



ANA CAROLINA OLIVEIRA DUARTE

**ELEMENTOS TERRAS RARAS NAS
CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS,
FISIOLÓGICAS E NUTRICIONAIS DE *Pistia
stratiotes* L. (ARACEAE) E *Zea mays* L.
(POACEAE)**

LAVRAS – MG

2015

ANA CAROLINA OLIVEIRA DUARTE

**ELEMENTOS TERRAS RARAS NAS CARACTERÍSTICAS
ANATÔMICAS, FISIOLÓGICAS E NUTRICIONAIS DE *Pistia*
stratiotes L. (ARACEAE) E *Zea mays* L. (POACEAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Botânica Aplicada- Área de concentração Botânica Aplicada, para obtenção do título de Mestre.

Orientador

Dr. Sílvio Junio Ramos

Coorientadora

Dra. Cynthia de Oliveira

LAVRAS – MG

2015

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Duarte, Ana Carolina Olliveira.

Elementos terras raras nas características anatômicas, fisiológicas e nutricionais de *Pistia stratiotes* L. (Araceae) e *Zea mays* L. (Poaceae). / Ana Carolina Olliveira Duarte. – Lavras: UFLA, 2015.
80 p. : il.

Dissertação (mestrado acadêmico)—Universidade Federal de Lavras, 2015.

Orientador(a): Sílvio Junio Ramos.

Bibliografia.

1. ETR. 2. Milho. 3. Alface d'água. 4. Fotossíntese. 5. Teor de clorofila. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

ANA CAROLINA OLIVEIRA DUARTE

**ELEMENTOS TERRAS RARAS NAS CARACTERÍSTICAS
ANATÔMICAS, FISIOLÓGICAS E NUTRICIONAIS DE *Pistia*
stratiotes L. (ARACEAE) E *Zea mays* L. (POACEAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Botânica Aplicada- Área de concentração Botânica Aplicada, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 23 de fevereiro de 2015.

Dr. Guilherme Lopes UFLA

Dr. Fabrício José Pereira UFLA

Dr. Sílvio Junio Ramos
Orientador

Dra. Cynthia de Oliveira
Coorientadora

LAVRAS – MG

2015

Ao Fernando, meu pai, por ser um grande lutador pela educação, e por me ajudar a atravessar fronteiras.

À Elizânia, minha mãe, sempre presente e dedicada.

Às minhas irmãs, pela paciência e amizade.

Aos meus avós, pelo exemplo de vida e pelas orações.

Obrigada pelo incentivo sempre.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, às minhas irmãs e ao meu cunhado, pela dedicação, carinho e apoio incondicional, que permitiram que eu chegasse até aqui.

À Universidade Federal de Lavras, por possibilitar a realização deste sonho.

Ao Dr. Sílvio Ramos, pela orientação, apoio constante, ensinamentos e principalmente pela oportunidade concedida.

À Dra. Cynthia de Oliveira, pela coorientação, pelo auxílio e amizade, que foram fundamentais para minha formação.

Aos professores da Botânica Aplicada, pelo auxílio e conhecimentos adquiridos.

Ao Professor Valdemar Faquin, por permitir a utilização de laboratórios e casa de vegetação para condução dos experimentos.

Aos técnicos dos laboratórios que auxiliaram nas análises anatômicas, nutricionais e microscopia, pela disponibilidade e atenção.

Aos amigos e colegas, por todos os momentos divididos dentro e fora da UFLA: Marinês, Juliana Amorim, Juliana Bueno, Jessica Carvalho, Mírian, Daniel, Paulyene, Cassiana, Victor Hugo, Luíz Gustavo, Guilherme Silva, Guilherme Leite, Elícia, Laís e Sthéfane.

À Tia Nirlei, pela consideração, grande ajuda nessa trajetória e pelo exemplo de dedicação à pesquisa.

Aos colegas da Botânica Aplicada, pela convivência, amizade e troca de experiências.

Aos membros da banca examinadora, pela disponibilidade na avaliação deste trabalho.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada (PPGBA), pela oportunidade concedida para a realização do mestrado.

À CAPES, pela concessão da bolsa.

A Deus.

Obrigada!

*“Segue o teu destino,
Rega as tuas plantas,
Ama as tuas rosas.
O resto é a sombra
De árvores alheias.*

*A realidade
Sempre é mais ou menos
Do que nós queremos.
Só nós somos sempre
Iguais a nós-próprios”.*

*Fernando Pessoa
(1888-1935)*

RESUMO

Os elementos terras raras (ETR) são elementos químicos com propriedades semelhantes e incluem os lantanídeos, ítrio e escândio. Os ETR são componentes de produtos de alta tecnologia e também encontrados em fertilizantes. O milho é uma cultura importante, na qual se aplica grande quantidade de fertilizantes fosfatados, sendo importante avaliar os efeitos de ETR em seu crescimento. Em ambientes aquáticos, principalmente aos próximos a pilhas de fosfogesso, *Pistia stratiotes* poderia atuar como um filtro biológico e retirar os ETR que foram lixiviados. O presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito das concentrações de ETR sobre características anatômicas, nutricionais, e trocas gasosas de *Zea mays L.* e *Pistia stratiotes L.* As plantas de *Pistia stratiotes* foram colocadas em bandejas com solução nutritiva e contendo os seguintes tratamentos (0 controle), 10 μM de Ce, 40 μM de Ce; 10 μM de La, 40 μM de La; mistura de elementos contendo 10 μM de La e Ce, 3,5 μM de Sm e Gd e 5 μM de Nd (Mix1); mistura de elementos contendo 40 μM de Ce e La, 7 μM de Sm e Gd e 10 μM de Nd (Mix 2). Aos 45 dias, foram avaliadas as trocas gasosas, teor de clorofila, e anatomia de raízes e folhas. As plantas foram secas, pesadas e moídas, para a obtenção do teor de macro e micronutrientes e massa seca. As sementes de milho foram semeadas em vermiculita e transplantadas para solução nutritiva para adaptação. Cada planta foi instalada em 2 vasos, contendo de um lado apenas a solução nutritiva e do outro lado contendo solução sem P e concentrações crescentes de La (0 - controle), 25, 50, 100, 150, 300 e 600 μM de La na forma de $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Aos 12 dias foram avaliadas as trocas gasosas e teor de clorofila. As plantas foram secas, pesadas e moídas para a obtenção do teor de La e massa seca. Com a adição de ETR, houve redução do crescimento das plantas de *P. stratiotes* e menor investimento em sistema radicular. Os teores de clorofila e fotossíntese se mantiveram aos 45 dias. Houve aumento na transpiração, para a manutenção do fluxo. A coifa aumentou nos tratamentos de La como forma de proteção. A absorção de alguns macro e micronutrientes reduziu em virtude da redução do sistema radicular. As barreiras foram espessadas nos tratamentos com Ce, logo, o elemento não chegou em grandes quantidades na parte aérea. Para o milho, as concentrações de La reduziram a taxa fotossintética, taxa transpiratória e teor de clorofila. Além disso, verificou-se redução no comprimento das raízes na solução contendo La.

Palavras-chave: ETR. Milho. Alface d'água. Fotossíntese. Clorofila.

ABSTRACT

The rare earth elements (REE) are chemical elements with similar properties including lanthanides, yttrium and scandium. The REE are components of high-tech products and also find in phosphate fertilizers. Maize is an important crop where is applied large amount of phosphate fertilizers, so it is important to evaluate the REE effects on their growth. In aquatic environments, mainly near of phosphogypsum piles, *Pistia stratiotes* could operate as a biologic filter and remove the REE that were leached. The aim of the present work was to evaluate the effect of REE concentrations in anatomical, nutritional and gas exchange of *Zea mays* L. and *Pistia stratiotes* L. The *P. stratiotes* plants were cultivated in trays containing nutrient solution with the following treatments – 0 (control), 10 μ M of Ce(NO₃), 40 μ M of Ce(NO₃); 10 μ M of La(NO₃), 40 μ M of La(NO₃); mixture of elements containing 10 μ M of La(NO₃) and Ce(NO₃), 3,5 μ M of Sm(NO₃) and Gd(NO₃), and 5 μ M of Nd(NO₃) (Mix1); mixture of elements containing 40 μ M of Ce(NO₃) and La(NO₃), 7 μ M of Sm(NO₃) and Gd(NO₃), and 10 μ M of Nd(NO₃) (Mix 2). After 45 days, the gas exchange, chlorophyll content and anatomy of root and leaves were evaluated. For maize experiment, the seeds were sown in vermiculite and, after two weeks, were transplanted to the Hoagland nutrient solution to adaptation. Each plant was cultivated in vases, containing in one side only the nutrient solution with 40% of ionic strength and in the other side the solution without P and with La concentration, like a twinned vases. With the REE addition, the *Pistia stratiotes* growth was reduced, especially on root in the treatments with Mix and La. However, the chlorophyll content and the transpiration were maintained during the 45 days. The root cap increased in treatments with La as a way protection, but it may have blocked the nutrients uptake. The levels of macro and micronutrients tended to remain in the root than shoots. The cell barriers in roots were thickened in the treatments with Ce, and this element did not arrived in large amount in the shoot and did not caused damages on photosynthetic system. After 12 days of maize cultivation, the net photosynthesis, the transpiration, the stomatal conductance, and Ci/Ca were evaluated using the equipment IRGA. The chlorophyll content was measure using the SPAD. The plants were dried at 60°, weighed and grounded to obtain the La content by determination in ICP-MS. The La applied promoted reduction on photosynthetic and transpiration rate, and also on chlorophyll content. Moreover, there was a reduction on length root and on plants growth.

Keywords: REE. Maize. Water lettuce. Photosynthesis. Chlorophyll.

LISTA DE FIGURAS

SEGUNDA PARTE

ARTIGO 1

- Figura 1** *Pistia stratiotes* aos 45 dias do tratamento com ETR..... 44
- Figura 2** Comparação entre o tratamento controle e Ce 45
- Figura 3** Comparação entre tratamento controle e La 45
- Figura 4** Secções transversais de folhas de *Pistia stratiotes* submetidas a diferentes concentrações de ETR. A=controle; B=10 mM Ce;C=40 mM Ce;D=10 mM La;E=40 mM La; F=Mix 1;G= Mix 2. Barras= 100 µm. (EPD- Epiderme da face adaxial; EPB-Epiderme da face abaxial; PA 50
- Figura 5** Secções transversais de raízes de *Pistia stratiotes* submetidas a diferentes concentrações de ETR. A=controle; B=10 mM Ce;C=40 mM Ce;D=10 mM La;E=40 mM La; F=Mix 1;G= Mix 2. Barras= 100 µm. (EPI-Epiderme; EX- Exoderme; END- Endoderme; COR- Córte; CA- Câmaras de Aerênquima; CI- Cilindro vascular) 53
- Figura 6** Secções transversal (A) e longitudinal (B-D) da raiz de *Pistia stratiotes* submetida ao tratamento com La.Seta indicando a coifa prolongada em tratamento com La (A). Secção longitudinal da raiz de *Pistia stratiotes* sem La (B) e submetida ao tratamento com La (10µM – C e 40 µM –D). Barra: 100µm..... 54
- Figura 7** Raízes de *Pistia stratiotes* submetidas a diferentes concentrações de ETR. A=controle; B=10 mM Ce;C=40 mM Ce;D=10 mM La;E e F=40 mM La; G=Mix 1;H= Mix 2. Barras= 1000 µm..... 54

ARTIGO 2

Figura 1 Plantas de milho aos 12 dias de tratamento com La72

Figura 2 Raízes de milho aos 12 dias com tratamento de $\text{La}(\text{NO}_3)_3$.
(A**:Sem P e sem La; A:Na presença de La e sem P; B:
Solução complete de Hoagland-Arnon)72

Figura 3 Peso seco (A), Translocação (B), Teor de La na raiz (C), Teor de La na parte aérea(D), Trocas gasosas (E) e Teor de clorofila (F) de plantas de milho submetidas à concentrações crescentes de La
.....72

LISTA DE TABELAS

SEGUNDA PARTE

ARTIGO 1

- Tabela 1** Teor de micronutrientes na raiz e parte aérea em *Pistia stratiotes* nas diferentes concentrações de ETR em solução nutritiva (Zn T- Teor total de Zn; Zn R- Porcentagem de Zn na raiz; Zn PA- Porcentagem de Zn na parte aérea; Fe T- Teor total de Fe; Fe R- P- Porcentagem de Fe na raiz; Zn Pa- Porcentagem de Zn na parte aérea; Cu T- Teor total de Cu; CuR- Porcentagem de Cu na raiz; Cu Pa- Porcentagem de Cu na parte aérea; Mn T- Teor total de Mn; Mn R- Porcentagem de Mn na raiz; Mn Pa- Porcentagem de Mn na parte aérea).....41
- Tabela 2** Teor de macronutrientes em raiz e parte aérea de *Pistia stratiotes* nas diferentes concentrações de ETR em solução nutritiva. (Mg T- Teor total de Mg; Mg R- Porcentagem de Mg na raiz; Mg PA- Porcentagem de Mg na parte aérea; Ca T- Teor total de Ca; Ca R- Porcentagem de Ca na raiz; Ca Pa- Porcentagem de Ca na parte aérea; K T- Teor total de K; KR- Porcentagem de K na raiz; K Pa- Porcentagem de K na parte aérea)43
- Tabela 3** Massa seca de plantas de *Pistia stratiotes* nas diferentes concentrações de ETR em solução nutritiva. (R-Raiz; PA – Parte aérea; T – Massa seca total da planta R/PA- Razão raiz parte aérea).....44
- Tabela 4** Trocas gasosas em plantas de *Pistia stratiotes* sob diferentes concentrações de ETR em solução nutritiva. (A – Taxa fotossintética; E – Taxa Transpiratória; gs – Condutância Estomática).....46

Tabela 5	Teor relativo de clorofila (SPAD) em plantas de Pistia stratiotes sob diferentes concentrações de ETR em solução nutritiva	47
Tabela 6	Espessura dos tecidos foliares de plantas de Pistia stratiotes nas diferentes concentrações de ETR em solução nutritiva. (ELI: Espessura do limbo; PAP: Parênquima paliçádico, DME: Diâmetro do metaxilema; PAER: Proporção de câmaras de aerênquima).....	48
Tabela 7	Espessura dos tecidos radiculares de plantas de Pistia stratiotes nas diferentes concentrações de ETR em solução nutritiva. (EPI: Epiderme; EXO: Exoderme; COR: Córtex; END: Endoderme; DME: Diâmetro do metaxilema; PAE: Proporção de aerênquima; PCI: Proporção do cilindro).....	52

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	14
1 INTRODUÇÃO	14
2 REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1 Efeitos de elementos terras raras relatados em plantas	20
2.2 Elementos terras raras em ambiente aquático	22
2.3 A macrófita <i>Pistia stratiotes</i>	24
2.4 <i>Zea mays</i>	25
3 CONSIDERAÇÕES GERAIS	26
REFERÊNCIAS	27
SEGUNDA PARTE	34
ARTIGO 1	34
Elementos terras raras nas características anatômicas, nutricionais e fotossintéticas de <i>Pistia stratiotes</i>	34
1 INTRODUÇÃO	36
2 MATERIAL E MÉTODOS	37
2.1 Locais de execução.....	37
2.2 Obtenção das plantas	37
2.3 Planejamento experimental.....	37
2.4 Análises do sistema fotossintético	38
2.5 Análise quantitativa da anatomia	38
2.6 Análise nutricional	39
2.7 Análise estatística	40
3 RESULTADOS	40
4 DISCUSSÃO	55
5 CONCLUSÕES	59
REFERÊNCIAS	61

ARTIGO 2	65
Efeito do La nas trocas gasosas, teor de clorofila e massa seca de <i>Zea mays</i>	65
1 INTRODUÇÃO	67
2 MATERIAL E MÉTODOS	69
2.1 Locais de execução	69
2.2 Condução do experimento	69
2.3 Análises do sistema fotossintético	70
2.4 Massa seca e teor de La	70
2.5 Análise estatística	71
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	71
4 CONCLUSÃO	76
REFERÊNCIAS	77

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

Os elementos terras raras (ETR) são compostos por 17 elementos químicos com propriedades químicas semelhantes entre si e incluem os lantanídeos, ítrio e escândio. Os ETR são componentes de diversos produtos, principalmente de alta tecnologia e, usualmente, são encontrados em fertilizantes. Como o uso e a demanda desses elementos são cada vez maiores, alguns autores classificam os ETR como poluentes emergentes (KULAKSIZ; BAU, 2007). Apesar de já se constatar concentrações elevadas de ETR em água, na China, concentrações residuais oficialmente permitidas de ETR em alimentos ou rações para animais não foram definidas (CHUA, 1998), e ainda hoje, não existe um limite de aplicação estabelecido.

Alguns pontos na pesquisa relacionada aos efeitos fisiológicos de ETR e seus impactos no crescimento das plantas precisam ser investigados detalhadamente, para que a aplicação e descarte destes elementos sejam viáveis e sustentáveis, além de se conhecer melhor os efeitos destes elementos nas plantas. Os ETR podem aumentar a atividade de hormônios vegetais, germinação de sementes, produtividade de culturas etc (EL-RAMADY, 2009).

Efeitos positivos, negativos ou nulos foram encontrados durante o crescimento e desenvolvimento das plantas e no rendimento final de culturas, tanto quantitativa quanto qualitativamente. As respostas normalmente diferem como resultado do método de aplicação, taxa de aplicação, concentração do ETR, ao tempo de exposição, e se o elemento está em mistura ou isolado.

O milho (*Zea mays*) é uma das culturas agrícolas de maior importância e na qual se aplica grande quantidade de fertilizantes fosfatados, nos quais os ETR estão presentes indiretamente. Logo, é importante avaliar os efeitos de ETR no crescimento dessa cultura, já que é alimento para milhares de pessoas e animais.

Outro material onde se também encontra ETR, de forma indireta, é no fosfogesso agrícola, que é subproduto da indústria de fertilizantes fosfatados, e que são estocados em pilhas a céu aberto. Quando esses elementos são lixiviados do fosfogesso, pode ocorrer de chegarem a corpos d'água (OLIVEIRA, 2007). As macrófitas apresentam boa produção de matéria seca e alta resistência a elevadas concentrações de elementos no meio de cultivo. Nesse sentido, em ambientes aquáticos, principalmente aos próximos a pilhas de fosfogesso onde poderá haver elevada concentração de ETR, a macrófita *Pistia stratiotes* poderia atuar como um filtro biológico.

Diante do exposto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito das concentrações de ETR sobre características anatômicas, nutricionais e trocas gasosas de *Pistia stratiotes* L (Araceae) e *Zea mays* L. (Poaceae).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A história dos elementos terras raras começou em 1787, quando Carl Axel Arrhenius, em uma excursão nas imediações de Ytterby, encontrou um mineral preto que nunca antes havia sido mencionado (EL-RAMADY, 2009). Hoje, sabe-se que ETR são elementos químicos pertencentes ao Grupo IIIB da Tabela Periódica, em um total de 17 elementos, com propriedades químicas muito semelhantes (IPPOLITO et al., 2007). Nesse grupo, estão incluídos o escândio (Sc) e ítrio (Y), e os lantanídeos com

números atômicos sucessivos (57-71). Os lantanídeos são: lantânio (La), cério (Ce), praseodímio (Pr), neodímio (Nd), promécio (Pm), samário (Sm), európio (Eu), gadolínio (Gd), térbio (Tb), disprósio (Dy), hólmio (Ho), érbio (Er), túlio (Tm), itérbio (Yb) e lutécio (Lu). O promécio não ocorre naturalmente na crosta terrestre, enquanto que todos os outros elementos ocorrem em vários tipos de minerais. Os ETR podem ser divididos em dois grupos: ETR leves e pesados. A distinção baseia-se nas propriedades físicas e químicas e no raio iônico. Os ETR leves são La, Ce, Pr, Nd, Pm, Sm e Eu e possuem maior ocorrência na natureza. Todos os outros elementos são considerados ETR pesados (TYLER, 2004; EL-RAMADY, 2009).

O total de reservas de ETR mundiais é estimado em 100 milhões de toneladas, e as regiões com grandes reservas de minério são a China (43%), Estados Unidos (13%), Austrália (5,2%), Índia (1,1%), Canadá (0,94%), África do Sul (0,39 %) e Brasil (0,08%). O Brasil apresenta depósitos com grande potencial de produção, com ocorrências de vários minerais como bastnaesita, monazita e apatita, visto que essa última é explorada comercialmente para a produção de fertilizantes fosfatados (LOUREIRO, 1994). Na apatita, ocorre naturalmente a substituição do Ca por ETR, é por isso que os fertilizantes são carreadores indiretamente de ETR.

Apesar da denominação de “terras raras”, estes elementos são relativamente abundantes na crosta terrestre. O nome “terras” é atribuído por terem sido encontrados na forma de óxidos, “raras” por inicialmente se acreditar que existissem apenas na região da Escandinávia, e também, pela dificuldade de se encontrar um ETR isolado na natureza. Na realidade, não são raros, representam 0,015 % da crosta terrestre e, portanto, são tão abundantes quanto cobre, chumbo e zinco, e ocorrem mesmo em concentrações mais elevadas do que o estanho, cobalto, prata e mercúrio

(WANG et al., 1998). As abundâncias médias de Ce, Y e La são 60, 20, 30 mg kg⁻¹, respectivamente (TYLER, 2004).

Os ETR são componentes essenciais na indústria, em produtos de alta tecnologia, metalurgia, cerâmicas, ímãs, petróleo, eletrônicos, dentre outros. Também são utilizados na medicina, Gd (meios de contraste para ressonância magnética) e La (tratamento de doença renal). Além dessas aplicações, os ETR são utilizados na agricultura, principalmente na China, e com pequena adesão de países como Japão e Coreia do Sul (WANG et al., 2012). Esses elementos estão presentes naturalmente em fertilizantes fosfatados, já que podem ser componentes do mineral que dá origem aos fertilizantes. Entretanto, na China ocorre o enriquecimento de fertilizantes com ETR desde 1970, com o objetivo de aumentar o rendimento das culturas (HU et al., 2002; D' AQUINO et al., 2009).

A indústria de fertilizantes chinesa produz 5 milhões de toneladas de adubo enriquecido com ETR, que são aplicados em 6,68 milhões de hectares, o que corresponde a aproximadamente 5% da área agrícola do país. O elevado uso de fertilizantes, bem como de produtos de alta tecnologia, vem aumentando os níveis de ETR no ambiente naquele país (TYLER, 2004). Na China, a elevada concentração de ETR já foi observada em solos adjacentes a zonas agrícolas com uso intensivo de fertilizantes enriquecidos (VOLOKH et al., 1990). Isso leva a uma preocupação crescente sobre o impacto que o acúmulo destes elementos pode causar no ambiente. Com essa preocupação, as concentrações máximas admissíveis de alguns ETR para as águas superficiais e solo, foram estabelecidas na Holanda (KUCERA et al., 2007), mas ainda não existem para o Brasil.

Portanto, até o momento, não há informações conclusivas sobre o impacto em longo prazo, dos solos enriquecidos indiretamente com ETR e os efeitos no crescimento das plantas, principalmente no Brasil. Estudos

sobre a absorção, acúmulo e distribuição dos ETR nos vegetais são pertinentes, considerando-se a importância direta ou indireta desses na cadeia alimentar (CUNHA et al, 2010). A fitotoxicidade de ETR ainda é pouco compreendida em ambientes agrícolas e aquáticos (THOMAS et al., 2013). O conhecimento também é limitado sobre a dose de acumulação de ETR em culturas agrícolas (XU et al., 2003). Os resultados de ensaios de campo e estudos de laboratório ainda são contraditórios e os resultados dependem das espécies vegetais, estágio fisiológico e dos tratamentos aplicados (DIATLOFF et al., 1995).

2.1 Efeitos de elementos terras raras relatados em plantas

Há um interesse crescente na bioacumulação de ETR, devido a ampla aplicação destes nas indústrias e agricultura (WANG et al., 2011). As plantas são componentes importantes no ecossistema e podem servir como um caminho no transporte de elementos e bioacumulação na cadeia alimentar (ZHU et al., 2008). Existem resultados divergentes sobre os efeitos de ETR sobre o crescimento e desenvolvimento das plantas, a maioria, provavelmente, devido aos efeitos de fatores como o pH do solo e doses de fertilizante aplicado. Os ETR não são considerados essenciais para as plantas, apesar de encontrar-se descritos na literatura, ganho de produtividade com a adição desses elementos (SHYAM; AERY, 2012).

Em condições naturais, os vegetais geralmente absorvem pouca quantidade de ETR. A concentração de ETR nas plantas não acumuladoras varia de 1 e 45 mg kg⁻¹ e algumas espécies são capazes de acumular altos teores, por exemplo, uma espécie de samambaia que é capaz de acumular 700 mg kg⁻¹ de La (FU et al., 2001). De maneira geral, a concentração de ETR em tecidos vegetais diminui na seguinte ordem: raízes, folhas, flores,

frutos e sementes (WEN et al., 2001). O acúmulo de ETR em plantas mostra-se dependente da disponibilidade dos elementos no substrato de cultivo (WU et al., 1983).

Muitos trabalhos foram realizados no intuito de mostrar os efeitos benéficos de ETR no crescimento de plantas, por promover o desenvolvimento de mudas, estimular o crescimento da raiz e parte aérea em culturas, tais como trigo (*Triticum aestivum* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.) e soja (*Glycine max* (L.) Merr.) (CHANG, 1991; WU et al., 1983; GUO et al., 1988; NI, 1995; SHYAM; AERY, 2012). Os aumentos de rendimento variam de 5% a 15% para diversas espécies sob várias condições de solo e disponibilidade de nutrientes (HU et al., 2002). Algumas respostas fisiológicas positivas em plantas, incluindo o desenvolvimento mais rápido, raízes maiores, folhagem mais verde e melhor coloração do fruto, em diferentes espécies, têm sido também relatadas (CHEN et al., 2000). Teor de clorofila, taxa fotossintética e produção de biomassa também podem ser aumentados por ETR (WU et al., 1983; D' AQUINO et al., 2009, LIU et al., 2011). Apesar de haver resultados positivos, negativos ou nulos, um efeito hormesis (fenômeno caracterizado por uma estimulação de baixa dosagem e uma inibição de alta dose) também é frequentemente observado (CALABRESE; BALDWIN, 2002).

Alguns autores defendem que Ce não é essencial para as plantas, mas em baixas concentrações seria benéfico, pois, o Mg no anel de porfirina na molécula de clorofila poderia ser substituído pelo Ce (NICODEMUS et al., 2009). Já o La foi apontado como um antagonista de Ca, já que os raios iônicos são semelhantes, competindo por sítios que normalmente o Ca se liga. Acredita-se, então, que La poderia substituir Ca em funções, no entanto, essa competição poderia ser responsável por efeitos negativos, até toxicidade para as plantas (SHAN et al., 2003).

O conhecimento da localização e o mecanismo de ETR em células das plantas ainda são limitados e permanecem controversos (YUAN et al., 2001). Ensaios de campo e estudos de laboratório ainda são contraditórios e por vezes inconsistentes. Desta maneira, muitos questionamentos sobre os mecanismos dos efeitos de ETR, acumulação e toxicidade ainda estão em aberto.

2.2 Elementos terras raras em ambiente aquático

Com a crescente utilização em produtos de alta tecnologia, os ETR são apontados como micropoluentes ou microcontaminantes em países da Europa (KULAKSIZ; BAU, 2007). Isso apresenta consequências ambientais significativas, uma vez que ETR lixiviados podem afetar ecossistemas aquáticos (PROTANO; RICCOBNO, 2002). Os ETR encontrados em maior quantidade no ambiente aquático são Ce, La, Y e Nd, tal como no solo.

Devido às atividades de mineração, em minérios portadores secundários de ETR, grandes quantidades de ETR podem ser liberadas em corpos d'água, por duas maneiras: descarga direta de águas residuais industriais que contém ETR ou pela lixiviação em solos que são enriquecidos com esses elementos. Indústrias de fertilizantes operando ao longo de margens de rios produzem um grande volume de fosfogesso, um subproduto industrial formado durante a produção de fertilizantes fosfatados e usados regularmente na agricultura (ZIELIINSK et al., 2011). Durante o processo industrial, o filtrado de fosfogesso é bombeado para lagoas próximas, onde permanece por um período suficiente para permitir sua deposição (OLIVEIRA et al., 2007). Grandes volumes de fosfogesso são geralmente armazenados em pilhas expostas que estão sujeitas a lixiviação pela chuva, erosão e transporte pelo vento ou água. O crescimento na

produção de fertilizantes fosfatados requer uma investigação aprofundada sobre os teores de ETR no solo e na água nos locais, ou proximidades de onde os fertilizantes são fabricados e onde o fosfogesso é estocado (VOLOKH et al., 1990).

Os ETR foram analisados em uma ampla variedade de ambientes aquáticos. Vários trabalhos mostram que as concentrações de ETR em ambientes aquáticos, próximos às pilhas de fosfogesso, são elevadas (PROTANO; RICCOBNO, 2002; OLIVEIRA et al., 2007; LEYBOURNE; JOHANNESSON, 2008; SANDERS, 2013; LIN et al., 2013). A concentração total de ETR variou de 73,5-203,5 mg kg⁻¹ em estuários na Espanha devido a influência da indústria de fertilizantes (LIN et al., 2013). No estuário de Santos, o fosfogesso é armazenado (4.000 toneladas por dia) em pilhas próximas ao Rio Mogi e quando se analisa sedimentos profundos, nota-se que são livres de contaminação, pois, são do período anterior à deposição de resíduos de fosfogesso nas margens do estuário (OLIVEIRA et al., 2007).

Nos sedimentos costeiros da cidade de Pozzallo, a distribuição de ETR é fortemente influenciada por fontes antropogênicas associadas aos efluentes provenientes de fosfogesso e da produção de fertilizantes. O primeiro relatório de impacto antropogênico grave na distribuição de ETR em recursos naturais ocorreu em 1996, e revelou alterações no conteúdo de Gd na água do Rio Reno. Ao longo dos últimos anos, essas anomalias também foram encontradas em rios, lagos e águas subterrâneas da Europa, Ásia, América do Sul e Austrália (ELBAZ - POULICHET et al., 2002).

2.3 A macrófita *Pistia stratiotes*

Pistia stratiotes, conhecida popularmente como alface d'água, erva-de-santa-luzia, lentilha-d'água, mururé, golfo, muréré-pagé e pagé é uma macrófita flutuante pertencente à família Araceae. Nativa da região sul do continente americano é distribuída mundialmente e considerada como espécie ornamental, auxiliando na estética de ambientes aquáticos artificiais, e também possui propriedades medicinais (LORENZI, 2000).

As macrófitas representam uma importante comunidade em ecossistemas aquáticos. Algumas espécies são utilizadas com sucesso na recuperação de rios e lagos poluídos, pois suas raízes formam uma densa rede capaz de absorver elementos na água. Macrófitas são produtoras primárias, participam da ciclagem e armazenamento de nutrientes, do controle da poluição e eutrofização, além de serem utilizadas como abrigo e alimento para a fauna (CERVI et al., 2009).

Pistia stratiotes possui folhas dispostas em rosetas, são espatuladas, obtusas, com a face superior de cor verde aveludada, pulverulentas, tendo sete nervuras simples e longitudinais, e a face inferior é de cor verde pálida esbranquiçada. Apresenta porte herbáceo, acaule, estolonífera, com propagação sexuada e assexuada por meio de seus estolões, cuja via preferencial de reprodução é a vegetativa (LORENZI, 2000). A inflorescência é pequena e de cor branca e creme, crescendo a partir do centro da roseta e rodeada por brácteas (SCHULTHORPE, 1967). Devido a sua alta capacidade de reprodução vegetativa e rápido crescimento, *P. stratiotes* geralmente é responsável pela formação de densos tapetes de plantas, em ambientes eutrofizados (COELHO et al., 2005).

P. stratiotes tem sido utilizada para a remoção de mercúrio de efluentes de mineração, por acumular o metal em suas raízes (ESPINOZA-

QUIÑONES et al., 2009), indicada para remoção de nitrogênio, fósforo e sólidos suspensos na água, melhorando a qualidade dos sistemas aquáticos (LU et al., 2010), para o tratamento de esgoto urbano devido a sua elevada taxa de crescimento (ZIMMELS et al., 2006), fitorremediação de metais pesados (OLIVEIRA, 2010; SILVA et al., 2013), e eficácia no tratamento de efluentes de aquicultura (AKINBILI, YUSOFF, 2012).

2.4 *Zea mays*

O cultivo de milho é altamente beneficiado pela tecnologia e pelas inovações da pesquisa agrícola, sendo um dos principais casos de sucesso da chamada ‘revolução verde’. O Brasil é o 3º produtor mundial de milho, ficando atrás de EUA e China (FAO, 2014), sendo que a maior parte da produção concentra-se nas regiões sul, sudeste e centro-oeste. A cultura é importante, devido ao seu alto potencial produtivo em relação aos outros cereais e à ampla adaptabilidade ambiental, além de ser uma das que recebem as maiores doses de fertilizantes fosfatados no Brasil. O milho tem importância expressiva no cenário agrícola mundial, dado a extensão de áreas cultivadas, às diferentes formas de uso e ao papel socioeconômico que representa. É consumido diretamente como alimento ou compondo alimentação animal, além da produção de elementos espessantes e colantes e na produção de biocombustíveis (ESPINDOLA, 2009).

Alguns trabalhos avaliaram o efeito de ETR em plantas de milho, e mostram que a aplicação de Ce nas sementes promoveu o aumento da germinação e vigor, além disso, La e Ce aumentaram os comprimentos das plantas e massa seca (ESPINDOLA, 2009). Uma mistura de ETR aumentou a atividade de SOD, produção e resistência ao estresse em plantas de milho (EMMANUEL, 2010). A adição de ETR mostrou-se dependente da dose,

onde 10 mg kg^{-1} resultou em aumento no conteúdo de La nas raízes, já a dose mais elevada (50 mg kg^{-1}), reduziu o transporte do La absorvido (XU et al., 2003).

3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Frente à possibilidade da utilização de ETR como alternativa para aumentar o rendimento de culturas agrícolas, estudos mais abrangentes são necessários para uma comprovação e melhor compreensão da participação desses elementos nos processos fisiológicos, nutricionais e anatômicos de plantas.

REFERÊNCIAS

- AKINBILE, C. O.; YUSOFF, M. S. Assessing Water Hyacinth (*Eichhornia Crassipes*) and Lettuce (*Pistia Stratiotes*) Effectiveness in Aquaculture Wastewater Treatment. **International Journal of Phytoremediation**, v. 14, n. 3, p. 201-211, mar. 2012.
- CALABRESE, E.; BALDWIN, L. Defining hormesis. **Hum. Exp. Toxicol.**, v. 21, p. 91-97, 2002.
- CERVI, A.C. et al. Macrófitas aquáticas do Município de General Carneiro, Paraná, Brasil. **Biota Neotropica**. v. 9, n. 3, p. 215-222, 2009.
- CHANG J. Effects of lanthanum on the permeability of root plasmalemma and the absorption and accumulation of nutrients in rice and wheat. **Plant Physiol Commun**, v. 27, p. 17- 21, 1991.
- CHEN, W.J. et al. Effects of rare earth ions on activity of RuBP case in tobacco. **Plant Science**, v. 152, p. 145-151, 2000.
- CHUA, H. Bio-accumulation of environmental residues of rare earth elements in aquatic flora *Eichhornia crassipes* Mart . Solms in Guangdong Province of China. **Science and Environment**, v, 215, p. 79-85, 1998.
- COELHO, F.F.; DEBONI, L.; LOPES, F.S. Density-dependent reproductive and vegetative allocation in the aquatic plant *Pistia stratiotes* (Araceae). **Revista de Biologia Tropical**, San Jose, v. 53, n. 3/4, p. 369-376, sept./dec. 2005.
- CUNHA, M.C.L. et al. Absorção e Fracionamento dos Elementos Terras Raras por Vegetais: Estudo Comparativo em Plantas Ocorrentes em Diferentes Contextos Geológicos. **Geol. USP, Sér. cient.**, São Paulo, v. 10, n. 1, p. 53-59, mar. 2010.

D'AQUINO, L. et al. Effect of some rare earth elements on the growth and lanthanide accumulation in different *Trichoderma* strains. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, n. 12, p. 2406-2413, dec. 2009.

DIATLOFF E; ASHER C.J; SMITH F.W. Effects of rare earth elements on the growth and mineral nutrition of plants. In: Rare Earths in agriculture Seminar, **Australian Academ of Technologies and Engineering**, 1995.

ELBAZ-POULICHET, F.; SEIDEL, J.L; OTHONIEL, C. Occurrence of an anthropogenic gadolinium anomaly in river and coastal waters of Southern France. **Water Res.** , v. 36, p. 1102-5, 2002.

EL-RAMADY, H.R H. **A contribution on the bio-actions of rare earth elements in the soil/plant environment.** Dissertationen aus dem Julius Kühn-Institut, Egypt, 2009. 278 p.

EMMANUEL, E.S.C. et al. Efficacy of rare earth elements on the physiological and biochemical characteristics of *Zea mays*. **Australian Journal of crop science**, v. 4, n. 4, p. 289-294, 2010.

ESPINDOLA, M.C.G. **Tratamento de sementes de alface, milho, soja e feijão com elementos terras raras cério e lantânio.** 87 p. Tese (Doutorado em agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria. 2009.

ESPINOZA-QUIÑONES, F. R. et al. Kinetics of lead bioaccumulation from a hydroponic medium by aquatic macrophytes *Pistia stratiotes*. **Water, Air and Soil Pollution**, Amsterdam, v. 203, n. 1/4, p. 29-37, oct. 2009.

FAO. **Maize, rice and wheat:** area harvested, production quantity, yield. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Statistics Division, 2014.

FU, F.F. et al. The variation of REE (rare earth elements) pattern in soil-grown plants: a new proxy for the source of rare earth elements and silicon in plants. **Plant Soil**, v. 235, p. 53–64, 2001.

GUO, B.S. et al. **Rare earths in agriculture**. Agricultural Scientific Technological Press, Beijing: 1988. p. 23-208.

HU, X. et al. Bioaccumulation of lanthanum and cerium and their effects on the growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. **Chemosphere**, v. 48, n. 6, p. 621-9, ago. 2002.

IPPOLITO, P.M. et al. Effect of rare earth elements on growth and antioxidant metabolism in *Lemna minor* L. **Caryologia**, v. 60, n. 1, p. 125-128, 2007.

KUCERA J. et al. Pollution of agricultural crops with lanthanides, thorium and uranium studied by instrumental and radiochemical neutron activation analysis. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 271, n. 3, p. 581-587, 2007.

KULAKSIZ, S.; BAU, M. Contrasting behaviour of anthropogenic gadolinium and natural rare earth elements in estuaries and the gadolinium input into the North Sea. **Earth and Planetary Science Letters**, v. 260, n. 1-2, p. 361–371, ago. 2007.

LEYBOURNE, M.I.; JOHANNESSON, K.H. Rare earth elements (REE) and yttrium in stream waters, stream sediments, and Fe – Mn oxyhydroxides: Fractionation, speciation, and controls over REE + Y patterns in the surface environment. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 72, n. 24, p. 5962-5983, 2008.

LIN, C.; LIU, S.; HE, M. Distribution of rare earth elements in the estuarine and coastal sediments of the Daliao River System. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Pequim, v. 1, n. 42, p. 627-634, 2012.

LIU, X. et al. Content of rare earth elements in *Salvia miltiorrhiza* bunge from different areas. **Journal of Rare Earths**, v. 28, n. 83218, p. 510-512, dec. 2011.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais. São Paulo: Nova Odessa, 2000. 425p.

LOUREIRO, F.E.V.L. **Terras-raras no Brasil**: depósitos, recursos identificados, reservas. MCT, CNPq, CETEM, 1994.

LU, Q. et al. Phytoremediation to remove nutrients and improve eutrophic stormwaters using water lettuce (*Pistia stratiotes* L.). **Environmental Science Pollution Research**, Florida, v. 17, n. 1, p. 84-96, jan. 2010.

NI, J.Z. The use of rare earth elements in agriculture and medicine. In: **Bioinorganic Chemistry of Rare Earth Elements**. Science Press, Beijing, China, 1995. p. 13-55.

NICODEMUS, M.A.; SALIFU, K.F.; JACOBS, D.F. Influence of lanthanum level and interactions with nitrogen source on early development of *Juglans nigra*. **Journal of Rare Earths**, v. 27, n. 2, p. 270-279, apr. 2009.

OLIVEIRA, C. **Características morfoanatômicas e fisiológicas na avaliação do potencial bioindicador e fitorremediador de *Pistia stratiotes* L. na presença de cádmio, chumbo e arsênio**. 2010. 171 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

OLIVEIRA, S.M.B. et al. Rare earth elements as tracers of sediment contamination by phosphogypsum in the Santos estuary, southern Brazil. **Applied Geochemistry**, v. 22, n. 4, p. 837-850, apr. 2007.

PROTANO, G.; RICCOBONO, F. High contents of rare earth elements (REEs) in stream waters of a Cu-Pb-Zn mining area. **Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)**, v. 117, n. 3, p. 499-514, jan. 2002.

SANDERS, L.M. et al. Rare Earth Element and Radionuclide Distribution in Surface Sediments Along an Estuarine System Affected by Fertilizer Industry Contamination. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 224, n. 10, p. 1742, 28 set. 2013.

SCULTHORPE, C.D. **The Biology of Aquatic Vascular Plants**. London: Edward Arnold Ltda, 1967. 610p.

SHAN, X. et al. Accumulation and uptake of light rare earth elements in a hyperaccumulator *Dicropiteris dichotoma*. **Plant Science**, v. 165, n. 6, p. 1343-1353, dec. 2003.

SHYAM, R.; AERY, N.C. Effect of cerium on growth , dry matter production , biochemical constituents and enzymatic activities of cowpea plants [*Vigna unguiculata* (L .) Walp .]. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 12, n. 1, p. 1-14, 2012.

SILVA, S.A.E.; TECHIO, V.H.; CASTRO, E.M.; FARIA, M.R.; PALMIERI, M.J. (2013). Reproductive, Cellular, and Anatomical Alterations in *Pistia stratiotes* L. Plants Exposed to Cadmium. **Water, Air, & Soil Pollution**, 224(3), 1454. doi:10.1007/s11270-013-1454-z.

THOMAS, P.J. et al. Rare earth elements (REEs): Effects on germination and growth of selected crop and native plant species. **Chemosphere**, v. 96C, p. 57-66, feb. 2013.

TYLER, G. Rare earth elements in soil and plant systems: a review. **Plant and soil**, v, 267, p. 191-206, 2004.

VOLOKH, A.A. et al. Phosphorus fertilizer production as a source of rare earth elements pollution of the environment. **The Science of the Total Environment**, v. 95, p. 141-148, 1990.

WANG, L. et al. Geochemical characteristics of rare earth elements in different types of soils in China. **Journal of Rare Earths**, v. 16, n. 1, p. 51-58, 1998.

WANG, C. et al. Lanthanum resulted in unbalance of nutrient elements and disturbance of cell proliferation cycles in *V. faba* L. seedlings. **Biological trace element research**, v. 143, n. 2, p. 1174-81, nov. 2011.

WANG, Y. et al. Effects of cerium on growth and physiological characteristics of *Anabaena flosaquae*. **Journal of Rare Earths**, v. 30, n. 12, p. 1287-1292, dec. 2012.

WEN, B. et al. The influence of rare earth element fertilizer application on the distribution and bioaccumulation of rare earth elements in plants under field conditions. **Chemical Speciation and Bioavailability**, v. 13, n. 2, p. 39-48, 2001.

WU, Z.; TANG, X.; TSUI, C. Studies on the effect of rare earth elements on the increasement of yield in agriculture. **J. Chin. Rare Earth Soc.**, v. 1, n. 1, p. 70-75, 1983.

XU, X. et al. Accumulation of rare earth elements in maize plants (*Zea mays* L) after application of mixtures of rare earth elements and lanthanum. **Plant and Soil**, v. 252, p. 267-277, 2003.

YUAN, D. et al. Uptake and distribution of rare earth elements in rice seeds cultured in fertilizer solution of rare earth elements. **Chemosphere**, v. 43, n. 3, p. 327-37, abr. 2001.

ZHU, W.H et al. Bioavailable and total concentrations of rare earth elements in Hainan Island soils. **Ecol. Environ.**, v. 17, p.1244-1249, 2008.

ZIELINSKI, R.A. et al. Radionuclides, trace elements, and radium residence in phosphogypsum of Jordan. **Environmental geochemistry and health**, v. 33, n. 2, p. 149-65, apr. 2011.

ZIMMELS, Y. et al. Application of *Eichhornia crassipes* and *Pistia stratiotes* for treatment of urban sewage in Israel. **Journal of environmental management**, v. 81, n. 4, p. 420-8, dec. 2006.

SEGUNDA PARTE

ARTIGO 1: Elementos terras raras nas características anatômicas, nutricionais e fotossintéticas de *Pistia stratiotes*

RESUMO

Os elementos terras raras (ETR), são atualmente muito utilizados pela indústria, principalmente em ligas metálicas, supercondutores, ímãs, além de estar presente na composição de fertilizantes fosfatados. Os ETR possuem propriedades químicas semelhantes, são constituídos por 15 lantanídeos, ítrio e escândio. A utilização em grande escala e aumento das atividades de exploração de ETR pode resultar em aumentos substanciais nos níveis de contaminação do solo e da água em torno da área de mineração. *Pistia stratiotes* L. é uma macrófita e se mostrou eficiente na acumulação de vários elementos tóxicos e poluentes do ambiente aquático, assim, poderia acumular ETR nestes ambientes. Deste modo, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito das concentrações de ETR isolados e em mistura sobre características anatômicas, nutricionais e trocas gasosas e pigmentos fotossintetizantes de *Pistia stratiotes*. As plantas foram colocadas em bandejas com solução nutritiva e contendo os seguintes tratamentos: 0-controle, 10 μM de Ce, 40 μM de Ce; 10 μM de La, 40 μM de La; mistura de elementos contendo 10 μM de La e Ce, 3,5 μM de Sm e Gd e 5 μM de Nd (Mix1); mistura de elementos contendo 40 μM de Ce e La, 7 μM de Sm e Gd e 10 μM de Nd (Mix 2). Aos 45 dias foram avaliadas as trocas gasosas, teor de clorofila, e anatomia de raízes e folhas. As plantas foram secas, pesadas e moídas para a obtenção do teor de macro e micronutrientes e massa seca. Com a adição de ETR houve redução do crescimento das plantas e menor investimento no sistema radicular nos tratamentos com Mix e La. Porém, o teor de clorofila e fotossíntese se manteve aos 45 dias. Houve aumento na transpiração, para a manutenção do fluxo e permitir a chegada de nutrientes até a parte aérea. A coifa aumentou nos tratamentos de La como forma de proteção, no entanto, pode ter bloqueado a absorção de outros elementos. A absorção de alguns macro e micronutrientes reduziu, em virtude da redução do sistema radicular, e as maiores quantidades dos elementos tenderam a permanecer na raiz. As barreiras foram espessadas nos tratamentos com Ce, logo o elemento não chegou em grandes quantidades na parte aérea e não causou danos.

Palavras-chave: Alfaca d'água. ETR. Anatomia. Clorofila. Massa seca.

ABSTRACT

The rare earth elements (REE) are 17 chemical elements with similar chemical properties, which compose high-tech products. Currently, Chinese farmers use fertilizers with REE to improve the agricultural production. The La can increase the plant hormones activity, the seeds germination, and crop productivity. The maize was selected to this study, because is a widely cultivated in Brazil, and receives large amount of phosphate fertilizer, that carry the REE indirectly. The aim of this work was to determine the effects of La on plants growth, the La concentration and the gas exchange and chlorophyll variations after La treatment in maize. The seeds were sown in vermiculite and, after two weeks, were transplanted to the Hoagland nutrient solution to adaptation. Each plant was cultivated in vases, containing in one side only the nutrient solution with 40% of ionic strength and in the other side the solution without P and with La concentration, like a twinned vases. The La concentrations used were: 0 (control), 25, 50, 100, 150, 300 and 600 μM as $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. After 12 days of plant cultivation, the net photosynthesis, the transpiration, the stomatal conductance, and C_i/C_a were evaluated using the equipment IRGA. The chlorophyll content was measured using the SPAD. The plants were dried at 60°, weighed and ground to obtain the La content by determination in ICP-MS. The La applied promoted reduction on photosynthetic and transpiration rate, and also on chlorophyll content. Moreover, there was a reduction on length root and on plants growth.

Keywords: Maize. Lanthanum. Photosynthesis. Chlorophyll. Dry Biomass.

1 INTRODUÇÃO

As fontes de poluição ambiental são em sua maioria, de origem antropogênica, principalmente de descargas industriais. Os ETR provenientes de fontes antropogênicas costumam entrar no ambiente em formas solúveis e mais reativas, por isso, são biologicamente mais disponíveis que os ETR constituintes de minerais e rochas (ZHANG; SHAN, 2001). Nos últimos anos, ETR têm causado preocupação devido à sua persistência no meio ambiente e potencial de toxicidade, principalmente na China, como por exemplo, para o Nd, em que algumas áreas de mineração, a concentração desse elemento em rios passou de 100 mg L^{-1} (CHEN et al., 2003; PROTANO, RICCOBANO, 2002).

De maneira geral, poucos estudos foram realizados para avaliar a capacidade de espécies vegetais em remediar os efeitos das concentrações de ETR em ambientes aquáticos. Tais fatos destacam a necessidade de uma melhor compreensão da distribuição e comportamento biogeoquímico do ETR em rios, lagos e águas subterrâneas, em particular, no que diz respeito aos seus efeitos no crescimento vegetal. Alguns estudos mostraram que o teor de clorofila, taxa fotossintética e produção de biomassa podem ser aumentadas por ETR (D' AQUINO et al., 2009; LIU et al., 2011). No entanto, alguns resultados ainda são contraditórios.

Pistia stratiotes L. é uma macrófita e se mostrou eficiente na acumulação de vários elementos tóxicos e poluentes no ambiente aquático (SILVA et al., 2013). Sendo assim, poderia também acumular ETR nestes ambientes, principalmente nos rios e lagos, próximos às pilhas de fosfogesso, onde há concentrações mais elevadas de ETR. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito das concentrações de

ETR sobre características anatômicas, nutricionais e trocas gasosas e pigmentos fotossintetizantes de *Pistia stratiotes*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Locais de execução

O experimento foi conduzido na casa de vegetação do departamento de Ciência do Solo. As avaliações foram realizadas no Laboratório de Anatomia Vegetal e no Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas, todos pertencentes à Universidade Federal de Lavras (UFLA).

2.2 Obtenção das plantas

As plantas de *Pistia stratiotes* foram coletadas de populações em açudes naturais no Sul de Minas e levadas para o laboratório de Anatomia Vegetal, onde foram lavadas em água corrente e desinfetadas com hipoclorito de sódio. Posteriormente, essas plantas foram propagadas em casa de vegetação, onde permaneceram em bandejas plásticas contendo 20 litros de solução nutritiva Hoagland e Arnon (1950) a 20% de força iônica.

2.3 Planejamento experimental

O experimento com *Pistia stratiotes* (as plantas tinham um tamanho médio de 5 cm de diâmetro) foi instalado em bandejas com capacidade para 20L, sendo uma para cada tratamento (7 bandejas contendo 4 repetições) em a solução nutritiva Hoagland e Arnon (1950), contendo separadamente as seguintes concentrações de ETR: 0 (controle), 10 μM de Ce, 40 μM de Ce; 10 μM de La , 40 μM de La; mistura de ETR contendo 10 μM de La e Ce +

3,5 μM de Sm e Gd + 5 μM de Nd (Mix 1); e mistura de ETR contendo 40 μM de Ce e La + 7 μM de Sm e Gd+ 10 μM de Nd (Mix 2), todos na forma de nitrato. O tempo de exposição das plantas aos tratamentos foi de 45 dias, sendo que a solução nutritiva e tratamentos foram trocados uma vez por semana.

2.4 Análises do sistema fotossintético

Para avaliação fotossintética das plantas de *P. stratiotes* submetidas a diferentes concentrações de elementos terras raras, foram avaliadas a fotossíntese líquida (A), a transpiração (E), e a condutância estomática (gs), realizadas com auxílio do sistema portátil de fotossíntese LI-6400 (Li-Cor, Nebraska, EUA), equipado com câmara de 6 cm^2 e fonte artificial de luz (6400-02 B Red Blue, Li-Cor, Nebraska, EUA). As avaliações foram feitas entre 8h e 10h. A parcela experimental foi constituída de uma folha por planta e uma planta por repetição.

Juntamente com a análise fotossintética, foi realizada a medição indireta do teor de clorofila, com auxílio do medidor portátil de clorofila SPAD-502 (Konica Minolta, Tokyo, Japan), usando a média de 3 folhas de uma planta para cada repetição. As medições com IRGA e SPAD foram feitas aos 45 dias do experimento com *P.stratiotes*.

2.5 Análise quantitativa da anatomia

Para as avaliações anatômicas, o material foi coletado e fixado em F.A.A._{70%} (formaldeído, ácido acético e etanol 70% na proporção de 1:1:18), posteriormente armazenado em etanol 70% (JOHANSEN, 1940). Para confecção do laminário, as amostras de raiz e folha já fixadas foram submetidas à série de desidratação etanólica (70%, 90% e 100%),

permanecendo por duas horas em cada uma das soluções. Após essa etapa, as amostras foram infiltradas e incluídas em hidroxietil-metacrilato Leica®, seguindo as instruções propostas pelo fabricante. As secções transversais foram realizadas com auxílio de micrótomo semiautomático rotativo com a espessura ajustada para 7 µm. Esse material foi corado com azul de toluidina 1% e as secções montadas em lâmina e lamínula com bálsamo do Canadá (O`BRIEN et al., 1964).

As lâminas foram observadas em microscópio trinocular (CX31, Olympus Tokyo, Japan) com sistema de captura acoplado, sendo digitalizadas e analisadas em software de análise de imagem UTHSCSA-Imagetool.

O delineamento experimental para as avaliações anatômicas quantitativas, foi inteiramente casualizado, com 4 repetições para cada tratamento, sendo confeccionada uma lâmina por repetição, fotografadas cinco secções por lâmina e mensurados quatro campos por imagem. As variáveis avaliadas para folha foram: espessura do parênquima paliçádico, proporção das câmaras do aerênquima, espessura do limbo, diâmetro dos elementos de vaso metaxilema. Para a raiz foram avaliados: espessura de epiderme, exoderme e córtex, área de aerênquima, proporção do cilindro vascular e diâmetro dos elementos de vaso do metaxilema.

2.6 Análise nutricional

Para a avaliação das concentrações de macro e micronutrientes, folhas e raízes de 2 plantas de *P. stratiotes* foram lavadas em água corrente e secas em estufa com circulação forçada de ar a 60 °C durante 72 horas. A massa seca foi pesada e em seguida, esse material foi triturado em moinho de facas tipo Willey e 500 mg de massa seca foram pesados em balança

analítica, sendo o material adicionado em tubos de teflon juntamente com cerca de 5 mL de ácido nítrico, previamente destilado. Em seguida, as amostras foram digeridas em forno de microondas da marca CEM Mars Xpress, a cerca de 180C e à pressão de 65 psi, em uma rampa de aquecimento de 10 minutos, segundo método 3051A (USEPA, 1998). Após a digestão, os volumes foram completados com água bidetilada até 10 mL em um balão volumétrico. Os teores de macro e micronutrientes foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica com chama.

2.7 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro Wilk, sendo aplicada transformação quando não houve distribuição normal. Posteriormente, foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, com 5% de significância. Todos esses procedimentos foram realizados com auxílio do software Sisvar 5.0 (FERREIRA, 2011).

3 RESULTADOS

A influência das concentrações de ETR sobre os teores de micronutrientes e macronutrientes são apresentados nas Tabelas 1 e 2. Observou-se que os ETR reduziram alguns dos teores dos micronutrientes. Zn reduziu nos tratamentos com La, o teor de Cu foi menor para todos os tratamentos, comparado ao controle, sendo que a maior parte do que foi absorvido ficou retido nas raízes (Tabela 1). Os teores de Fe reduziram nos tratamentos de 0,04 mM Ce, La e Mix. Para os macronutrientes, os teores não apresentaram diferença significativa, exceto Mg, onde houve retenção da maior parte absorvida nas raízes, comparado ao controle (Tabela 2).

Tabela 1 Teor de micronutrientes na raiz e parte aérea em *Pistia stratiotes* nas diferentes concentrações de ETR em solução nutritiva (Zn T- Teor total de Zn; Zn R- Porcentagem de Zn na raiz; Zn PA- Porcentagem de Zn na parte aérea; Fe T- Teor total de Fe; Fe R- P- Porcentagem de Fe na raiz; Zn Pa- Porcentagem de Zn na parte aérea; Cu T- Teor total de Cu; CuR- Porcentagem de Cu na raiz; Cu Pa- Porcentagem de Cu na parte aérea; Mn T- Teor total de Mn; Mn R- Porcentagem de Mn na raiz; Mn Pa- Porcentagem de Mn na parte aérea).

[ETR](mM)	Zn(mg/l)	Zn R(%)	Zn PA(%)
0- controle	68,73± 5,69a	59,69±1,42 a	40,31± 1,42a
0,01 mM Ce	66,41±4,86a	58,07± 3,81a	41,92± 3,81a
0,04 mM Ce	62,02±4,11a	60,99± 2,81a	39,01± 2,81a
0,01 mM La	48,93± 4,44b	62,62± 0,71a	37,37± 0,71a
0,04 mM La	53,01±0,55b	67,15± 2,90a	32,84± 2,90a
Mix 1	66,24± 0,55a	57,49±0,07 a	42,50± 0,07a
Mix 2	64,78± 1,48a	63,91± 3,86a	36,08± 3,86a
<i>CV (%)</i>	<i>9,34</i>	<i>4,43</i>	<i>7,05</i>
[ETR](mM)	Fe(mg/l)	Fe R(%)	FePA(%)
0- controle	3786,01± 280,50a	92,92± 0,72a	7,08± 0,72a
0,01 mM Ce	3579,74± 228,18a	96,25± 0,25a	3,75± 0,25a
0,04 mM Ce	2092,79± 231,57b	94,22± 1,81a	5,78± 1,81a
0,01 mM La	3190,74± 279,80a	96,34± 1,44a	3,65± 1,44a
0,04 mM La	2259,29± 375,09b	93,02± 1,47a	6,97± 1,47a
Mix 1	1188,75± 124,44c	88,36±1,19 a	11,64±1,19a
Mix 2	1226,80± 97,98c	90,44± 0,40a	9,55± 0,40a
<i>CV (%)</i>	<i>9,62</i>	<i>6,38</i>	<i>15,78</i>
[ETR](mM)	Cu(mg/l)	Cu R(%)	Cu PA(%)
0- controle	22,33± 1,57a	76,17± 2,24b	23,83±2,24a
0,01 mM Ce	19,04± 2,55b	88,87± 2,37a	11,13±2,37b
0,04 mM Ce	15,31± 1,10c	82,40± 0,71a	17,60±0,71b
0,01 mM La	18,78± 0,30b	84,98± 0,54a	15,01±0,54b
0,04 mM La	13,77± 0,99c	83,73± 1,86a	16,26± 1,86b
Mix 1	15,32± 1,25c	83,83± 2,46a	16,16± 2,46b
Mix 2	11,70±0,84c	81,24± 0,99a	18,76± 0,99b
<i>CV (%)</i>	<i>8,91</i>	<i>2,20</i>	<i>10,72</i>
[ETR](mM)	Mn(mg/l)	Mn R (%)	Mn PA(%)
0- controle	306,05±7,27a	71,40±1,04a	28,56± 1,04a
0,01 mM Ce	340,62±11,48a	80,93±1,29 a	19-07± 1,29a
0,04 mM Ce	304,29±5,69a	77,60± 2,06a	22,39± 2,06a
0,01 mM La	354,11± 17,49a	80,32± 0,04a	19,68± 0,04a
0,04 mM La	335,70± 26,19a	86,14± 0,17a	13,86± 0,17a
Mix 1	387,21± 8,06a	86,41±1,22 a	13,58± 1,22a
Mix 2	344,04± 16,47a	80,12± 1,40a	19,88± 1,40a
<i>CV (%)</i>	<i>11,93</i>	<i>6,06</i>	<i>14,41</i>

* Letras distintas referentes à mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias nas concentrações de ETR testadas na solução (mM), pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). ±: Desvio padrão da média.

Tabela 2 Teor de macronutrientes em raiz e parte aérea de *Pistia stratiotes* nas diferentes concentrações de ETR em solução nutritiva. (Mg T- Teor total de Mg; Mg R- Porcentagem de Mg na raiz; Mg PA- Porcentagem de Mg na parte aérea; Ca T- Teor total de Ca; Ca R- Porcentagem de Ca na raiz; Ca Pa- Porcentagem de Ca na parte aérea; K T- Teor total de K; KR- Porcentagem de K na raiz; K Pa- Porcentagem de K na parte aérea)

[ETR](mM)	Mg(mg/l)	Mg R(%)	Mg PA(%)
0- controle	21895,89±2139,55a	15,76±1,50b	84,24±1,50a
0,01 mM Ce	22152,11±2192,00a	24,87±4,36a	75,13±4,36b
0,04 mM Ce	21203,84±1933,48a	28,59±1,38a	71,41±1,38b
0,01 mM La	21399,58±1241,68a	28,68±1,35a	71,32±1,35b
0,04 mM La	24516,52±1020,83a	23,07±1,10a	76,92±1,10b
Mix 1	24068,52±625,45a	25,76±0,64a	74,24±0,64b
Mix 2	19987,40±631,82a	25,12±3,01a	74,88±3,01b
<i>CV (%)</i>	<i>7,79</i>	<i>10,51</i>	<i>3,16</i>
[ETR](mM)	Ca(mg/l)	Ca R(%)	Ca PA(%)
0- controle	16577,26±812,03a	45,20±1,94a	54,80±1,94a
0,01 mM Ce	15999,39±915,40a	45,15±4,84a	54,85±4,84a
0,04 mM Ce	15359,62±359,92a	45,50±4,18a	54,49±4,18a
0,01 mM La	18027,65±1276,25a	43,89±2,94a	56,10±2,94a
0,04 mM La	16783,67±1426,27a	48,25±3,19a	51,75±3,19a
Mix 1	13589,77±242,80a	49,28±0,06a	50,72±0,06a
Mix 2	12160,49±229,89a	48,99±3,36a	51,00±3,36a
<i>CV (%)</i>	<i>5,38</i>	<i>7,46</i>	<i>6,45</i>
[ETR](mM)	K(mg/l)	K R(%)	K PA (%)
0- controle	47459,39±1492,52a	65,77±1,66a	34,22±1,66a
0,01 mM Ce	24049,14±1944,16a	51,44±1,68a	48,56±1,68a
0,04 mM Ce	22937,42±1224,18a	48,80±1,79a	51,70±1,79a
0,01 mM La	25108,55±1185,45a	63,24±1,97a	36,75±1,97a
0,04 mM La	11943,94±283,11a	43,20±1,41a	76,80±1,41a
Mix 1	23106,64±941,32a	45,18±0,86a	54,81±0,86a
Mix 2	21024,53±198,25a	48,80±2,03a	51,19±2,03a
<i>CV (%)</i>	<i>9,76</i>	<i>9,00</i>	<i>9,33</i>

*Letras distintas referentes à mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias nas concentrações de ETR testadas na solução (mM), pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). ±: Desvio padrão da média.

A produção de massa seca das raízes e da parte aérea foi influenciada significativamente pelas concentrações de ETR na solução

nutritiva. Observou-se que as concentrações de La e os tratamentos com mistura de ETR aplicadas, influenciaram negativamente o crescimento e a razão raiz parte aérea de *Pistia stratiotes* (Tabela 3, Figuras 1, 2 e 3). Além da redução no crescimento, o La também interferiu na formação de novas folhas e causou clorose (Figura 3).

Tabela 3 Massa seca de plantas de *Pistia stratiotes* nas diferentes concentrações de ETR em solução nutritiva. (R-Raiz; PA – Parte aérea; T – Massa seca total da planta R/PA- Razão raiz parte aérea)

[ETR](mM)	R (g)	PA (g)	T (g)	R/PA (%)
0- controle	0,38± 0,07a	2,09 ±0,08a	2,47± 0,11a	15,50±2,43a
0,01 mM Ce	0,43±0,09 a	2,10±0,13a	2,56±0,20 a	16,66±2,41a
0,04 mM Ce	0,37± 0,09a	2,12±0,21a	2,47 ±0,23a	14,85±3,50a
0,01 mM La	0,26± 0,08b	2,08 ±0,34a	2,32 ±0,40a	9,67± 2,41b
0,04 mM La	0,30± 0,04b	1,76±0,23 b	2,06± 0,26b	11,74±1,17b
Mix 1	0,29±0,06 b	1,69±0,24 b	1,98 ±0,30b	14,67±1,69b
Mix 2	0,26± 0,04b	1,86±0,30 b	2,12 ±0,31b	12,45±2,06 b
<i>CV (%)</i>	22,76	11,87	11,91	16,59

*Letras distintas referentes à mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias nas concentrações de ETR testadas na solução (mM), pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). ±: Desvio padrão da média.



Figura 1 *Pistia stratiotes* aos 45 dias do tratamento com ETR



Figura 2 Comparação entre o tratamento controle e Ce



Figura 3 Comparação entre tratamento controle e La

Verificou-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos para taxa fotossintética, condutância estomática (Tabela 4). Apenas a transpiração apresentou redução significativa em função dos tratamentos aplicados (Tabela 4).

Tabela 4 Trocas gasosas em plantas de *Pistia stratiotes* sob diferentes concentrações de ETR em solução nutritiva. (A – Taxa fotossintética; E – Taxa Transpiratória; g_s – Condutância Estomática)

[ETR] (mM)	A ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	E ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	g_s ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
0- controle	19,59±2,38 a	8,14 ±0,68c	1,16± 0,13a
0,01 mM Ce	21,82± 2,22a	9,39 ± 0,38b	1,37±0,25 a
0,04 mM Ce	22,71±2,80 a	9,91± 0,84a	1,02 ±0,13a
0,01 mM La	20,48 ±1,37a	10,35± 0,49a	1,31 ±0,37a
0,04 mM La	20,93±0,72 a	10,02± 0,33a	1,09± 0,11a
Mix 1	20,45 ±1,56a	10,71± 1,19a	1,61± 0,79a
Mix 2	20,88± 1,47a	10,87± 0,76a	1,75 ±0,95a
<i>CV (%)</i>	8,77	7,16	12,02

* Letras distintas referentes à mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias nas concentrações de ETR testadas na solução (mM), pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). \pm : Desvio padrão da média.

O teor relativo de clorofila reduziu na menor concentração de Ce (0,1 mM), enquanto manteve-se semelhante ao tratamento controle na maior concentração desse elemento (Tabela 5). Com relação ao efeito do La no teor de clorofila, somente a concentração mais elevada de La (0,4 mM) promoveu o decréscimo no teor deste pigmento. A aplicação de ETR em mistura não alterou o teor de clorofila.

Tabela 5 Teor relativo de clorofila (SPAD) em plantas de *Pistia stratiotes* sob diferentes concentrações de ETR em solução nutritiva

[ETR] (mM)	SPAD
0- controle	40,92± 1,94a
0,01 mM Ce	37,22± 2,40b
0,04 mM Ce	40,52± 2,22a
0,01 mM La	40,65± 1,83a
0,04 mM La	35,87± 3,39b
Mix 1	39,17± 1,84a
Mix 2	42,65±1,58 a
<i>CV (%)</i>	5,68

* Letras distintas referentes à mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias nas concentrações de ETR testadas na solução (mM), pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). ±: Desvio padrão da média.

Pistia stratiotes possui epiderme foliar unisseriada, estômatos nas duas faces da epiderme (folha anfiestomática), muitos tricomas tectores, aerênquima preenchendo grande parte do mesofilo, parênquimas paliçádico e esponjoso, assim como mostra a Figura 4 e em Silva et al. (2013). As avaliações dos tecidos foliares mostraram modificações significativas com a adição de ETR na solução nutritiva. O Ce promoveu o espessamento do parênquima paliçádico, que conseqüentemente aumentou a espessura do limbo. A mistura de ETR aumentou significativamente a porcentagem de câmaras de aerênquima da folha. O diâmetro do metaxilema foram maiores apenas nos tratamentos com a maior concentração de La (0,04 mM de La) e Mix 2, as demais médias não diferiram significativamente do controle (Tabela 6).

Tabela 6 Espessura dos tecidos foliares de plantas de *Pistia stratiotes* nas diferentes concentrações de ETR em solução nutritiva. (ELI: Espessura do limbo; PAP: Parênquima paliçádico, DME: Diâmetro do metaxilema; PAER: Proporção de câmaras de aerênquima)

[ETR] (mM)	ELI (μm)	PAP (μm)	DME (μm)	PAER (%)
0- controle	302,60 $\pm 35,71\text{b}$	81,23 $\pm 15,74\text{b}$	17,54 $\pm 3,60\text{b}$	30,92 $\pm 5,02\text{c}$
0,01 mM Ce	316,91 $\pm 32,$ 37a	89,81 $\pm 18,10\text{a}$	17,71 $\pm 2,13\text{b}$	33,15 $\pm 4,90\text{b}$
0,04 mM Ce	313,98 $\pm 20,67\text{a}$	96,67 $\pm 14,86\text{a}$	17,63 $\pm 3,13\text{b}$	33,73 $\pm 4,42\text{b}$
0,01 mM La	300,45 $\pm 24,81\text{b}$	81,88 $\pm 14,01\text{b}$	15,97 $\pm 2,58\text{b}$	34,94 $\pm 4,88\text{b}$
0,04 mM La	288,99 $\pm 23,99\text{b}$	81,67 $\pm 15,45\text{b}$	19,23 $\pm 2,15\text{a}$	30,19 $\pm 6,47\text{c}$
Mix 1	303,44 $\pm 29,11\text{b}$	76,11 $\pm 12,37\text{b}$	16,61 $\pm 2,79\text{b}$	36,76 $\pm 4,98\text{a}$
Mix 2	312,67 $\pm 15,84\text{b}$	76,62 $\pm 11,96\text{b}$	19,60 $\pm 2,15\text{a}$	39,60 $\pm 5,70\text{a}$
CV (%)	15,24	8,83	9,02	15,32

*Letras distintas referentes à mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias nas concentrações de ETR testadas na solução (mM), pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). \pm : Desvio padrão da média.

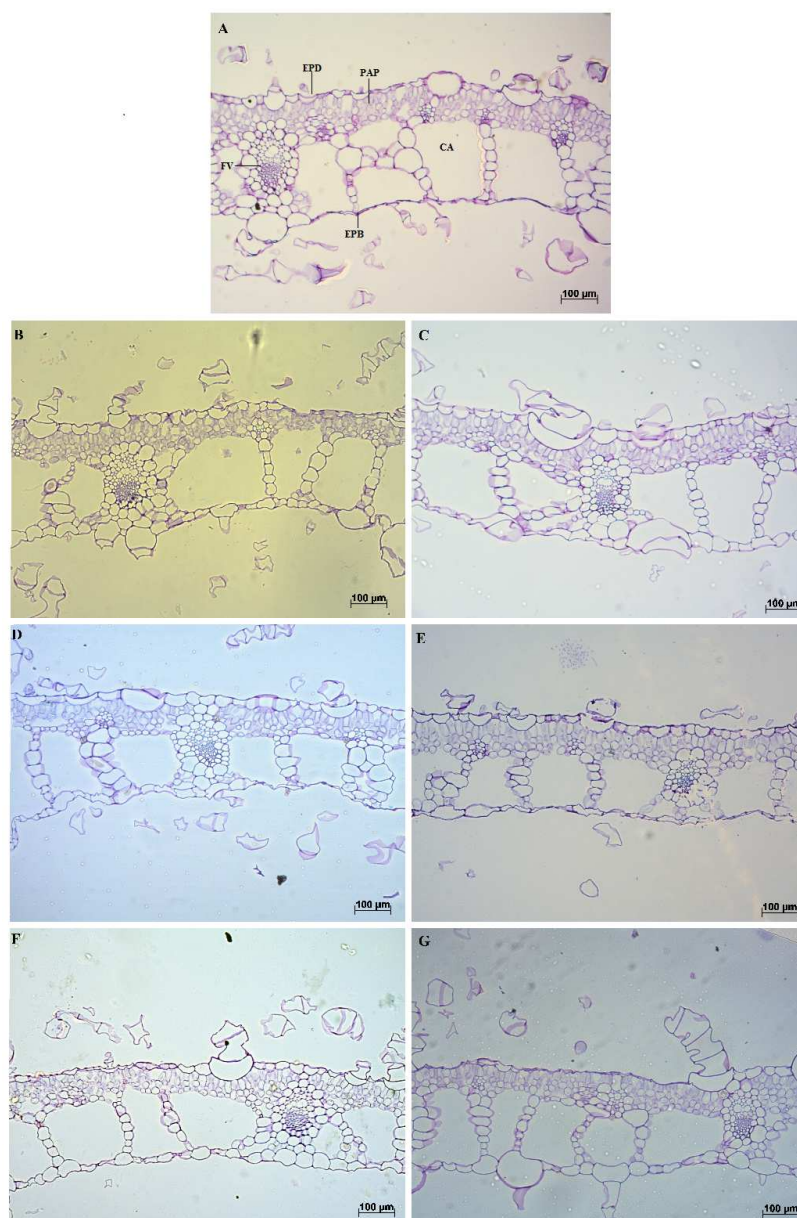


Figura 4 Secções transversais de folhas de *Pistia stratiotes* submetidas a diferentes concentrações de ETR. A=controle; B=10 mM Ce; C=40 mM Ce; D=10 mM La; E=40 mM La; F=Mix 1; G= Mix 2. Barras= 100 µm. (EPD-Epiderme da face adaxial; EPB-Epiderme da face abaxial; PA

Os tecidos radiculares estão em contato direto com ETR, logo, podem ter modificações, pois estão associadas às exigências fisiológicas dos vegetais, como capacidade de absorção de água e nutrientes, influenciando a sobrevivência das plantas em ambientes aquáticos. As raízes de *P. stratiotes* são compostas por epiderme unisseriada, córtex, o qual pode ser dividido em externo (exoderme), mediano (aerênquimas) e interno (endoderme), e cilindro vascular, como mostra a Figura 5 e descrito por Akapo et al. (2011).

A anatomia radicular foi modificada significativamente em função da presença de ETR, o Ce provocou o espessamento de tecidos radiculares, ocorrendo aumentos significativos na epiderme, exoderme e endoderme (Tabela 7). A espessura do córtex nos tratamentos com 0,04 mM de Ce e nas misturas de ETR foram maiores comparados ao controle. Os diâmetros dos elementos de vaso de metaxilema foram maiores nos tratamentos com Ce e no Mix 2. A proporção de aerênquima foram maiores em Mix 1 e 2. As médias da proporção do cilindro vascular não diferiram significativamente nos tratamentos (Tabela 7).

Tabela 7 Espessura dos tecidos radiculares de plantas de *Pistia stratiotes* nas diferentes concentrações de ETR em solução nutritiva. (EPI: Epiderme; EXO: Exoderme; COR: Córtex; END: Endoderme; DME: Diâmetro do metaxilema; PAE: Proporção de aerênquima; PCI: Proporção do cilindro)

[ETR](mM)	EPI(μm)	EXO(μm)	COR(μm)	END(μm)	DME(μm)	PAE (%)	PCI (%)
0- controle	7,90 ±1,57b	7,74 ±1,74b	247,78 ±38,27c	8,14 ±1,61a	23,85 ±4,93b	33,56 ±2,36c	6,20 ±1,14a
0.01 mM Ce	9,03 ±1,20a	8,85 ±1,25a	242,90 ±26,68c	8,59 ±1,35a	27,14 ±3,61a	33,21 ±3,37c	7,56 ±1,10a
0.04 mM Ce	9,16 ±1,63a	8,55 ±1,61a	299,63 ±48,02b	8,94 ±1,81a	32,05 ±4,25a	33,03 ±5,38b	6,59 ±1,10a
0.01 mM La	8,27 ±2,49b	7,11 ±1,24b	229,84 ± 46,65c	6,88 ±1,17b	21,77 ±5,95b	34,47 ±5,29c	4,85 ±1,07a
0.04 mM La	7,08 ±1,25b	6,57 ±1,45b	243,31 ±52,08c	6,93 ±1,22b	23,30 ±3,16b	32,41 ±2,32c	5,85 ±1,29a
Mix 1	7,07 ±1,55b	6,55 ±1,33b	275,04 ±39,53b	6,20 ±1,32b	24,66 ±4,45b	36,44 ±4,38b	5,97 ±0,91a
Mix 2	7,93 ±1,21b	8,25 ±1,79a	335,14 ±23,29a	7,61 ±1,83b	30,74 ±4,06a	46,10 ±3,40a	5,71 ±1,49a
CV (%)	17,59	18,77	8,06	9,78	16,70	5,50	14,97

* Letras distintas referentes à mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias nas concentrações de ETR testadas na solução (mM), pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). ±: Desvio padrão da média.

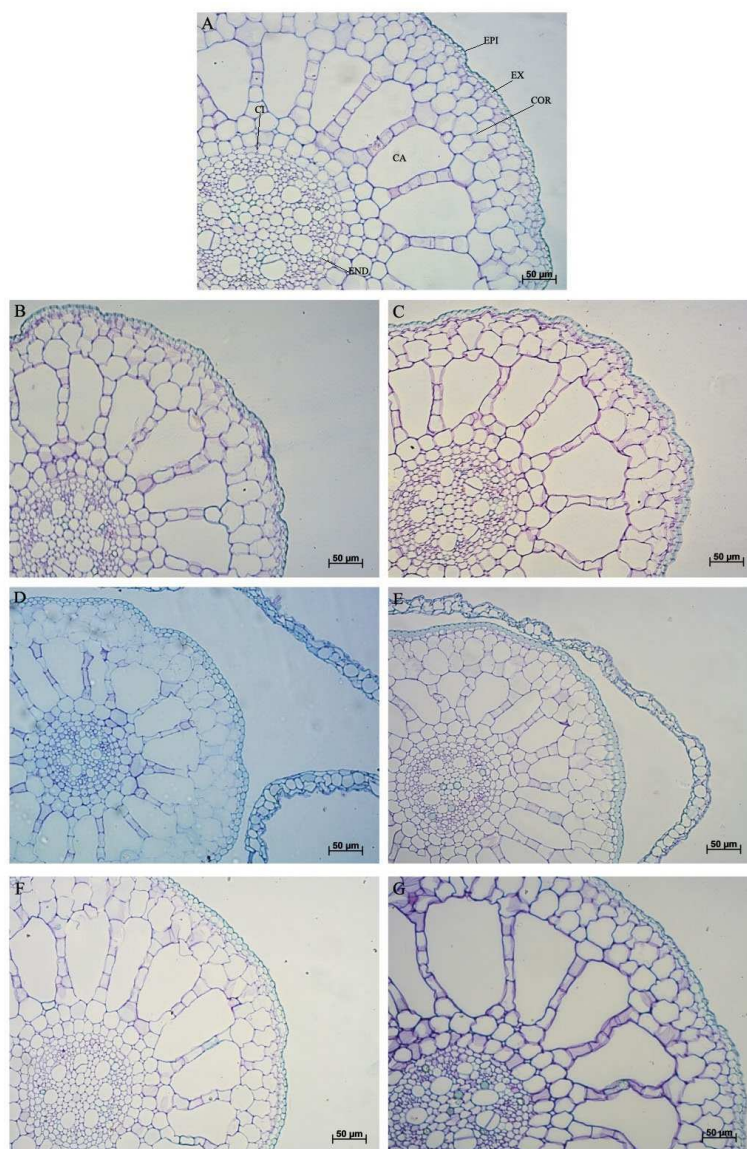


Figura 5 Secções transversais de raízes de *Pistia stratiotes* submetidas a diferentes concentrações de ETR. A=controle; B=10 mM Ce; C=40 mM Ce; D=10 mM La; E=40 mM La; F=Mix 1; G= Mix 2. Barras= 100 µm. (EPI- Epiderme; EX- Exoderme; END- Endoderme; COR- Córtex; CA- Câmaras de Aerênquima; CI- Cilindro vascular)

O La parece induzir um crescimento da coifa, influenciando a diferenciação no caliptrogênio, nas duas concentrações analisadas (0,01 e 0,04 mM de La), já que esta se alonga até a zona de ramificação da raiz. Possivelmente, como forma de proteção dos tecidos meristemáticos (Figuras 6 e 7).

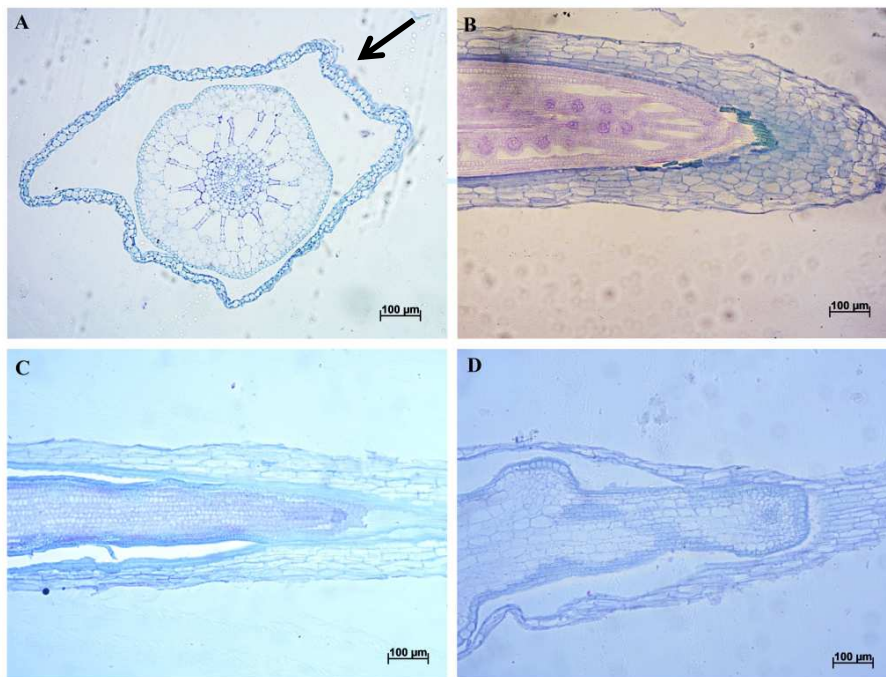


Figura 6 Secções transversal (A) e longitudinal (B-D) da raiz de *Pistia stratiotes* submetida ao tratamento com La. Seta indicando a coifa prolongada em tratamento com La (A). Secção longitudinal da raiz de *Pistia stratiotes* sem La (B) e submetida ao tratamento com La (10 μM – C e 40 μM – D). Barra: 100 μm

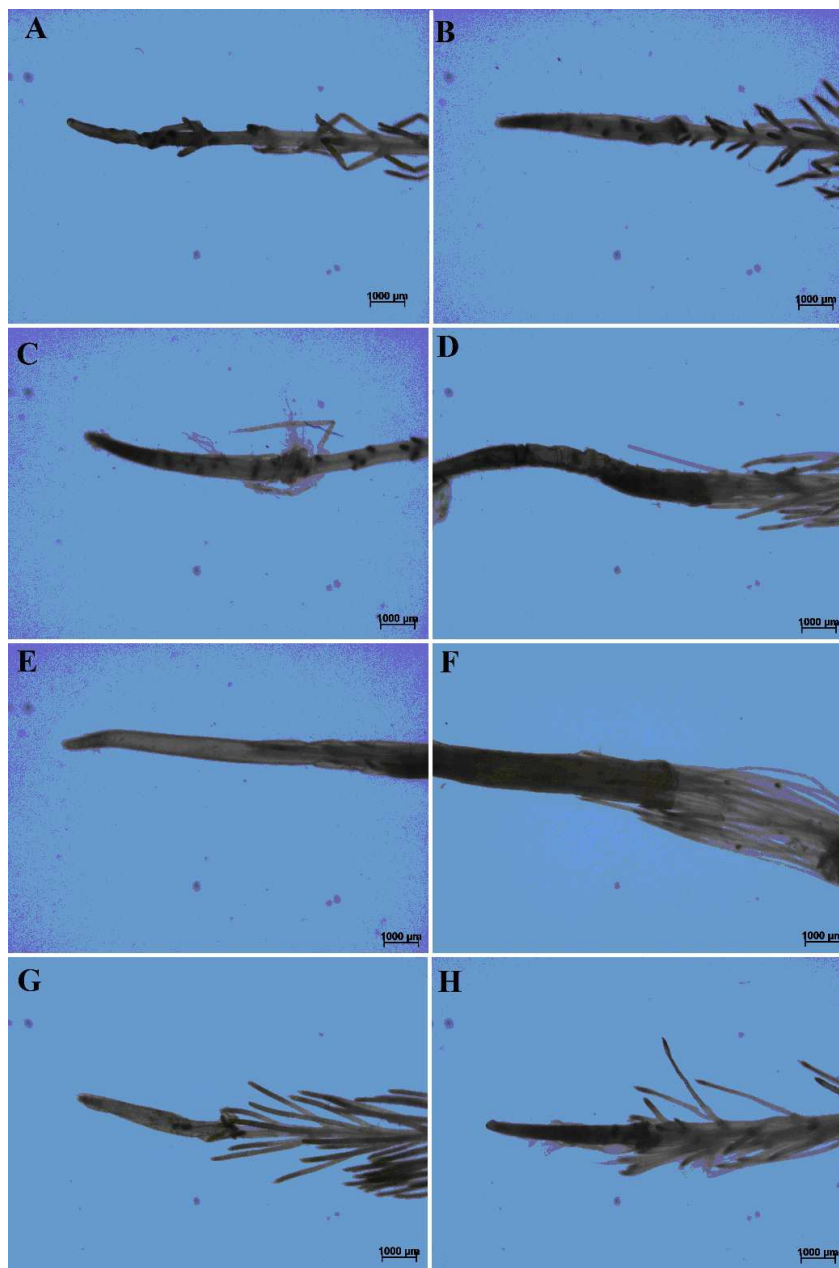


Figura 7 Raízes de *Pistia stratiotes* submetidas a diferentes concentrações de ETR. A=controle; B=10 mM Ce; C=40 mM Ce; D=10 mM La; E e F=40 mM La; G=Mix 1; H= Mix 2. Barras= 1000 µm

4 DISCUSSÃO

Os ETR podem interferir no crescimento das plantas, afetando a distribuição e o teor de alguns elementos (tais como Ca, Fe, Cu, K, P, Mg) nas plantas, afetando a permeabilidade da membrana, a alteração de conformação ativa de algumas biomoléculas, e até mesmo levando à desordem de funções biológicas (HU et al., 2004; WANG et al., 2011). Houve redução do sistema radicular nos tratamentos com La e Mix, logo, a absorção de macro e micronutrientes também foi reduzida ou bloqueada pelo crescimento da coifa, que recobriu até a zona de ramificação da raiz (Figuras 6 e 7). As plantas do tratamento de Ce tiveram mais elementos retidos na raiz em virtude do espessamento de barreiras. A falta de micronutrientes pode afetar a atividade de SOD, fazendo com que as EROS produzidas por ETR não sejam degradadas. Os macronutrientes não tiveram alteração significativa por estarem em concentrações mais elevadas e disponíveis na solução nutritiva. Wang et al. (2011) observaram que a adição de La resultou no desequilíbrio de nutrientes (Ca, Fe e K) nas raízes de *Vicia faba* e que, portanto, a progressão do ciclo celular e alongamento da raiz podem ser alterados devido ao desequilíbrio de nutrientes nas raízes submetidas a tratamento com La, o que também pode ter ocorrido neste trabalho. Sendo essa redução nos teores dos elementos, uma evidência de redução do fluxo na presença de ETR com efeitos claros de deficiência de alguns elementos na parte aérea que podem estar associados ao efeito tóxico dos ETR.

Destaca-se que os resultados dos poucos estudos existentes sobre o efeito de ETR no crescimento das plantas são conflitantes. Para *P. stratiotes*, foi notável a redução do crescimento das plantas submetidas aos tratamentos com La e Mix, além disso, houve redução no investimento da planta em sistema radicular nestes tratamentos, comparado ao controle (Tabela 3,

Figuras 1,2 e 3). No entanto, a menor razão entre parte aérea e raiz evita a absorção de grandes quantidades do elemento e evita que o crescimento da planta seja afetado. A redução do sistema radicular nas plantas dos tratamentos com La e Mix pode ser devido a interferência dos elementos na divisão celular, e conseqüentemente, no alongamento das raízes. Hu et al. (2004) verificaram que o La causou uma inibição da divisão celular e alongamento da raiz de plantas de cevada. ETR também inibiram o crescimento de raiz em *Arabidopsis thaliana* (RUÍZ-HERRERA et al., 2012), milho e feijão (DIATLOFF et al., 1995).

A fotossíntese é um dos processos fisiológicos mais sensíveis a diversos tipos de estresse, porém, *P. stratiotes* mostrou ausência de modificação pontual na fotossíntese, já que P_n e g_s se mantiveram na presença de ETR. Porém, como as plantas reduziram o crescimento, a área foliar foi menor, fazendo com que a fotossíntese total também reduzisse. O aumento da transpiração ocorre para tentar manter o fluxo de água e nutrientes, no entanto, acaba por transportar mais La para a parte aérea e intensificar os efeitos negativos do elemento. Já foi relatado que ETR podem causar alterações na fotossíntese, por exemplo, na taxa fotossintética em espinafre (FASHUI et al., 2002) e plântulas de soja (LI et al., 2007), taxa fotossintética, condutância estomática e taxa transpiratória em *Salvia miltiorrhiza* (ZHOU et al., 2011).

A clorofila e outros pigmentos estão relacionadas à resposta a diversos estresses (KOPSELL et al., 2011). Como o teor de clorofila pontual foi mantido para a maioria dos tratamentos com ETR, as taxas fotossintéticas pontuais também foram mantidas. Apenas no tratamento de 0,01 mM de Ce e 0,04 MM de La houve redução no teor de clorofila, onde o pigmento poderia estar sendo degradado, como evidenciado pelas cloroses (Figura 3). Outros trabalhos também mostraram que ETR podem influenciar a clorofila,

Wang et al. (2013) observaram que o La e Ce reduzem o teor de clorofila em *Hydrilla verticillata*. A redução no teor de clorofila poderia ser devido a formação de clorofilase, que é responsável pela degradação da clorofila ou pela inibição da síntese de clorofila por ETR.

Acredita-se que ETR desempenham um papel indireto na formação da clorofila, porque Ce poderia entrar no cloroplasto e se ligar facilmente à clorofila, substituindo Mg (HONG et al., 2002). Tem sido sugerido que Ce pode substituir o Mg no anel de porfirina de clorofila e aumentar o teor de clorofila (WANG et al., 2013). Resultados da literatura relatam o aumento de clorofila total em plantas tratadas com baixas concentrações de Ce (SHYAM; AERY 2012; LI et al., 2007), o que não corrobora com os dados encontrados nesse estudo. A redução do teor de clorofila em *P. stratiotes* pode ter ocorrido pela toxicidade dos ETR ou pela redução no teor de Mg na parte aérea, já que a maior parte absorvida permaneceu retida nas raízes, o que poderia afetar a síntese de clorofila e conseqüentemente reduzir o teor do pigmento nas plantas.

A distribuição dos ETR e sua influência nos tecidos da folha tende a ocorrer de forma a minimizar e prevenir danos à fotossíntese, que é a função essencial da folha e irá interferir diretamente no crescimento da planta. Devido a plasticidade anatômica, algumas espécies desenvolvem modificações nos tecidos foliares que permitem uma melhor adaptação a diferentes fatores ambientais ou estresse (MELO et al., 2007). Apesar da redução da área foliar e da espessura das folhas, a fotossíntese por unidade de área foi mantida. A fotossíntese pontual foi mantida em virtude da manutenção da proporção dos tecidos foliares, principalmente do parênquima paliçádico. Devido ao aumento do diâmetro dos elementos de vaso nas plantas do tratamento com La, associado ao aumento da transpiração, uma maior quantidade de La chegou à parte aérea e limitou o

crescimento destas plantas. O Ce agiu ativamente na expansão celular (Figura 4 e Tabelas 6 e 4), talvez por interação hormonal ou por alterar o estado osmótico das células. As câmaras de aerênquima podem ter aumentado nos tratamentos com mistura de ETR em virtude da produção de EROS, como resposta ao estresse pelos ETR e, conseqüentemente, causou apoptose nas células do mesofilo. A desintegração de células seguida por aumento no tamanho dos aerênquimas e, portanto, na espessura do córtex, seria em resposta a produção de etileno ou por desbalanço de auxina (SANTOS, 2009), o que poderia também explicar o efeito de ETR no aumento da proporção de aerênquimas, espessura do córtex, e conseqüentemente, área total em raízes de *P. stratiotes*, já que há relatos de que ETR influenciam nos hormônios vegetais como por exemplo ABA e auxinas (WANG et al., 2013).

O espessamento de barreiras apoplásticas protege os tecidos internos da raiz do estresse presente no meio, reduzindo a translocação do elemento (SOARES et al., 2001) e absorção de fitotixinas para a parte aérea, (CASTRO et al., 2009) reduzindo possíveis danos ao sistema fotossintético, evitando que o crescimento e o desenvolvimento da espécie sejam prejudicados. As plantas do tratamento com Ce tiveram suas barreiras espessadas, assim, uma menor quantidade do elemento chegou à parte aérea e os efeitos foram reduzidos. Houve redução das barreiras e aumento do córtex nas plantas dos tratamentos Mix, isso restringiria a condutividade, no entanto o diâmetro dos vasos foi maior como forma compensatória para reestabelecer o fluxo. Como não houve diferença significativa na proporção do cilindro vascular, a condutividade hidráulica foi mantida. Um aumento na espessura do córtex nas maiores concentrações de ETR representa um aumento no diâmetro dessas raízes e pode ser considerado também uma estratégia de tolerância, relacionada a uma maior capacidade de acúmulo dos

elementos nos tecidos radiculares. No entanto, o aumento do diâmetro pode reduzir o fluxo de água e nutrientes para a parte aérea e interferir no crescimento da planta (Tabelas 1 e 6).

Influência de ETR no metabolismo da planta inclui as interações sinérgicas entre ETR e hormônios, essas interações têm sido propostas como um dos meios mais importantes pelos quais ETR podem influenciar os processos fisiológicos da planta, tais como o crescimento (BROWN et al., 1990). No entanto, ainda não é claro se ETR está envolvido com a sinalização dos hormônios vegetais. Segundo WANG et al (2014), La interagiu ABA na regulação da germinação de sementes e crescimento, tiveram efeito sobre a estrutura do meristema radícula de raízes pela indução de eventos de diferenciação, tais como, a formação de tricomas radiculares e a formação de raízes laterais da raiz primária de *Arabidopsis*. Dessa forma, o crescimento da coifa nos tratamentos com La deve ter sido induzido, como forma de proteção, uma vez que as barreiras não foram capazes de reter a entrada do elemento.

5 CONCLUSÕES

Com a adição de ETR, houve redução do crescimento das plantas e menor investimento no sistema radicular nos tratamentos com Mix e La. Porém, o teor de clorofila e fotossíntese pontuais se manteve aos 45 dias. A condutância estomática não foi afetada, assim, *Pistia stratiotes* não teve problemas na captação de CO₂. Houve aumento na transpiração para a manutenção do fluxo, compensando a perda de condutividade e permitindo a chegada de nutrientes até a parte aérea. A coifa aumentou nos tratamentos de La como forma de proteção, no entanto, pode ter bloqueado a absorção de outros elementos. A absorção de alguns macro e micronutrientes reduziu, em

virtude da redução do sistema radicular, e as maiores quantidades dos elementos tenderam a permanecer na raiz. As barreiras foram espessadas nos tratamentos com Ce, logo, o elemento não chegou em grandes quantidades na parte aérea e não causou danos. Acredita-se que o La seja responsável pelos efeitos na mistura de ETR. Essas modificações ocorreram como uma tentativa da planta de evitar que ETR sejam absorvidos e transportados, e causem algum efeito negativo.

REFERÊNCIAS

- AKAPO, A.A-R.; OMIDIJI, S.O.; OTITOLAJU, A.A. (2011). Morphological and anatomical effects of crude oil on *Pistia stratiotes*. **The Environmentalist**, 31(3), 288-298. doi:10.1007/s10669-011-9333-x.
- BROWN, P H. et al. Rare earth elements in biological systems. In: Handbook on the **Physics and Chemistry of Rare Earths**, v. 13. (Eds). KA Gschneider, 1990.
- CASTRO, E.M.; PEREIRA, F.J.; PAIVA, R. **Histologia Vegetal**: estrutura e função de órgãos vegetativos. Lavras: UFLA, 2009. 234 p.
- CHEN, D. et al. Experimental study of subchronic toxicity of lanthanum nitrate on liver in rats. **Nonlinearity Biol Toxicol Med.**, v.1, p. 469-80, 2003.
- D'AQUINO, L. et al. Effect of some rare earth elements on the growth and lanthanide accumulation in different *Trichoderma* strains. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, n. 12, p. 2406-2413, dec. 2009.
- DIATLOFF E.; ASHER C.J.; SMITH F.W. Effects of rare earth elements on the growth and mineral nutrition of plants. In: **Rare Earths in agriculture Seminar**. Australian Academ of Technologies and Engineering, 1995.
- FASHUI, H. et al. The effect of cerium (III) on the chlorophyll formation in spinach. **Biological Trace Element Research.**, v. 89, n. 3, p. 263-276, 2002.
- FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. The water-culture method for growing plants without soil. **California Agricultural Experiment Station Circular**, v. 347, p. 1-39, 1950.

HONG, F.S.; WIE, Z.G.; ZHAO, G.W. Mechanism of lanthanum effect on the chlorophyll of spinach. **J. Science in China, Series C**, v. 45, n. 2, p. 166-176, 2002.

HU, H. et al. Physiological and biochemical effects of rare Earth elements on plants and their agricultural significance: A Review. **Journal of Plant Nutrition**, v. 12, n. 1, p. 183-220, 2004.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. 2nd ed. New York: Mc-Graw-Hill, 1940. 523 p.

KOPSELL, D. E. Leaf tissue pigments and chlorophyll fluorescence parameters vary among sweet corn genotypes of differential herbicide sensitivity. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 99, n. 2, p.194-199, feb. 2011.

LI, Z. et al. Direct measurement of lanthanum uptake and distribution in internodal cells of Chara. **Plant Science**, v. 174, n. 5, p. 496-501, maio 2007.

LIU, X. et al. Content of rare earth elements in *Salvia miltiorrhiza* bunge from different areas. **Journal of Rare Earths**, v. 28, n. 83218, p. 510-512, dec. 2011.

MELO, E.E.C.; COSTA, E.T.S.; GUILHERME, L.R.G.; FAQUIN, V.; NASCIMENTO, C.W.A. Accumulation of arsenic and nutrients by castor bean plants grown on an As-enriched nutrient solution. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 168, n. 1, p. 479-483, aug. 2009.

O`BRIEN, T.P.; FEDER, N.; MCCULLY, M.E. Polychromatic staining of plant cell walls by Toluidine Blue. **Protoplasma**, v. 59, n. 2, p. 368-373, 1964.

PROTANO, G.; RICCOBONO, F. High contents of rare earth elements (REEs) in stream waters of a Cu-Pb-Zn mining area. **Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)**, v. 117, n. 3, p. 499-514, jan. 2002.

RUIZ-HERRERA, L.F.; SÁNCHEZ-CALDERÓN, L.; HERRERA-ESTRELLA, L.; LÓPEZ-BUCIO, J. (2011). Rare earth elements lanthanum and gadolinium induce phosphate-deficiency responses in *Arabidopsis thaliana* seedlings. **Plant and Soil**, 353(1-2), 231–247. doi:10.1007/s11104-011-1026-1.

SANTOS, C.L. Acúmulo e toxidez de manganês em macrófitas aquáticas flutuantes livres. 2006. 48 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2006.

SILVA, S.A.E.; TECHIO, V.H.; CASTRO, E.M.; FARIA, M.R. ; PALMIERI, M.J. (2013). Reproductive, Cellular, and Anatomical Alterations in *Pistia stratiotes* L. Plants Exposed to Cadmium. **Water, Air, & Soil Pollution**, 224(3), 1454. doi:10.1007/s11270-013-1454-z.

SOARES, C.R.F.S.; ACCIOLY, A.M. A.; MARQUES, T.C.L. L.S.M.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S. Acúmulo e distribuição de metais pesados nas raízes, caule e folhas de mudas de árvores em solo contaminado por rejeitos de indústria de zinco. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 13, n. 3, p. 302-315, 2001.

SHYAM, R.; AERY, N.C. Effect of cerium on growth , dry matter production , biochemical constituents and enzymatic activities of cowpea plants [*Vigna unguiculata* (L .) Walp .]. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 12, n. 1, p. 1-14, 2012.

USEPA (U.S. Environmental Protection Agency). 1998. **Level III ecoregions of the continental United States**. U.S. Environmental Protection Agency.

WANG, C. et al. Lanthanum Element Induced Imbalance of Mineral Nutrients, HSP 70 Production and DNA-Protein Crosslink, Leading to Hormetic Response of Cell Cycle Progression in Root Tips of *Vicia faba* L. seedlings. **Dose-response**: a publication of International Hormesis Society, v. 10, n. 1, p. 96–10, jan. 2012.

WANG, C. et al. Lanthanum resulted in unbalance of nutrient elements and disturbance of cell proliferation cycles in *V. faba* L. seedlings. **Biological trace element research**, v. 143, n. 2, p. 1174–81, nov. 2011.

WANG, C. et al. Lanthanum resulted in unbalance of nutrient elements and disturbance of cell proliferation cycles in *V. faba* L. seedlings. **Biological trace element research**, v. 143, n. 2, p. 1174–81, nov. 2013.

WANG, J. et al. Effects of lanthanum on abscisic acid regulation of root growth in Arabidopsis. **Journal of Rare Earths**, v. 32, n. 1, p. 78-82, jan. 2014.

ZHANG, S.Z. ; SHAN, X.Q. Speciation of rare earth elements in soil and accumulation by wheat with rare earth fertilizer application. **Environ. Pollut.**, v. 112, p. 395-405, 2001.

ZHOU, J.; GUO, L.; ZHANG, J.; ZHOU, S., YANG, G.; ZHAO, M.; HUANG, L. (2011). Effects of LaCl₃ on photosynthesis and the accumulation of tanshinones and salvianolic acids in *Salvia miltiorrhiza* seedlings. **Journal of Rare Earths**, 29(5), 494–498. doi:10.1016/S1002-0721(10)60486.

ARTIGO 2

Efeito do La nas trocas gasosas, teor de clorofila e massa seca de *Zea mays*

RESUMO

Os elementos terras raras (ETR) são 17 elementos químicos com propriedades semelhantes e compõem produtos de alta tecnologia. Atualmente, na China, alguns agricultores usam fertilizantes enriquecidos com ETR para melhorar a produção agrícola. Acredita-se que La pode aumentar a atividade de hormônios vegetais, a germinação de sementes, e a produtividade de culturas, porém, é necessário conhecer melhor os efeitos do elemento nas plantas. O milho foi selecionado para este estudo, pois é uma cultura amplamente cultivada no Brasil, e que recebe grande quantidade de fertilizante fosfatado, os quais carregam indiretamente os ETR. O objetivo do trabalho foi determinar o teor de La acumulado nos tecidos de *Zea mays*, além de determinar a massa seca das plantas e avaliar as modificações nas trocas gasosas, e teor de clorofila em concentrações crescentes de La. As sementes foram semeadas em vermiculita e após duas semanas foram transplantadas para solução nutritiva para adaptação. Cada planta foi instalada em vasos, contendo de um lado apenas a solução nutritiva a 40% de força iônica e do outro lado contendo solução sem P e concentrações crescentes de La. As concentrações de La foram: 0 (controle), 25, 50, 100, 150, 300 e 600 μM de La na forma de $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Aos 12 dias foram avaliadas a fotossíntese líquida, a transpiração, a condutância estomática e Ci/Ca , realizadas com o aparelho IRGA, bem como o teor de clorofila com SPAD. As plantas foram secas em estufa, pesadas e moídas para a obtenção da massa seca e do teor de La em ICP-MS. As concentrações de La aplicadas promoveram redução na taxa fotossintética, taxa transpiratória e no teor de clorofila. Além disso, verificou-se redução no comprimento das raízes. Em virtude do aumento do La absorvido, o crescimento das plantas diminuiu.

Palavras-chaves: Milho. Lantânio. Fotossíntese. Clorofila. Massa seca.

ABSTRACT

The REE are usually use in many industrial components, like alloys, superconductors, magnets, fluorescents materials, high-tech products, and in fertilizers, especially in China. The REE have similar chemical properties consisting of 15 lanthanides, more yttrium and scandium. The large scale use, and the increase of operating activities may increase of REE levels, around the mining and industrial areas. *Pistia stratiotes* L. is a macrophyte that shows be very efficient in accumulating several toxic and pollutants elements in the aquatic environment, and it could accumulate REE in these environments. Thus, the aim of this study was to evaluate the concentration of REE c on the anatomical, nutritional, gas exchange , and on the photosynthetic pigments of *P. stratiotes*. The plants were cultivated in trays with nutrient solution with the following treatments – 0 (control), 10 μ M of Ce(NO₃), 40 μ M of Ce(NO₃); 10 μ M of La(NO₃), 40 μ M of La(NO₃); mixture of elements containing 10 μ M of La(NO₃) and Ce(NO₃), 3,5 μ M of Sm(NO₃) and Gd(NO₃), and 5 μ M of Nd(NO₃) (Mix1); mixture of elements containing 40 μ M of Ce(NO₃) and La(NO₃), 7 μ M of Sm(NO₃) and Gd(NO₃), and 10 μ M of Nd(NO₃) (Mix 2). After 45 days, the gas exchange, chlorophyll content and anatomy of root and leaves were evaluated. With the REE addition, the plants growth was reduced, especially on root in the treatments with Mix and La. However, the chlorophyll content and the transpiration were maintained during the 45 days. The root cap increased in treatments with La as a way protection, but it may have blocked the nutrients uptake. The levels of macro and micronutrients tended to remain in the root than shoots. The cell barriers in roots were thickened in the treatments with Ce, and this element did not arrived in large amount in the shoot and did not caused damages on photosynthetic system.

Keywords: Maize. Lanthanum. Photosynthesis. Chlorophyll. Dry Biomass.

1 INTRODUÇÃO

Os elementos terras raras (ETR) são elementos químicos com propriedades químicas semelhantes e, nenhum outro grupo de elementos no sistema periódico mostra tamanha semelhança quanto os ETR. Esses pertencem à coluna IIIB e são constituídos pelos lantanídeos, ítrio e escândio. Um número cada vez maior de tecnologias (veículos elétricos e híbridos, catalisadores de automóveis, iluminação) e equipamentos digitais (monitores de tela plana, discos rígidos, câmeras digitais) possui componentes contendo ETR (LONG et al., 2010). Além disso, os ETR estão sendo utilizados na agricultura, principalmente na China, para melhorar a produção agrícola. Nesse país, se tem fertilizantes comerciais compostos por misturas de ETR na forma de nitrato, recomendado na dose de 400-700 g ha⁻¹. Os elementos que aparecem em maior quantidade em fertilizantes são Ce (50,2%), La (25,3%), Nd (17,6%) e Pr (5,5 %) (YUAN et al., 2001). Recentemente, muita especulação surgiu sobre o comportamento e possíveis funções dos ETR nos vegetais (TYLER, 2004).

Alguns pontos na pesquisa relacionada às alterações fisiológicas ocasionadas pelo La precisam ser investigados detalhadamente, para se conhecer melhor os efeitos destes nas plantas. Efeitos positivos, negativos ou nulos foram encontrados durante o crescimento e desenvolvimento das plantas (TYLER, 2004). Alguns estudos citam que o La poderia aumentar a atividade de hormônios vegetais, germinação de sementes, produtividade de

culturas etc (EL-RAMADY, 2009). O La aplicado nas plantas de milho aumentou os comprimentos e massa seca (ESPINDOLA, 2009).

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito das concentrações de La sobre o crescimento das plantas de milho, além de verificar possíveis alterações nas trocas gasosas e no teor de clorofila.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Locais de execução

O experimento foi conduzido na casa de vegetação do departamento de Ciência do Solo na Universidade Federal de Lavras (UFLA), onde as avaliações fotossintéticas também foram realizadas. A quantificação de La foi realizada por ICP-MS (espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente) no laboratório do Centro de Desenvolvimento Mineral da Vale em Santa Luzia, MG.

2.2 Condução do experimento

As sementes de milho foram semeadas em vermiculita e, após duas semanas foram transplantadas para solução nutritiva Hoagland e Arnon (1950) para adaptação. O experimento de *Zea mays* foi instalado em vasos geminados, onde as raízes foram divididas, para evitar a precipitação de La com P (com capacidade para 2 L em cada vaso), contendo de um lado apenas a solução nutritiva Hoagland a 40% de força iônica, e do outro lado contendo a mesma solução nutritiva, mas sem a adição de P, e adicionadas as concentrações de La.

As concentrações aplicadas de La foram: 0 (controle), 25, 50, 100, 150, 300 e 600 μM de La na forma de $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, sendo 4 repetições para cada tratamento. O tempo de exposição das plantas aos tratamentos foi de 12 dias.

2.3 Análises do sistema fotossintético

Para avaliação fotossintética das plantas submetidas a diferentes concentrações de La, foram avaliadas a fotossíntese líquida (P_n), a transpiração (E), a condutância estomática (g_s) e C_i/C_a , realizadas com auxílio do sistema portátil de fotossíntese, equipado com câmara de 6 cm^2 e fonte artificial de luz LI-6400XT (Portable Photosynthesis System Li-Cor, Nebraska, EUA). As avaliações foram feitas entre as 8h e 10h. A parcela experimental foi constituída de duas folhas por planta e uma planta por repetição.

Juntamente com a análise fotossintética, foi realizada a medição indireta do teor de clorofila, com auxílio do medidor portátil de clorofila SPAD-502 (Konica Minolta, Tokyo, Japan), usando a média de 3 folhas de uma planta para cada repetição. As avaliações com o IRGA e SPAD foram realizadas aos 12 dias.

2.4 Massa seca e teor de La

Para a avaliação das concentrações de La nas folhas e raízes e massa seca, as plantas foram lavadas em água corrente e secas em estufa com circulação forçada de ar a $60\text{ }^\circ\text{C}$ durante 72 horas. As plantas foram pesadas e a massa seca foi obtida. Em seguida, esse material foi triturado em moinho de facas tipo Willey e 500 mg de massa seca foram pesados em balança analítica. Posteriormente, as amostras foram encaminhadas para o laboratório do Centro de Desenvolvimento Mineral da Vale, em Santa Luzia, MG, para a quantificação de La por ICP-MS. Para a digestão da parte aérea e raízes e determinação do teor de La, utilizou-se a metodologia de Dinali (2013).

2.5 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância, a significância das médias foi comparada pelo teste t ($p \leq 0.05$). Posteriormente, as médias foram plotadas nos gráficos usando o programa SigmaPlot (versão 13).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações de La no meio de cultivo afetaram as variáveis avaliadas para as plantas de milho, embora não tenham promovido diferença significativa para os parâmetros de crescimento (Figura 2). No presente estudo verificou-se que as plantas mantiveram seu crescimento mesmo nas maiores concentrações de La (Figura 3A). No entanto, as raízes que cresceram nas soluções sem La, apresentaram-se mais desenvolvidas que as raízes na presença de La (Figura 2). D'Aquino et al., (2009) atribuíram a redução no crescimento da raiz após o tratamento com La à diminuição na divisão celular. O La também causou inibição quase completa da divisão celular e alongamento da raiz de plantas de cevada (HU et al., 2004). Outro estudo, aponta que o comprimento da raiz também diminuiu com o aumento de La (a partir de 8 mg L⁻¹ de La) em *Vicia faba*. Como o alongamento de raízes está relacionado com a atividade do meristema apical, com a inibição de atividades de mitose possivelmente afetadas por ETR, inevitavelmente o La interferiu no crescimento das plantas de milho.



Figura 1 Plantas de milho aos 12 dias de tratamento com La



Figura 2 Raízes de milho aos 12 dias com tratamento de $\text{La}(\text{NO}_3)_3$. (A**:Sem P e sem La; A:Na presença de La e sem P; B: Solução complete de Hoagland-Arnon)

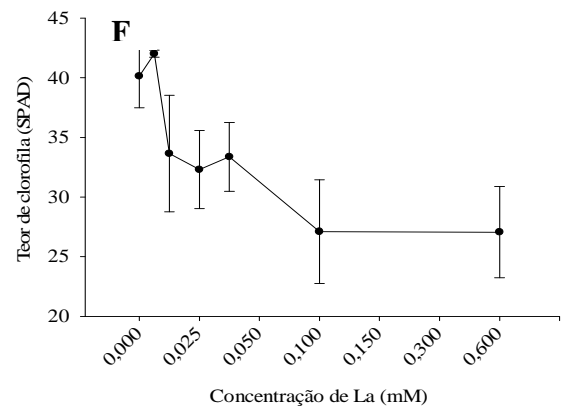
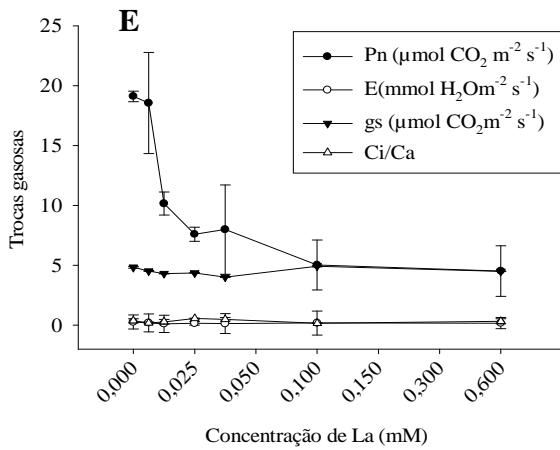
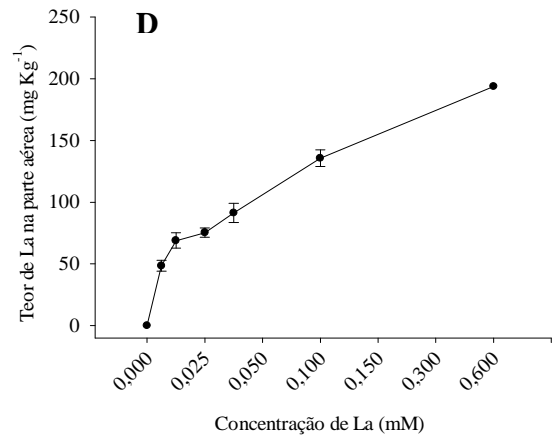
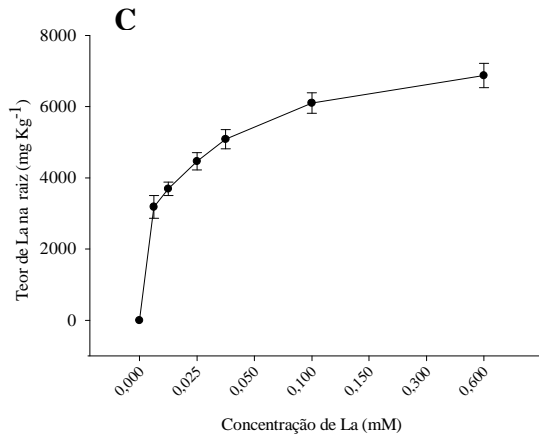
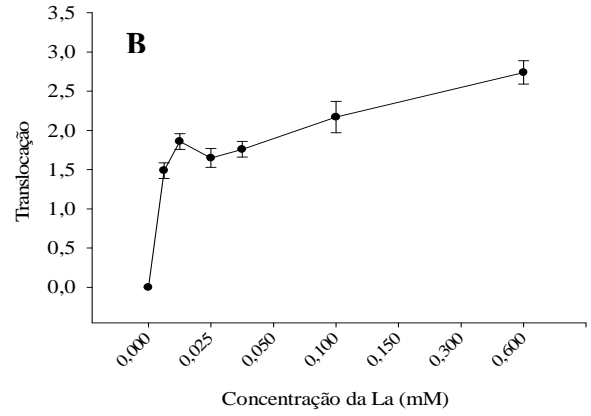
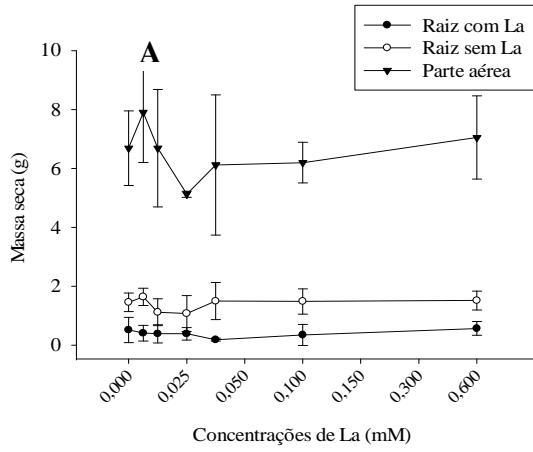


Figura 3 Peso seco (A), Translocação (B), Teor de La na raiz (C), Teor de La na parte aérea(D), Trocas gasosas (E) e Teor de clorofila (F) de plantas de milho submetidas à concentrações crescentes de La

Em raiz de arroz expostas a La, o efeito hormesis sobre o crescimento foi observado, os resultados indicaram que a massa fresca e seca de raízes apresentou crescimento maior em $0,05 \text{ mmol L}^{-1}$ de La, mas inibiu o crescimento em $1,0$ e $1,5 \text{ mmol L}^{-1}$ (LIU *et al.*, 2013). Já em *Juglans nigra*, a massa seca de raízes diminuiu com as concentrações de La, o que pode estar associado à uma resposta tóxica em níveis mais elevados de La, o que não foi verificado no presente estudo.

Com relação às análises de La no tecido vegetal, o limite de detecção obtido pelo ICP-MS foi de 4 mg kg^{-1} utilizou-se do padrão de referência Aquatic Plant, cuja recuperação foi de 98,2%. Verificou-se aumento no teor de La, tanto nas raízes como na parte aérea e, de maneira geral, os teores de La nas raízes foram bem superiores aos da parte aérea (Figuras 1C e 1D). As raízes atuam como barreiras aploplásticas, assim, evitariam ou reduziriam a translocação de La para a parte aérea e manteria a maior concentração desse elemento nos tecidos radiculares. Além disso, essa diferença no teor de La entre parte aérea e raiz, possivelmente, pode estar associada a uma maior afinidade dos transportadores de La para curta distância (ou seja, dentro da raiz), do que os transportadores de La para longa distância (da raiz para a parte aérea). De maneira geral, a translocação do La para a parte aérea foi menor que 3%, mostrando que esse elemento tende a permanecer nas raízes. Os resultados estão de acordo com os obtidos por Hu *et al* (2002) que observaram que o La e Ce também tiveram maior concentração nas raízes que na parte aérea, em plantas de trigo.

Para as trocas gasosas, houve diferença significativa na taxa fotossintética, que reduziu a partir da concentração de 0,1 mM de La. A transpiração foi maior no controle, reduzindo com o aumento da concentração de La. Não houve diferenças significativas nas médias de condutância estomática e relação C_i/C_a (Figura 3E). Das variáveis fotossintéticas, apenas taxa fotossintética e transpiratória foram influenciadas, mesmo sendo a fotossíntese muito sensível a diversos tipos de estresse, incluindo La.

Em *Juglans nigra* também foi observada a redução da atividade fotossintética com o aumento da concentração de La (NICODEMUS et al., 2009). No entanto, segundo Xiong et al. (2000), o fornecimento de ETR às plantas poderia aumentar a intensidade da fotossíntese e a taxa fotossintética líquida de 11-31%, seja uma mistura de ETR ou elementos individuais. Zhou et al. (2011) avaliaram as trocas gasosas em *Salvia miltiorrhiza* com concentrações crescentes de La, e também observaram que o tratamento com 20 e 60 mg L⁻¹ de La induziu um aumento da taxa fotossintética, acompanhada por um aumento de condutância estomática e taxa transpiratória.

Alguns autores assumem que o teor de clorofila e taxa fotossintética podem ser reguladas por ETR, aumentando a eficiência de absorção da luz, regular à distribuição de energia de excitação de fotossistema I e II, e promovendo as atividades da reação Hill (LIU et al., 2012), e que, o aumento dessas variáveis poderia ser atribuído a diversos processos fotossintéticos, incluindo o reforço de atividades fotoquímica, as trocas gasosas e fixação de CO₂ (ZHANG et al., 2009). No entanto, como os resultados em milho mostraram uma redução de taxa fotossintética e de transpiração, o La poderia então, não ser tão eficiente nos processos fotossintéticos nas

concentrações avaliadas. A redução da fotossíntese nas plantas de milho, em parte, poderia ser devido à redução do teor de clorofila (Figura 3F).

O teor relativo de clorofila apresentou diferença significativa, ocorrendo redução a partir da concentração de 0,05 mM de La (Figura 3F), e também foi observada clorose nas folhas das plantas (Figura 1). A clorofila e outros pigmentos estão relacionados à resposta a diversos estresses. Kopsell et al. (2011) e Wang et al. (2011) também observaram que a La e Ce podem reduzir o teor de clorofila em *Hydrilla verticillata*, isso teria ocorrido devido à interferência na formação de clorofilase, que é responsável pela degradação da clorofila (MALI; AERY, 2009), causando danos ao aparelho fotossintético e perturbação da biossíntese de clorofila ou a sua degradação causada pela peroxidação lipídica. Resultados contrários também foram mostrados por Hong et al. (2002), onde La e Ce promoveram crescimento, aumentaram a clorofila, taxa fotossintética, aumento na absorção de nitrogênio e fósforo e a indução da síntese de precursores da clorofila em espinafre.

4 CONCLUSÃO

Nas concentrações de La aplicadas, apesar da redução da taxa fotossintética, taxa transpiratória e teor de clorofila, não houve efeito negativo no desenvolvimento e crescimento do milho. Houve aumento no teor de La nas raízes e parte aérea com o aumento da concentração na solução nutritiva, mas, que não foram capazes de comprometer o crescimento vegetal.

REFERÊNCIAS

- D'AQUINO, L. et al. Effect of some rare earth elements on the growth and lanthanide accumulation in different Trichoderma strains. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, n. 12, p. 2406-2413, dec. 2009.
- DIATLOFF E, ASHER C. J, SMITH F. W. Effects of rare earth elements on the growth and mineral nutrition of plants. In: Rare Earths in agriculture Seminar, **Australian Academy of Technologies and Engineering**, 1995.
- DINALI, G. S. **Derivados da indústria de fosfatos no Brasil Lavras – MG**. 2014. 107 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do solo) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.
- EL-RAMADY, H.R.H. **A contribution on the bio-actions of rare earth elements in the soil/plant environment**. 278 p. Dissertationen aus dem Julius Kühn-Institut, Egypt, 2009.
- ESPINDOLA, M.C.G. **Tratamento de sementes de alface, milho, soja e feijão com elementos terras raras cério e lantânio**. 2009. 87 p. Tese (Doutorado em agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, 2009.
- HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. The water-culture method for growing plants without soil. **California Agricultural Experiment Station Circular**, v. 347, p. 1-39, 1950.
- HONG, F.; WEI, Z.; ZHAO, G. Mechanism of Lanthanum effect on chlorophyll of spinach. **Science in China**. Beijing, v.45, n. 2, p 166-176, apr. 2002.
- HU, H. et al. Physiological and biochemical effects of rare Earth elements on plants and their agricultural significance: A Review. **Journal of Plant Nutrition**, v. 12, n. 1, p. 183-220, 2004.

HU, X. *et al.* Bioaccumulation of lanthanum and cerium and their effects on the growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. **Chemosphere**, v. 48, n. 6, p. 621–9, ago. 2002.

KOPSELL, D.E. Leaf tissue pigments and chlorophyll fluorescence parameters vary among sweet corn genotypes of differential herbicide sensitivity. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 99, n.2, p.194-199, feb. 2011.

KULAKSIZ, S.; BAU, M. Contrasting behaviour of anthropogenic gadolinium and natural rare earth elements in estuaries and the gadolinium input into the North Sea. **Earth and Planetary Science Letters**, v. 260, n. 1-2, p. 361-371, ago. 2007.

LIU, D. et al. Effects of lanthanum on growth and accumulation in roots of rice seedlings. v. 59, n. 5, p. 196–200, 2013. LIU, D. et al. Effects of lanthanum on growth and accumulation in roots of rice seedlings. **Plant Soil Environ.**, v. 59, n. 5, p. 196-200, 2013.

LIU, D.; WANG, X.; CHEN, Z. Effects of rare earth elements and REE-binding proteins on physiological responses in plants. **Protein and peptide letters**, v. 19, n. 2, p. 198-202, fev. 2012.

LONG, K.R. et al. **The principal rare earth elements deposits of the United States**-a summary of domestic deposits and a global perspective. New York: USGS, 2010. (Scientific Investigations Report 2010-5220).

MALI, M.; AERY, N.C. 2009. Effect of silicon on growth, biochemical constituents and mineral nutrition of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). **Commun. Soil Sci. Plant Anal.**, v, 40, p.1041-1052, 2009.

NICODEMUS, M.A.; SALIFU, K.F.; JACOBS, D.F. Influence of lanthanum level and interactions with nitrogen source on early development of *Juglans nigra*. **Journal of Rare Earths**, v. 27, n. 2, p. 270-279, apr. 2009.

TYLER, G. Rare earth elements in soil and plant systems: a review. **Plant and soil**, v, 267, p. 191-206, 2004.

WANG, C. et al. Lanthanum Element Induced Imbalance of Mineral Nutrients, HSP 70 Production and DNA-Protein Crosslink, Leading to Hormetic Response of Cell Cycle Progression in Root Tips of *Vicia faba* L. seedlings. **Dose-response**: a publication of International Hormesis Society, v. 10, n. 1, p. 96--10, jan. 2012.

XIONG, B K. et al. **Rare earth element research and applications in Chinese agriculture and forest (in Chinese)**. Beijing, China: Metallurgical Industry Press, 2000. p 1-151. (Abstract).

XU, X. et al. Accumulation of rare earth elements in maize plants (*Zea mays* L.) after application of mixtures of rare earth elements and lanthanum. **Plant and Soil**, v. 252, p. 267-277, 2003.

YUAN, D. et al. Uptake and distribution of rare earth elements in rice seeds cultured in fertilizer solution of rare earth elements. **Chemosphere**, v. 43, n. 3, p. 327-37, abr. 2001.

ZHANG, R H. et al. Effects of exogenous putrescine on gas-exchange characteristics and chlorophyll fluorescence of NaCl-stressed cucumber seedlings. **Photosynthesis Research**, v. 100, n. 3, p. 155-162, 2009.

ZHAO, L. et al. Alginate modifies the physiological impact of CeO₂ nanoparticles in corn seedlings cultivated in soil. **Journal of Environmental Sciences**, v. 26, n. 2, p. 382--389, fev. 2014.

ZHOU, J.; GUO, L.; ZHANG, J.; ZHOU, S.; YANG, G.; ZHAO, M.; HUANG, L. (2011). Effects of LaCl₃ on photosynthesis and the accumulation of tanshinones and salvianolic acids in *Salvia miltiorrhiza* seedlings. **Journal of Rare Earths**, 29(5), p. 49-498. doi:10.1016/S1002-0721(10)60486.