na concentração de  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Zn, o aumento nas concentrações de Cd não interferiu na translocação de Zn e na maior concentração de Zn ( $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), o acréscimo de Cd na solução promoveu aumento na translocação do Zn. Desta forma, as concentrações de Cd e Zn afetaram a translocação de Zn em *Alternanthera* sp..

O FB de Zn das raízes foi superior ao FB da parte aérea em todos os tratamentos. Ao analisar o FB da parte aérea, fixando-se as concentrações de Cd,

notou-se que, independentemente da concentração, o FB foi superior na menor concentração de Zn, ou seja, o acréscimo de Zn promoveu uma menor eficiência no acúmulo de Zn pela parte aérea. Ao fixar as concentrações de Zn, independentemente da concentração, percebeu-se que o acréscimo de Cd aumentou o fator de bioacumulação de Zn na parte aérea, sendo o maior FB obtido no tratamento com 2  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Zn e 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Cd.

TABELA 2 Fatores de translocação e bioacumulação (parte aérea e raiz) para zinco em plantas de *Alternanthera* sp. expostas a concentrações crescentes de zinco e cádmio em solução nutritiva (desvio padrão entre parêntesis).

Concentrações de zinco ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	-----Concentrações de cádmio ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )-----			
	0	5	25	50
Fator de Translocação				
2	0,77 aA (0,13)	0,81 Aa (0,02)	0,59 bA (0,02)	0,47 bA (0,03)
50	0,27 aB (0,08)	0,31 aB (0,10)	0,28 aB (0,03)	0,31aAB (0,06)
300	0,19 bB (0,03)	0,22 bB (0,02)	0,28 abB (0,07)	0,38 aB(0,05)
Fator de Bioacumulação da Parte Aérea				
2	121 cA (3)	179 bA(5)	211 aA (12)	215 aA (11)
50	50 bB (9)	51 bB (14)	61 abB (2)	71 aB (5)
300	50 bB (5)	51 bB (1)	56 bB (4)	76 aB (2)
Fator de Bioacumulação da Raiz				
2	160 cB (26)	222 cA (11)	360 bA (25)	460 aA (13)
50	185 aB (19)	169 aA (14)	220 aB (27)	237 aB (58)
300	264 aA (57)	228 aA (19)	209 aB (48)	202 aB (25)

Médias seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes pelo Teste de Tukey  $P < 0,05$ . Letras maiúsculas comparam médias na mesma concentração de Cd, letras minúsculas comparam médias dentro da mesma concentração de Zn.

Com relação ao FB das raízes, ao fixar a concentração de Cd, observou-se que na ausência do Cd, o aumento das concentrações de Zn propiciou uma maior eficiência de bioacumulação de Zn nas raízes. Na concentração 5  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Cd, o FB de Zn nas raízes não foi influenciado pelas concentrações de Zn. Já

nas maiores concentrações de Cd (25 e 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ), o aumento das concentrações de Zn diminuíram o FB de Zn nas raízes. Fixando-se as concentrações de Zn, na menor concentração de Zn (2  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ), o acréscimo das concentrações de Cd favoreceu a eficiência do acúmulo de Zn nas raízes. Já nas maiores concentrações de Zn (50 e 300  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) o FB de Zn não foi influenciado pelas concentrações de Cd.

Trabalhando com sementes de arroz, Homma & Hirata (1984) observaram que em concentrações maiores de Cd e Zn, a proporção de Zn absorvido em relação ao Cd absorvido era duas vezes maior quando ambos os íons estavam em concentração igual na solução nutritiva. Esse resultado não foi obtido nesse trabalho, pois quando Cd e Zn estavam na mesma concentração, 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , a concentração de Zn encontrada foi 3,55  $\text{mmol kg}^{-1}$  enquanto a de Cd foi 3,28  $\text{mmol kg}^{-1}$ , ou seja, a *Alternanthera* sp. absorveu aproximadamente a mesma quantidade de Cd em relação a Zn quando ambos estavam em concentração igual na solução nutritiva.

### **5.6 Nutrientes na planta e correlações com Cd e Zn**

Poucos são os estudos que relacionam a influência da presença do Cd sobre a concentração de nutrientes em plantas. Deve-se empenhar esforços no sentido de se conhecerem as conseqüências da presença do Cd, juntamente com o Zn, não só em termos de sobrevivência das plantas, mas quanto aos seus efeitos sobre a nutrição, que é fator essencial para o desenvolvimento das espécies vegetais. Desta forma, o entendimento da relação entre a absorção de Cd e Zn e a nutrição da planta é essencial para o desenvolvimento de estratégias eficientes para o crescimento e sobrevivência de plantas e, conseqüentemente, para a fitoextração desses elementos em programas de fitorremediação.

As concentrações de P, K, Mg e S foram maiores nas plantas submetidas às maiores concentrações de Cd e Zn (Tabela 3).

TABELA 3 Concentração de macro e micronutrientes na parte aérea de *Alternanthera* sp. exposta a concentrações crescentes de Cd e Zn.

Concentrações de zinco ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	-----Concentrações de cádmio ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )-----			
	0	5	25	50
Fósforo ( $\text{g kg}^{-1}$ )				
2	0,08 bB	0,39 aA	0,33 aB	0,11 bC
50	0,29 aA	0,30 aA	0,22 aC	0,21 aB
300	0,11 bB	0,19 bB	0,48 aA	0,47 aA
Potássio ( $\text{g kg}^{-1}$ )				
2	23,67 bcA	27,91 aA	26,57 abA	22,66 cC
50	17,28 bB	18,60 bB	20,47 bB	28,18 aB
300	20,66 cA	19,31 cB	26,06 bA	31,63 aA
Cálcio ( $\text{g kg}^{-1}$ )				
2	16,07 aA	15,99 aA	14,89 aA	13,20 aA
50	10,94 aB	11,84 aB	11,46 aB	11,65 aA
300	9,90 aB	10,97 aB	10,24 aB	11,93 aA
Magnésio ( $\text{g kg}^{-1}$ )				
2	1,70 aA	1,95 aA	1,89 aA	1,70 aB
50	1,56 bA	1,48 bB	1,65 abA	1,93 aAB
300	1,68 bA	1,66 bB	1,70 bA	2,03 aA
Enxofre ( $\text{g kg}^{-1}$ )				
2	1,49 bB	1,65 abC	1,07 bC	2,23 aC
50	1,01 dB	2,47 cB	4,06 bB	4,80 aB
300	4,33 cA	3,76 cA	5,11 bA	5,88 aA
Cobre ( $\text{mg kg}^{-1}$ )				
2	7,03 aB	8,36 abA	9,41 aA	9,21 aA
50	8,37 aAB	8,18 aA	8,59 aA	9,83 aA
300	9,32 aA	5,08 cB	6,17 bcB	7,17 bB
Ferro ( $\text{mg kg}^{-1}$ )				
2	82,38 aA	77,88 aA	75,64 aA	45,28 bA
50	63,80 aB	38,81 bC	39,03 bB	20,58 cB
300	44,47 aC	55,91 aB	50,71 aB	50,00 aA
Manganês ( $\text{mg kg}^{-1}$ )				
2	34,75 bA	56,64 aA	53,26 aA	40,84 bA
50	40,53 aA	41,29 aB	43,51 aAB	43,21 aA
300	41,05 aA	35,81 aB	34,43 aB	43,05 aA

Médias seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes pelo Teste de Tukey  $P < 0,05$ . Letras maiúsculas comparam médias na mesma concentração de Cd, letras minúsculas comparam médias dentro da mesma concentração de Zn.

Yang et al. (2004) encontraram maior concentração de P em plantas de *Sedum alfredii* Hance submetidas a concentrações maiores de Cd. Maiores

concentrações de S e Mg foram encontradas na parte aérea de *Arabidopsis halleri* submetida a concentrações maiores de Cd (Küpper et al., 2000).

As concentrações de Ca em *Alternanthera* sp. não foram alteradas pelas concentrações de Cd. No entanto, foram alteradas pelas concentrações de Zn. Nas concentrações 0, 5 e 25  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Cd, o aumento da concentração de Zn diminuiu a concentração de Ca, já na maior concentração de Cd a presença do Zn não alterou a concentração de Ca.

As concentrações de Cu foram alteradas pelas concentrações de Zn e de Cd. As concentrações de Fe foram alteradas pelas concentrações de Zn dentro de todas as concentrações de Cd. Nas concentrações 0, 5 e 25  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , quanto menor a concentração de Zn em solução, maior a concentração do Fe na parte aérea. No entanto, na maior concentração de Cd (50  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ), a concentração de Fe foi menor somente no tratamento com 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Zn. Nota-se que houve um aumento na concentração de Fe na maior concentração de Zn.

Ao fixar a concentração de Zn, nas menores concentrações, 2 e 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , o acréscimo de Cd promoveu decréscimo na concentração de Fe, enquanto que na maior concentração de Zn, 300  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , as concentrações de Cd não exerceram influência sobre as concentrações de Fe.

Em experimento com *Arabidopsis halleri*, Küpper et al. (2000) observaram que nas maiores concentrações de Cd e Zn, houve um decréscimo nas concentrações de Fe e Mn na parte aérea. Neste trabalho, as concentrações de Mn não foram alteradas dentro das concentrações 50 e 300  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Zn em função do incremento de Cd.

As correlações entre a concentração de Cd e nutrientes na parte aérea das plantas de *Alternanthera* sp. nas diferentes concentrações de cádmio e zinco estão apresentados na Tabela 4.

O manganês foi o único nutriente que não apresentou correlação com a concentração de Cd, independentemente da concentração de Zn.

Para a concentração 2  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Zn, a concentração de Cd correlacionou-se negativamente com o Ca e o Fe e correlacionou-se positivamente com o S, Cu e Zn. Para a concentração 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Zn, a concentração de Cd correlacionou-se negativamente com o P e o Fe e correlacionou-se positivamente com o K, Mg, S, Cu e Zn. Para a concentração 300  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de Zn, a concentração de Cd não apresentou correlação negativa com nenhum nutriente, no entanto, correlacionou-se positivamente com o K, Mg, S e Zn. Küpper et al. (2000) observaram que o Mg e o Cd apresentaram correlação positiva a nível celular em *Arabidopsis halleri*, o que pode ser explicado como uma reação de defesa da planta. O aumento da concentração de Mg pode reduzir a substituição de Cd na molécula de clorofila, evitando os danos causado pelo excesso desse elemento.

TABELA 4 Correlação de Pearson entre concentrações de cádmio e nutrientes da matéria seca da parte aérea de plantas de *Alternanthera* sp. expostas a concentrações crescentes de cádmio e zinco em solução nutritiva .

	Concentração de Cd		
	Zn 2 $\mu\text{mol L}^{-1}$	Zn 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$	Zn 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$
P	-0,30 <sup>NS</sup>	-0,68 <sup>*</sup>	0,82 <sup>NS</sup>
K	-0,44 <sup>NS</sup>	0,96 <sup>**</sup>	0,95 <sup>**</sup>
Ca	-0,62 <sup>*</sup>	0,11 <sup>NS</sup>	0,58 <sup>NS</sup>
Mg	-0,21 <sup>NS</sup>	0,74 <sup>**</sup>	0,81 <sup>**</sup>
S	0,58 <sup>*</sup>	0,84 <sup>**</sup>	0,91 <sup>**</sup>
Cu	0,60 <sup>*</sup>	0,71 <sup>**</sup>	-0,10 <sup>NS</sup>
Fe	-0,84 <sup>**</sup>	-0,83 <sup>**</sup>	0,05 <sup>NS</sup>
Mn	-0,13 <sup>NS</sup>	0,23 <sup>NS</sup>	0,25 <sup>NS</sup>
Zn	0,75 <sup>**</sup>	0,77 <sup>**</sup>	0,95 <sup>**</sup>

\* Significativo a  $P < 0,05$ , \*\* Significativo a  $P < 0,01$  e NS não significativo. n = 12 parcelas



É interessante ressaltar que na maior concentração de Zn, a correlação negativa de Cd com o Fe deixou de existir e a correlação positiva existente entre a concentração de Cd e a concentração de Zn e de S foi maior. A explicação para o aumento da concentração de S está relacionada ao seu papel em compostos responsáveis pela detoxificação de Cd (e.g. fitoquelatinas), fato que tem sido bastante documentado. A grande maioria das plantas produz fitoquelatinas como resposta ao excesso de absorção de metais, incluindo Cd e Zn (Sun et al., 2005).

As correlações entre a concentração de Zn com os nutrientes na parte aérea das plantas de *Alternanthera* sp. nas diferentes concentrações de cádmio e zinco estão apresentadas na Tabela 5.

TABELA 5 Correlação de Pearson entre concentrações de zinco e nutrientes da matéria seca da parte aérea de plantas de *Alternanthera* sp. expostas a concentrações crescentes de cádmio e zinco em solução nutritiva.

	Concentração de Zn			
	Cd 0 $\mu\text{mol L}^{-1}$	Cd 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$	Cd 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$	Cd 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$
P	-0,22 <sup>NS</sup>	-0,85 <sup>**</sup>	0,75 <sup>*</sup>	0,97 <sup>**</sup>
K	-0,08 <sup>NS</sup>	-0,53 <sup>NS</sup>	0,26 <sup>NS</sup>	0,83 <sup>**</sup>
Ca	-0,66 <sup>NS</sup>	-0,71 <sup>*</sup>	-0,74 <sup>*</sup>	-0,19 <sup>NS</sup>
Mg	0,20 <sup>NS</sup>	-0,22 <sup>NS</sup>	-0,28 <sup>NS</sup>	0,56 <sup>NS</sup>
S	0,96 <sup>**</sup>	0,91 <sup>**</sup>	0,78 <sup>*</sup>	0,80 <sup>**</sup>
Cu	0,71 <sup>*</sup>	-0,92 <sup>**</sup>	-0,97 <sup>**</sup>	-0,72 <sup>**</sup>
Fe	-0,83 <sup>**</sup>	-0,19 <sup>NS</sup>	-0,34 <sup>NS</sup>	0,50 <sup>NS</sup>
Mn	0,49 <sup>NS</sup>	-0,63 <sup>NS</sup>	-0,90 <sup>**</sup>	-0,12 <sup>NS</sup>
Cd	0,25 <sup>NS</sup>	0,88 <sup>**</sup>	0,93 <sup>**</sup>	0,62 <sup>NS</sup>

\* Significativo a  $P < 0,05$ , \*\* Significativo a  $P < 0,01$  e NS não significativo. n = 9 parcelas

O Mg foi o único nutriente que não apresentou correlação com a concentração de Zn, independentemente da concentração de Cd. O S apresentou correlação positiva com as concentrações de Zn, independentemente da concentração de Cd. No entanto, em *Arabidopsis halleri*, a hiperacumulação de Zn não se correlacionou positivamente com as concentrações de S (Küpper et al., 2000).

No tratamento ausente em Cd, a concentração de Zn correlacionou-se negativamente com o Fe e correlacionou-se positivamente com o S e o Cu. Para a concentração  $5 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Cd, a concentração de Zn correlacionou-se negativamente com P, Ca e Cu e correlacionou-se positivamente com o S e Cd. Para a concentração  $25 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Cd, a concentração de Zn apresentou correlação negativa com Ca, Cu e Mn e correlacionou-se positivamente com P, S e Cd. Para a concentração  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Cd, a concentração de Zn apresentou correlação negativa com Cu e correlacionou-se positivamente com P, K e S e não apresentou correlação com o Cd. É interessante ressaltar que com o aumento das concentrações de Cd, a correlação negativa existente entre a concentração de Zn e a concentração de Fe deixou de existir.

## 6 CONCLUSÃO

O cádmio e o zinco apresentam sinergismo para absorção e transporte em *Alternanthera* sp.

O zinco aumenta a translocação de cádmio e vice-versa. Um sistema específico de transporte para cada um destes elementos existe nesta espécie.

A planta *Alternanthera* sp. é hiperacumuladora de cádmio, indicadora de zinco e pode ser utilizada em programas de fitorremediação para estabilizar áreas contaminadas com altas concentrações destes elementos.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; SCHAEFER, C. E. (Ed.). **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. v. 1, p. 299-352.
- ARAVIND, P.; PRASAT, M. N. V. Cadmium-zinc interactions in a hydroponic system using *Ceratophyllum demersum* L.: adaptive ecophysiology, biochemistry and molecular toxicology. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Piracicaba, v. 17, n. 1, p. 3-20, jan./mar. 2005.
- BAKER, A. J. M. Accumulators and excluders: strategies in the response of plants to heavy metals. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 3, n.1/4, p. 643-654, 1981.
- BAKER, A. J. M. Metal tolerance. **New Phytologist**, Cambridge, v. 106, n. 1, p. 93-111, May 1987.
- BAKER, A. J. M.; EWART, K.; HENDRY, G. A. F.; THORPE, P. C.; WALKER, P. L. The evolutionary basis of cadmium tolerance in higher plants. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON ENVIRONMENTAL CONTAMINATION, 4., 1990, Barcelona. **Anais...** Edinburgh: CEP Consultants, 1990. p. 23-29.
- BAKER, A. J. M.; WHITING, S. N. In search of the holy grail - a further step in understanding metal hyperaccumulation? **New Phytologist**, Cambridge, v. 155, n. 1, p. 1-4, July 2002.
- BAKER, A. M. J.; BROOKS, R. R. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements: a review of their distribution, ecology and phytochemistry. **Biorecovery**, Great Britain, v. 1, n. 2, p. 81-126, 1989.
- BRANQUINHO, C.; SERRANO, H. C.; PINTO, M. J.; MARTINS-LOUÇÃO, M. A. Revisiting the plant hyperaccumulation criteria to rare plants and earth abundant elements. **Environmental Pollution**, Barking, v. 146, n. 2, p. 437-443, Mar. 2007.

BRECKLE, S. W.; KAHLE, H. Effects of toxic heavy metals (Cd, Pb) on growth and mineral nutrition of beech (*Fagus sylvatica* L.). **Plant Ecology**, Dordrecht, v. 101, n. 1, p. 43-53, July 1992.

CATALDO, D. A.; GARLAND, T. R.; WILDUNG, R. E. Cadmium uptake kinetics in intact soybean plants. **Plant Physiology**, Washington, v. 73, n. 3, p. 844-848, Nov. 1983.

CHANEY, R. L. Crop and food chain effects of toxic elements in sludges and effluents. In: RECYCLING MUNICIPAL SLUDGES AND EFFLUENTS ON LAND, 1973, Champaign. **Anais...** Washington: National Association of State Universities and Land-Grant Colleges, 1973. p. 129-141.

CLARK, R. B. Characterization of phosphates in intact maize roots. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 23, n. 3, p. 458-460, May/June 1975.

DAHMANI-MULLER, H.; OORT, F. van; GÉLIE, B.; BALABANE, M. Strategies of heavy metal uptake by three plant species growing near a metal smelter. **New Phytologist**, Cambridge, v. 109, n. 2, p. 231-238, Aug. 2000.

DAS, P.; SAMANTARAY, S.; ROUT, G. R. Studies on cadmium toxicity in plants: a review. **Environmental Pollution**, Barking, v. 98, n. 1, p. 29-36, 1997.

DI TOPPI, L. S.; GABBRIELLI, R. Response to cadmium in higher plants: review. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 41, n. 2, p. 105-130, Apr. 1999.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: Ministério da Agricultura e Abastecimento, 1999. 370 p.

FONTES, R. L. F.; COX, R. Iron deficiency and zinc toxicity in soybean grown in nutrient solution with different levels of sulfur. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 21, n. 8, p. 1715-1722, Aug. 1998.

GONZÁLEZ, R. C.; GONZÁLEZ-CHÁVEZ, M. C. A. Metal accumulation in wild plants surrounding mining wastes. **Environmental Pollution**, Barking, v. 144, n. 1, p. 84-92, Nov. 2006.

GREEN, C. E.; CHANEY, R. L.; BOUWKAMP, J. Interactions between cadmium uptake and phytotoxic levels of zinc in hard red spring wheat. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 26, n. 2, p. 417-430, Mar. 2003.

GUSTAFFSON, J. P. **Visual Minteq ver.2.53, KTH**. Stockholm: Department of Land and Water Resources Engineering, 2007. Disponível em: <<http://www.lwr.kth.se/English/OurSoftware/vminteq/>>. Acesso em: 10 fev. 2008.

HAWF, L. R.; SCHMID, W. E. Uptake and translocation of zinc by intact plants. **Plant and Soil**, The Hague, v. 27, n. 2, p. 249-260, Oct. 1967.

HOMMA, Y.; HIRATA, H. Kinetics of cadmium and zinc absorption by rice seedling roots. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 30, n. 4, p. 527-532, Dec. 1984.

JANKONG, P.; VISOOTTIVISETH, P.; KHOKIATTIWONG, S. Enhanced phytoremediation of arsenic contaminated land. **Chemosphere**, Oxford, v. 68, n. 10, p. 1906-1912, Aug. 2007.

KABATA-PENDIAS, A.; MUKHERJEE, A. B. **Trace elements from soil to human**. New York: Springer-Verlag, 2007. 550 p.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. 3. ed. Boca Raton: CRC, 2001. 413 p.

KIRKHAM, M. B. Cadmium in plants on polluted soils: effects of soil factors hyperaccumulation, and amendments. **Geoderma**, Amsterdam, v. 137, n. 1/2, p. 19-32, Dec. 2006.

KÜPPER, H.; LOMBI, E.; ZHAO, F. J.; MCGRATH, S. P. Cellular compartmentation of cadmium and zinc in relation to other elements in the hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*. **Planta**, Berlin, v. 212, n. 1, p. 75-84, Dec. 2000.

LASAT, M. M.; PENCE, N. S.; GARVIN, D. F.; EBBS, S. D.; KOCHIAN, L. V. Molecular physiology of zinc transport in the Zn hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, n. 342, p. 71-79, Jan. 2000.

LEHMANN, C.; REBELE, F. Assessing the potential for cadmium phytoremediation with *Calamagrostis epigejos*: a pot experiment. **International Journal of Phytoremediation**, London, v. 6, n. 2, p. 169-183, Apr. 2004.

LINDBLOM, S. D.; ABDEL-GHANY, S.; HANSON, B. R.; HWANG, S.; TERRY, N.; PILON-SMITS, E. A. H. Constitutive expression of a high-affinity sulfate transporter in Indian mustard affects metal tolerance and accumulation. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 35, n. 3, p. 726-733, May 2006.

LOMBI, E.; ZHAO, F. J.; MCGRATH, S. P.; YOUNG, S. D.; SACCHI, G. A. Physiological evidence for a high-affinity cadmium transporter highly expressed in a *Thlaspi caerulescens* ecotype. **New Phytologist**, Cambridge, v. 149, n. 1, p. 53-60, Jan. 2001.

LUBBEN, S.; SAUERBECK, D. The uptake and distribution of heavy-metals by spring wheat. **Water Air & Soil Pollution**, Dordrecht, v. 57, n. 1, p. 239-247, Aug. 1991.

LUGON-MOULIN, N.; ZHANG, M.; GADANI, F.; ROSSI, L.; KOLLER D.; KRAUSS, M.; WANGER, G. J. Critical review of the science and options for reducing cadmium in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) and other plants. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 83, p. 111-180, 2004.

MALAVOLTA, E. **Fertilizantes e seu impacto ambiental: micronutrientes e metais pesados, mitos, mistificações e fatos**. São Paulo: Produquímica, 1994. 153 p.

MENGEL, K.; KIRKBY, E. A. **Principles of plant nutrition**. 5. ed. Dordrecht: Kluwer Academic, 2001. 849 p.

NAN, Z.; LI, J.; CHENG, G. Cadmium and zinc interactions and their transfer in soil-crop system under actual field conditions. **Science of The Total Environment**, Amsterdam, v. 285, n. 1/3, p. 187-195, Fev. 2002.

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

NISHIZONO, H.; KUBOTA, K.; SUZUKI, S.; ISHII, F. Accumulation of heavy metals in cell walls of *Polygonum cuspidatum* roots from metalliferous habitats. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v. 30, n. 4, p. 595-598, June 1989.

PENCE, N. S.; LARSEN, P. B.; EBBS, S. D.; LETHAM, D. L. D.; LASAT, M. M.; GARVIN, D. F.; EIDE, D.; KOCHIAN, L. V. The molecular physiology of heavy metal transporter in the Zn/Cd hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 97, n. 9, p. 4956-4960, Apr. 2000.

RASKIN, I.; ENSLEY, B. **Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environmental**. New York: J. Wiley, 2000. 304 p.

REEVES, R. D.; BAKER, A. J. M. Metal-accumulating plants. In: RASKIN, H.; ENSLEY, B. D. (Ed.). **Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment**. London: J. Wiley, 2000. p. 193-230.

ROOSENS, N. H. C. J.; WILLEMS, G.; SAUMITOU-LAPRADE, P. Using Arabidopsis to explore zinc tolerance and hyperaccumulation. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 13, n. 5, p. 208-215, May 2008.

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

SCHAT, H.; TEN BOOKUM, W. M. Genetic control of copper tolerance in *Silene vulgaris*. **Heredity**, London, v. 68, p. 219-229, 1992.

SRIVASTANA, M.; MA, L. Q.; SANTOS, J. A. G. Three new arsenic hyperaccumulating ferns. **Science of the total environment**, Amsterdam, v. 364, n. 1/3, p. 24-31, July 2000.

SUN, Q.; WANG, X. R.; DING, S. M.; YUAN, X. F. Effects of interactions between cadmium and zinc on phytochelatin and glutathione production in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Environmental Toxicology**, New York, v. 20, n. 2, p. 195-201, Apr. 2005.

SYMEONIDES, L.; KARATAGLIS, S. Interactive effects of cadmium, lead and zinc on root growth of two metal tolerant genotypes of *Holcus lanatus* L. **Biomaterials**, London, v. 5, n. 3, p. 173-178, Sept. 1992.

THYS, C.; VANTHOMME, P.; SCHREVEENS, E.; DE PROFT, M. Interactions of Cd with Zn, Cu, Mn and Fe for lettuce (*Lactuca sativa* L.) in hydroponic culture. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 14, n. 7, p. 713-717, Sept. 1991.



UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Test methods for evaluating soil waste, physical/chemical methods SW-846**. 3. ed. Washington, 1995. Disponível em: <<http://www.epa.gov/SW-846/3051a.pdf>>. Acesso em: 1 ago. 2008.

WANG, H. B.; WONG, M. H.; LAN, C. Y.; BAKER, A. J. M.; QIN, Y. R.; SHU, W. S.; CHEN, G. Z.; YE, Z. H. Uptake and accumulation of arsenic by 11 *Pteris* taxa from southern China. **Environmental Pollution**, Barking, v. 145, n. 1, p. 225-233, Jan. 2007.

WEI, C. Y.; CHEN, T. B. Arsenic accumulation by two brake ferns growing on an arsenic mine and their potential in phytoremediation. **Chemosphere**, Oxford, v. 63, n. 6, p. 1048-1053, May 2006.

WEI, C. Y.; SUN, X.; WANG, W. Y. Factors influencing arsenic accumulation by *Pteris vittata*: a comparative field study at two sites. **Environmental Pollution**, Barking, v. 141, n. 3, p. 488-493, June 2006.

WEI, L.; SHU, W.; LAN, C. *Viola baoshanensis*, a plant that hyperaccumulates cadmium. **Chinese Science Bulletin**, Beijing, v. 49, n. 1, p. 29-32, Jan. 2004.

WEI, S. H.; ZHOU, Q. X.; WANG, X.; ZHANG, K. S.; GUO, G. L.; MA, L. A newly-discovered Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. **Chinese Science Bulletin**, Beijing, v. 50, n. 1, p. 33-38, Jan. 2005.

WELCH, R. M.; NORVELL, W. A. Mechanisms of cadmium uptake, translocation and deposition in plants. In: MCLAUGHLIN, M. J.; SINGH, B. R. (Ed.). **Cadmium in soils and plants**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1999. p. 125-150.

WONG, M. K.; CHUAH, G. K.; KOH, L. L.; ANG, K. P.; HEW, C. S. The uptake of cadmium by *Brassica chinensis* and its effect on plant zinc and iron distribution. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 24, n. 2, p. 189-195, 1984.

YANG, X. E.; BALIGAR, V. C.; MARTENS, D. C.; CLARK, R. B. Cadmium effects on influx and transport of mineral nutrients in plant species. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 19, n. 3/4, p. 643-656, Mar. 1996.

YANG, X. E.; LONG, X. X.; NI, W.; FU, C. *Sedum alfredii* H: A new Zn hyperaccumulating plant first found in China. **Chinese Science Bulletin**, Beijing, v. 47, n. 19, p. 1634-1637, Oct. 2002.

YANG, X. E.; LONG, X. X.; YE, H. B.; HE, Z. L.; CALVERT, D. V.; STOFFELLA, P. J. Cadmium tolerance and hyperaccumulation in a new Zn-hyperaccumulating plant species (*Sedum alfredii* Hance). **Plant and Soil**, The Hague, v. 259, n. 1/2, p. 181-189, Feb. 2004.

YOON, J.; CAO, X.; ZHOU, O.; MA, L. Q. Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 368, n. 2/3, p. 456-464, Sept. 2006.

ZHAO, F. J.; HAMON, R. E.; LOMBI, E.; MCLAUGHLIN, M. J. Characteristics of cadmium uptake in two contrasting ecotypes of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, n. 368, p. 535-543, Mar. 2002.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Já foram identificadas várias plantas hiperacumuladoras de metais pesados. A grande maioria foi encontrada colonizando áreas com altas concentrações de Zn, Cd e Pb, em solos com histórico de atividade de mineração, sendo a maioria distribuída na Europa e Austrália (Reeves & Baker, 2000; Baker et al., 2000). Até hoje, nenhuma espécie foi identificada como hiperacumuladora de Cd e Zn no Brasil. No entanto, conforme Reeves & Baker (2000), deve-se ter interesse em qualquer espécie que possa acumular Zn na parte aérea em concentração próxima a  $3.000 \text{ mg kg}^{-1}$ , e particularmente, se ela for capaz de co-acumular outro metal tóxico (como Cd e Pb). Desta forma, a coleta e identificação de *Alternanthera* sp. demonstra que o Cd e Zn podem ser absorvidos e removidos através da fitoextração. Através deste estudo, esta espécie pode ser validade como hiperacumuladora de Cd e indicadora de Zn, o que a torna uma atrativa opção para ser usada em programas de fitorremediação de solos. A eficiência da fitoextração é determinada pela quantidade total do elemento extraído pela planta, o qual é dependente de dois fatores principais: a concentração do elemento-traço na matéria seca e o total de biomassa produzida. A planta ideal para fitoextração seria aquela com crescimento rápido, sistema radicular abundante e de fácil propagação (Gosh & Sing, 2005). A *Alternanthera* sp., quando comparada com hiperacumuladoras de Cd e Zn, apresentou menor concentração de Cd e Zn nos tecidos, no entanto apresentou maior produção de biomassa.

Os resultados indicaram que há sinergismo na interação Cd e Zn para absorção e transporte. Um maior suprimento de Zn aumentou a translocação de Cd. E da mesma forma, em maiores concentrações de Zn, um maior suprimento de Cd aumentou a translocação do Zn. Esse resultado sugere a existência de um

sistema específico de transporte para o Cd e Zn. As concentrações dos nutrientes em função do maior suprimento de cádmio e zinco demonstraram que a tolerância de *Alternanthera* sp. pode estar associada à habilidade em manter o balanço nutricional dos elementos essenciais dentro da planta.

Outro aspecto positivo foi que essa espécie não apresentou dificuldades para propagação, podendo ser propagada sexuadamente (sementes) e assexuadamente (por estaquia e cultura de meristemas *in vitro*), além de possuir a vantagem de rebrotar após a colheita ou corte.

A descoberta desta nova hiperacumuladora de Cd *Alternanthera* sp. servirá como uma importante fonte de material vegetal para o entendimento dos mecanismos de co-hiperacumulação de Cd e Zn em plantas superiores. Além disso, a possibilidade de identificação de genes responsáveis pelo transporte, transformação e tolerância a metais pesados e o estudo de sua possível expressão em plantas com maior capacidade de produção de biomassa amplia as potencialidades da fitorremediação (Zhao & McGraph, 2009). Desta forma, *Alternanthera* sp. torna-se uma importante fonte destes genes para serem usados em programas de biotecnologia com espécies de clima tropical.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAKER, A. J. M.; MCGRATH, S. P.; REEVES, R. D.; SMITH, J. A. C. Metal hyperaccumulator plants: a review of the ecology and physiology of a biochemical resource for phytoremediation of metal polluted soils. In: TERRY, N.; BAÑUELOS, G. (Ed.). **Phytoremediation of contaminated soil and water**. Boca Raton: Lewis, 2000. p. 85-107.

GHOSH, M.; SINGH, S. P. A comparative study of cadmium phytoextraction by accumulator and weed species. **Environmental Pollution**, Barking, v. 133, n. 2, p. 365-371, Jan. 2005.

REEVES, R. D.; BAKER, A. J. M. Metal-accumulating plants. In: RASKIN, H.; ENSLEY, B. D. (Ed.). **Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment**. London: J. Wiley, 2000. p. 193-230.

ZHAO, F. J.; MCGRATH, S. P. Biofortification and phytoremediation. **Current Opinion in Plant Biology**, London v. 12, n. 3, p. 373-380, June 2009.