



ANA CRISTINA MAGALHÃES DE FRANÇA

**LEVANTAMENTO FLORÍSTICO E
CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS DE
ESPÉCIES NATIVAS DO CERRADO EM SOLOS
CONTAMINADOS POR METAIS PESADOS**

LAVRAS – MG

2011

ANA CRISTINA MAGALHÃES DE FRANÇA

**LEVANTAMENTO FLORÍSTICO E CARACTERÍSTICAS
ANATÔMICAS DE ESPÉCIES NATIVAS DO CERRADO EM SOLOS
CONTAMINADOS POR METAIS PESADOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada, área de concentração em Ecologia e conservação de recursos naturais em ecossistemas fragmentados e agrossistemas, para a obtenção do título de Mestre

Orientadora

Dra. Rosângela Alves Tristão Borém

Coorientador

Dr. Luiz Roberto Guimarães Guilherme

LAVRAS – MG

2011

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

França, Ana Cristina Magalhães de.

Levantamento florístico e características anatômicas de espécies nativas do cerrado em solos contaminados por metais pesados / Ana Cristina Magalhães de França. – Lavras : UFLA, 2011.

112 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2011.

Orientador: Rosângela Alves Tristão Borém.

Bibliografia.

1. *Eugenia dysenterica*. 2. *Inga vera*. 3. *Gomphrena globosa*. 4. Cádmiio. 5. Zinco. 6. Anatomia ecológica. 7. Fungos micorrízicos arbusculares. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 574.52642

ANA CRISTINA MAGALHÃES DE FRANÇA

**LEVANTAMENTO FLORÍSTICO E CARACTERÍSTICAS
ANATÔMICAS DE ESPÉCIES NATIVAS DO CERRADO EM SOLOS
CONTAMINADOS POR METAIS PESADOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada, área de concentração em Ecologia e conservação de recursos naturais em ecossistemas fragmentados e agrossistemas, para a obtenção do título de Mestre

APROVADA em 27 de junho de 2011.

Dr. Cláudio Roberto Fonsêca Sousa Soares UFSC

Dr. Evaristo Mauro de Castro UFLA

Dr. Luiz Roberto Guimarães Guilherme UFLA

Dra. Rosângela Alves Tristão Borém
Orientadora

LAVRAS – MG

2011

*O Senhor é o meu refúgio.
(Sl 91:9)*

À mamãe, rocha e flor, meu amor eterno.

Aos que acreditaram.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Biologia, Setor de Ecologia, pela oportunidade concedida para a realização do mestrado e à CAPES, pela concessão da bolsa de estudos. Ao CNPq e FAPEMIG, pelo fomento dessa pesquisa (PRONEX).

À Votorantim Metais, Unidade Três Marias/MG, por incentivar a realização desse trabalho e pelo fornecimento de solo e à Cemig, pelo fornecimento de mudas e sementes das espécies estudadas.

À professora Rosângela Alves Tristão Borém, pela confiança, orientação cuidadosa e amizade sincera e ao professor Luiz Roberto Guimarães Guilherme, pela oportunidade em sua pesquisa, orientação e auxílio nos processos.

Aos membros da banca examinadora, professores Evaristo Mauro de Castro e Cláudio Roberto de Sousa Fonsêca Soares, pelas contribuições valiosas.

À professora Adriana Tiemi Nakamura, pela disponibilidade, apoio e ajuda no Laboratório de Anatomia Vegetal (Departamento de Biologia).

Ao professor Eduardo Alves e à Eloisa Leite, pela ajuda e acompanhamento dos trabalhos no Laboratório de Microscopia Eletrônica (Departamento de Fitopatologia).

A todos do Laboratório de Pedologia e Geoquímica Ambiental e do Laboratório de Microbiologia do Solo (Departamento de Ciência do Solo), pelo auxílio nas análises.

Aos grandes amigos Gra e Giu, pela ajuda desde o início e aos salvadores: Felipe Machado, Jessé Valentim, Geila Carvalho, Leandro Lino, Daniel Quedes, Paulo Avelar, Cláudia Labory e Bruno Souza.

Aos meus parceiros de todas as horas: mamãe, Renato, Lilha; e a Lílian, Ana Flávia e Kelly, minhas amigas de sempre.

RESUMO

Uma das atividades que mais contribui para a poluição do solo com elementos-traço é a mineração, por produzir grandes quantidades de rejeitos. A fitorremediação é uma técnica de uso crescente na descontaminação ambiental. Esse trabalho objetiva identificar modificações anatômicas em folhas e raízes de espécies vegetais nativas do Cerrado quando submetidas ao contato com solo contaminado com altos teores de Cádmio e Zinco, bem como a possibilidade de uso dessas espécies na de fitorremediação ambiental. Inicialmente, uma área de rejeito de mineração foi visitada para realização do levantamento florístico e seleção de espécies para estudo e coleta de solo contendo altos teores de elementos-traço. Na área de estudo foram encontradas oito espécies com potencial uso em fitorremediação, distribuídas em sete famílias botânicas. Dente elas, três espécies foram selecionadas para testes, sendo as espécies arbóreas *Eugenia dysenterica* DC e *Inga vera* Willd e a espécie herbácea *Gomphrena globosa* L. Mudanças destas espécies foram colocadas em contato com o solo contaminado por 25,22 mg Kg⁻¹ de Cd e 4898,39 mg Kg⁻¹ de Zn e em solo nativo de Cerrado sem contaminação (1,18 mg Kg⁻¹ de Cd e 14,59 mg Kg⁻¹ de Zn) como testemunha. As mudas de *G. globosa* receberam inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) para verificação de seu desenvolvimento em solo contaminado com os elementos em associação com microorganismos do solo. Amostras dos órgãos vegetativos foram analisadas em microscopia de luz e varredura, e o teor dos contaminantes absorvidos pelas espécies foi mensurado. Os resultados mostram que todas as espécies apresentaram plasticidade morfológica nessas condições, como variações na espessura do mesofilo, número de camadas no parênquima esponjoso, tamanho do parênquima paliádico e diferenças no tamanho dos estômatos quando em contato com os elementos estudados. As espécies obtiveram bons resultados na concentração dos elementos, principalmente na absorção e acumulação pelas raízes. Nas raízes de *E. dysenterica* foram encontrados 17,92 mg Kg⁻¹ de Cd e 560,88 mg Kg⁻¹ de Zn e em *I. vera* 28,12 mg Kg⁻¹ de Cd e 1394,33 mg Kg⁻¹ de Zn. Em *G. globosa* foram encontrados 69,35 mg Kg⁻¹ de Cd e 1445,77 mg Kg⁻¹ de Zn nas raízes das plantas em solo sem FMAs; e 73,60 mg Kg⁻¹ de Cd e 983,53 mg Kg⁻¹ de Zn nas raízes das plantas que receberam a inoculação dos fungos. *E. dysenterica* apresentou maior sensibilidade ao Cd enquanto *I. vera* e *G. globosa* demonstraram maior resistência. Nas partes aéreas (caule e folhas) de *E. dysenterica* foram encontrados 6,51 mg Kg⁻¹ de Cd e 383,34 mg Kg⁻¹ de Zn. Em *I. vera* 1,77 mg Kg⁻¹ de Cd e 2691,23 mg Kg⁻¹ de Zn. Em *G. globosa* foram encontrados 25,88 mg Kg⁻¹ de Cd e 3396,18 mg Kg⁻¹ de Zn nas partes aéreas das plantas em solo sem FMAs; e 29,15 mg Kg⁻¹ de Cd e 1485,16 mg Kg⁻¹ de Zn nas partes aéreas das plantas que receberam a inoculação dos fungos. Com esses

dados, o índice de translocação foi calculado, onde *I. vera* e *G. globosa* apresentaram elevado índice de translocação de Zn, com valores superiores a 1 nas duas espécies. *I. vera* apresentou índice 1,98 para translocação desse elemento. Em *G. globosa* os resultados obtidos foram de 2,37 em solo sem FMAs e 1,61 nas plantas que receberam a inoculação dos fungos micorrízicos arbusculares. As espécies estudadas não apresentaram alto índice de translocação de Cd. A inoculação de FMAs em *G. globosa* não se mostrou favorável para o desenvolvimento dessa espécie nas condições estudadas. As espécies estudadas podem ser usadas em programas de recuperação de áreas com características semelhantes por apresentarem capacidade de adaptação aos contaminantes. Estudos com maior duração podem contribuir para melhor conhecimento e caracterização destas espécies como hiperacumuladoras dos elementos estudados.

Palavras-chave: Recuperação de áreas degradadas. Cádmio. Zinco. Mineração. Anatomia ecológica.

ABSTRACT

Mining is one of the human activities that most contribute to soil pollution with trace elements. It usually results in the deposition of great amounts of metal in the soil. Phytoremediation is a technique that has been largely used for environmental decontamination. The objectives of this study were to identify anatomical differences in leaves and roots of plants exposed to soil contaminated with high levels of cadmium and zinc, as well as to verify the presence of species with potential phytoremediation use. The specimens used are all native vegetal types of the Cerrado biome (Brazilian Savannah). A mining tailings area was selected and visited to first make a floristic inventory and selection of species to be used in this study. Samples of soil containing high levels of trace elements were also collected. A total of eight species of potential phytoremediation use were registered. These species are distributed among seven different families. The species *Eugenia dysenterica* DC (tree species), *Inga vera* Willd (tree species) and *Gomphrena globosa* L. (herbaceous species) were selected for more detailed studies concerning their phytoremediation potential. Seedlings of these species were placed in soil contaminated with 25.22 mg kg⁻¹ of Cd and 4898.39 mg kg⁻¹ of Zn. The control was placed in uncontaminated soil of the Cerrado biome (1.18 mg kg⁻¹ of Cd and 14.59 mg kg⁻¹ of Zn). Seedlings of *G. globosa* were inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) to verify the plants' development (in contaminated soil) and the possible effects of their symbiosis with the AMF. Samples of the vegetative organs were examined through light and scanning microscopy. The level of contaminants absorbed by the specimens was measured. The results showed that all species have morphological plasticity under the conditions they were exposed to. The morphological variations observed were the thickness of the mesophyll, number of layers in the spongy parenchyma, size of palisade parenchyma and differences in stomatal index. The results obtained concerning the concentration of trace elements, especially related to the absorption and accumulation of elements by the roots, were optimistic. The concentration of elements in the roots for the three species were: *E. dysenterica* with 17.92 mg kg⁻¹ of Cd and 560.88 mg kg⁻¹ of Zn; *I. vera* with 28.12 mg kg⁻¹ of Cd and 1394.33 mg kg⁻¹ of Zn; and *G. globosa* with 69.35 mg kg⁻¹ of Cd and 1445.77 mg kg⁻¹ of Zn. The specimens of *G. globosa* inoculated with AMF, presented different concentration of elements in the roots: 73.60 mg kg⁻¹ of Cd and 983.53 mg kg⁻¹ of Zn. *E. dysenterica* showed higher sensibility to Cd, whilst *I. vera* and *G. globosa* presented higher resistance to this element. Considering the aerial parts (stem and leaves), *E. dysenterica* presented 6.51 mg kg⁻¹ of Cd and 383.34 mg kg⁻¹ of Zn; *I. vera*, 1.77 mg kg⁻¹ of Cd and 2691.23 mg kg⁻¹ of Zn and *G. globosa*, 25.88 mg kg⁻¹ of Cd and 3396.18 mg kg⁻¹ of Zn. The specimens of *G.*

globosa inoculated with AMF presented 29.15 mg kg⁻¹ of Cd and 1485.16 mg kg⁻¹ of Zn in their aerial parts. The data obtained in this study was used to calculate the translocation index of each species. The results showed that *I. vera* and *G. globosa* presented high Zn translocation index values (>1). The Zn translocation index for *I. vera* was 1.98; *G. globosa* (without AMF), 2.37 and *G. globosa* (with AMF), 1.61. However, the Cd translocation index was low in all species. The AMF inoculation on *G. globosa* was not favorable for the development of this species under the environmental conditions considered in the present study. The three species studied have the ability to adapt to contaminant exposure. Thus, these species may be used in recovery programs of areas with environmental characteristics similar to those considered in this study. Long-duration studies should be considered to obtain a better understanding and characterization of these species as hyperaccumulators of the elements analyzed in this study.

Keywords: Recovery of degraded areas. Cadmium. Zinc. Mining. Ecologic anatomy.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Figura 1 Detalhamento da área de estudo na bacia do Rio São Francisco..... 21
- Figura 2 Mapa de localização do município de Três Marias, MG..... 22

CAPÍTULO 2

- Figura 1 Área de Processamento de Zinco, Votorantim Metais Unidade Três Marias – MG..... 50
- Figura 2 Espécies nativas do Cerrado coletadas na área de estudo..... 52

CAPÍTULO 3

- Figura 1 Secções transversais das folhas *Eugenia dysenterica*..... 69
- Figura 2 Secções transversais das folhas *Inga vera*..... 70
- Figura 3 Fotomicrografias de *Eugenia dysenterica* em microscopia eletrônica de varredura..... 74
- Figura 4 Fotomicrografias de *Inga vera* em microscopia eletrônica de varredura..... 76

CAPÍTULO 4

- Figura 1 Secções transversais das folhas de *Gomphrena globosa*..... 99
- Figura 2 Fotomicrografias de *Gomphrena globosa* em microscopia eletrônica de varredura..... 102
- Figura 3 Secções transversais das raízes de *Gomphrena globosa*..... 103

LISTA DE GRÁFICOS

CAPÍTULO 3

- Gráfico 1 Valores médios do desenvolvimento foliar de *Eugenia dysenterica* em solo contaminado por Cd e Zn..... 71
- Gráfico 2 Valores médios do desenvolvimento foliar de *Inga vera* em solo contaminado por Cd e Zn..... 71

CAPÍTULO 4

- Gráfico 1 Espessura de estruturas foliares em *Gomphrena globosa* em solo contaminado com Cd e Zn, com e sem inoculação de FMAs..... 97
- Gráfico 2 Espessura da folha de *Gomphrena globosa* na região da nervura central e no mesofilo..... 97

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1	Lista de espécies nativas encontradas na área de estudo com potencial uso em recuperação de áreas degradadas.....	51
Tabela 2	Teores de Cd e Zn (mg Kg^{-1}) nas amostras de solo.....	53

CAPÍTULO 3

Tabela 1	Biomassa seca em gramas de <i>Eugenia dysenterica</i> e <i>Inga vera</i>	67
Tabela 2	Teores de Cd e Zn encontrados nas amostras de <i>Eugenia dysenterica</i> e <i>Inga vera</i>	77
Tabela 3	Valores de bioacumulação e translocação de Cd e Zn em <i>Eugenia dysenterica</i> e <i>Inga vera</i>	78

CAPÍTULO 4

Tabela 1	Biomassa seca em gramas de <i>Gomphrena globosa</i> em solo contaminado com Cádmio e Zinco, sem e com a inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs).....	95
Tabela 2	Teores de Cd e Zn encontrados nas amostras de <i>Gomphrena globosa</i> , sem e com inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs).....	105
Tabela 3	Valores de bioacumulação e translocação de Cd e Zn em <i>Gomphrena globosa</i> , sem e com inoculação de fungos micorrízicos arbusculares.....	105

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 Introdução geral: metais pesados no solo e as técnicas de fitorremediação.....		15
1	INTRODUÇÃO.....	16
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
2.1	Legislação Pertinente.....	19
2.2	Apresentação da Área de Estudo.....	20
2.3	Contaminação do Solo por Metais Pesados.....	22
2.4	Fitorremediação na Recuperação de Áreas Degradadas.....	24
2.5	Uso de Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs).....	29
2.6	Anatomia Ecológica.....	31
3	CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	33
	REFERÊNCIA.....	35
 CAPÍTULO 2 Levantamento florístico de uma área de depósito de rejeito do processamento de zinco.....		44
1	INTRODUÇÃO.....	45
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	47
2.1	Área de Estudo.....	47
2.2	Coleta e Identificação de Espécies Nativas.....	47
2.3	Coleta e Análise de Solo.....	48
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
3.1	Pesquisas Realizadas na Área de Estudo.....	49
3.2	Identificação de Espécies Nativas.....	51
3.3	Análises do solo.....	53
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	54
5	CONCLUSÃO.....	55
	REFERÊNCIA.....	56
 CAPÍTULO 3 Tolerância aos altos níveis de cádmio e zinco no solo em <i>Eugenia dysenterica</i> DC. (Myrtaceae) e <i>Inga vera</i> Willd. (Fabaceae).....		58
1	INTRODUÇÃO.....	61
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	63
2.1	Área de Estudo.....	63
2.2	Montagem dos Experimentos.....	63
2.3	Microscopia de Luz.....	64
2.4	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	65
2.5	Avaliação dos Teores de Cádmio e Zinco.....	66

2.6	Análise Estatística.....	66
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	67
3.1	Análises Microscópicas.....	67
3.2	Teores de Cádmio e Zinco.....	77
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	79
5	CONCLUSÃO.....	80
	REFERÊNCIA.....	81

CAPÍTULO 4 Tolerância aos altos níveis de cádmio e zinco no solo em *Gomphrena globosa* L. (Amaranthaceae).....

		85
1	INTRODUÇÃO.....	88
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	90
2.1	Área de Estudo.....	90
2.2	Preparação e Inoculação dos Fungos Micorrízicos Arbusculares.....	90
2.3	Preparação das Mudanças e Montagem dos Experimentos.....	91
2.4	Avaliações Macroscópicas, de Crescimento e Biomassa.....	91
2.5	Microscopia de Luz.....	92
2.6	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	93
2.7	Avaliação dos Teores de Cádmio e Zinco.....	94
2.8	Análise Estatística.....	94
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	95
3.1	Análises Microscópicas.....	96
3.2	Teores de Cádmio e Zinco.....	104
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	106
5	CONCLUSÃO.....	107
	REFERÊNCIA.....	108

CAPÍTULO 1

Introdução Geral

Metais pesados no solo e as técnicas de fitorremediação

1 INTRODUÇÃO

As atividades de mineração são de fundamental importância para a obtenção da matéria-prima necessária para a fabricação de bens indispensáveis ao homem, trazendo inúmeros benefícios para a sociedade e para o desenvolvimento do país. Entretanto, diversos trabalhos mostram que o processo de obtenção desses recursos pode causar impactos ambientais, comprometendo a saúde da população, dos ecossistemas e a vida de futuras gerações.

O Estado de Minas Gerais detém 92% das reservas brasileiras de zinco (Zn), sendo responsável por praticamente 100% da produção (BIGARELLI; ALVES, 1998). Uma das empresas produtoras é a Votorantim Metais, com atividades de mineração localizadas em Vazante e Paracatu, MG. O processamento do minério é realizado no município de Três Marias, MG. A área recém adquirida pela empresa possui um histórico de contaminação do solo por acúmulo de resíduos ricos em elementos traço, resultado da atividade do refino do zinco.

Solo contaminado é aquele que apresenta concentrações de determinado elemento químico acima do esperado em condições naturais, sendo essa contaminação geralmente resultante de atividades antrópicas (McBRIDE, 1994; SOARES et al., 2002). Se a contaminação resulta em alteração de sistemas biológicos ou bioquímicos, o solo é então dito poluído (KABATA-PENDIAS; MUKHERJEE, 2007).

A poluição do solo tem merecido atenção especial nos últimos anos por apresentar sérios riscos à saúde humana e à qualidade do ambiente, sendo crescente o interesse mundial nas questões ambientais, de forma que direcionou a Política Pública Nacional na elaboração de leis de proteção ao meio ambiente, delimitação de áreas de proteção ambiental, normatizações para o descarte de rejeitos industriais e instruções para melhor controle dos impactos ambientais

causados pelas empresas, atentando para a responsabilidade social e ambiental dessas organizações. Nesse sentido, cita-se a Lei Federal 6.938/81 e a Resolução CONAMA 420/2009.

Como alternativa ao elevado custo de recuperação através de processos químicos e físicos das áreas degradadas, os estudos dos processos biológicos na recuperação dessas áreas, como a fitorremediação (por meio do uso de plantas) e a biorremediação (fungos e bactérias) estão crescendo, sendo muito incentivados pelo setor industrial, que visa atender às exigências descritas na legislação, através da correção ou mitigação dos danos ambientais causados por suas atividades.

A fitorremediação é uma técnica emergente para descontaminação ambiental (LINDBLOM et al., 2006), de baixo custo e que gera o mínimo de perturbação ao solo quando comparado com outras técnicas (HENRY, 2000), favorecendo o financiamento da recuperação ambiental quando os recursos são escassos (NASCIMENTO et al., 2006).

Os mecanismos de tolerância das plantas aos elementos-traço eram pouco conhecidos. Entretanto, muitos trabalhos estão sendo desenvolvidos com o objetivo de obter maior conhecimento das estratégias utilizadas pelas plantas para contornar os problemas causados pela contaminação do solo em que elas se encontram e garantir sua sobrevivência. Atualmente já se sabe que existem grandes diferenças morfológicas entre as espécies vegetais tolerantes e as mais sensíveis aos efeitos dos metais no solo; e ainda que as principais diferenças ocorram em processos bioquímicos e fisiológicos. A competição dos metais pela absorção das plantas demonstra que o excesso de Zn no solo pode levar a baixa absorção de Fe acarretando na redução nas taxas de fotossíntese (ROSEN et al., 1977), podendo resultar na morte da planta.

O estudo das mudanças morfoanatômicas ocorridas nas espécies vegetais submetidas ao contato com solo contaminado podem ajudar a

identificar esses mecanismos de tolerância e a compreender a influência dos fatores ambientais nas plantas sob condições adversas, ajudando na seleção das plantas a serem utilizadas em programas de recuperação de áreas degradadas.

Diversos autores apontam o contato com metais pesados presentes no solo como causadores de alterações na morfologia de raízes e folhas, entre elas o espessamento dos vasos do xilema por deposição dos metais, afetando o transporte de água para as partes aéreas das plantas e a translocação dos metais (SRIDHAR et al , 2005).

Os estudos mostram que poucas tentativas de fitorremediação são realizadas utilizando-se de espécies nativas. De forma geral, os trabalhos mostram maior uso de espécies exóticas e entre elas destacam-se as plantas dos gêneros *Brachiaria*, originária da África, *Eucalyptus*, em sua maioria de origem australiana e *Pinus*, com grande parte das espécies originárias na América do Norte e ainda algumas espécies da América do Sul, testadas por Accioly (2004).

Sendo assim, o presente trabalho objetivou testar a tolerância de espécies nativas do Cerrado aos altos níveis de metais pesados, especialmente Cd e Zn, em busca da identificação de alterações morfoanatômicas que podem se desenvolver; e visando seu uso na fitorremediação e recuperação de uma área de rejeito industrial (descrita no capítulo 2).

Nesse sentido, foram realizados dois estudos, sendo o primeiro com duas espécies arbóreas (*Eugenia dysenterica* DC. e *Inga vera* Willd.) com apresentação no capítulo 3; e uma espécie herbácea (*Gomphrena globosa* L.) com e sem a inoculação de fungos micorrízicos arbusculares, apresentado no capítulo 4.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Legislação Pertinente

A divulgação dos danos ambientais feita por organizações de proteção ao meio ambiente em todo o mundo fez surgir a Avaliação de Impacto Ambiental (AIA) que visa mensurar as conseqüências de atividades antrópicas em ecossistemas naturais para que sejam tomadas as medidas necessárias para a manutenção da qualidade ambiental.

Após a Conferência das Nações Unidas para o Meio Ambiente, em 1972, as políticas de desenvolvimento e intervenções econômicas foram modificadas, não sendo mais orientadas exclusivamente por parâmetros econômico-financeiros e questões ambientais e sócio-econômicas foram inseridas (FERREIRA, 2000), fazendo surgir uma ampla literatura especializada em avaliações e relatórios de impacto ambiental.

A AIA chegou ao Brasil nessa época, como uma exigência de órgãos internacionais financiadores de pesquisas (ROHDE, 1995); sendo posteriormente inserida na Política Nacional do Meio Ambiente (PNMA) regulamentada pela Lei Federal 6.938/81, que “Dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, seus fins e mecanismos de formulação e aplicação, e dá outras providências” (BRASIL, 1981), tornando-se obrigatória em processos de licenciamento de atividades poluidoras ou modificadoras do ambiente natural (PEREIRA et al., 2001).

Através de parceria já existente entre a Universidade Federal de Lavras (UFLA) e a empresa de mineração Votorantim Metais, Unidade Três Marias – MG, foram realizados estudos sobre os efeitos dos metais pesados concentrados no solo das áreas de rejeito de mineração em espécies nativas do Cerrado, com o

objetivo de promover a descontaminação e recuperação ambiental, por meio das técnicas de fitorremediação, visando alcançar adequação com a Resolução 420/2009 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), que “Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas” (BRASIL, 2009).

2.2 Apresentação da Área de Estudo

A Bacia do São Francisco, com área de drenagem de 639.219 km², se estende pelos Estados de Minas Gerais, Bahia, Goiás, Pernambuco, Sergipe e Alagoas, além do Distrito Federal (Figura 1A), representando 7,5% do território brasileiro (ANA, 2002). Devido à sua extensão e aos diferentes ambientes percorridos, a bacia se divide em quatro unidades fisiográficas: na região do Alto São Francisco, correspondente a 19% da área da bacia, que vai da nascente até a cidade de Pirapora (MG); no Médio São Francisco, que se estende de Pirapora a Remanso (BA), correspondente a 55% da bacia; no Submédio São Francisco, de Remanso até Paulo Afonso (BA) (24% da bacia) e no Baixo São Francisco, que vai de Paulo Afonso até a foz (7% da bacia), conforme Figura 1B.

A Bacia do São Francisco possui 36 afluentes mais importantes, dentre os quais apenas 19 são perenes destacando-se, pela margem direita, os rios Pará, Paraopeba, Velhas e Verde Grande e, pela margem esquerda, os rios Abaeté, Paracatu, Urucuia, Pandeiros, Carinhanha, Corrente e Grande. As áreas de drenagem desses afluentes, com exceção do Rio Verde Grande, se situam na região não abrangida pelo Polígono das Secas, representando cerca de 50% da área total da bacia (ANEEL, 1998).

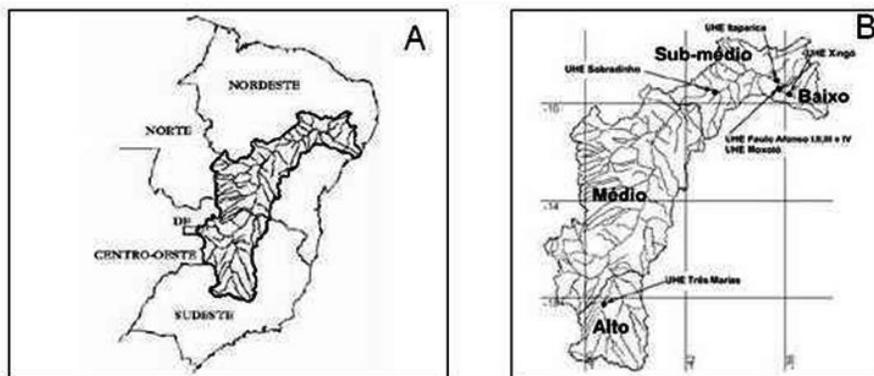


Figura 1 Detalhamento da área de estudo na bacia do Rio São Francisco
 (A) Localização geográfica da bacia do Rio São Francisco; (B) Regiões fisiográficas da bacia do Rio São Francisco e localização dos principais aproveitamentos hidrelétricos. Imagem adaptada de Instituto Nacional de Gestão das Águas, 2007

No estado de Minas Gerais, a bacia do São Francisco possui uma área drenada de 235.443 km², abrangendo 219 municípios e cobrindo uma população de 7.538.610 pessoas (6.713.147 urbana e 825.463 rural), onde são predominantes as atividades agropecuárias e relevantes as atividades industriais e de mineração. Para fins de gestão dos recursos hídricos em território mineiro, o IGAM divide o São Francisco em cinco grandes bacias: Velhas, Paraopeba, Pará e São Francisco em suas porções Norte e Sul. Essas, por sua vez, englobam dez UPGRHs – Unidades de Planejamento e Gestão dos Recursos Hídricos (IGAM, 2007).

O município de Três Marias está localizado na UPGRH SF4 (Entorno da Represa Três Marias), na Figuras 2, conforme IGAM (2007), onde ficam as instalações de processamento do minério de zinco da Votorantim Metais e também é depositado o rejeito do processamento do zinco.

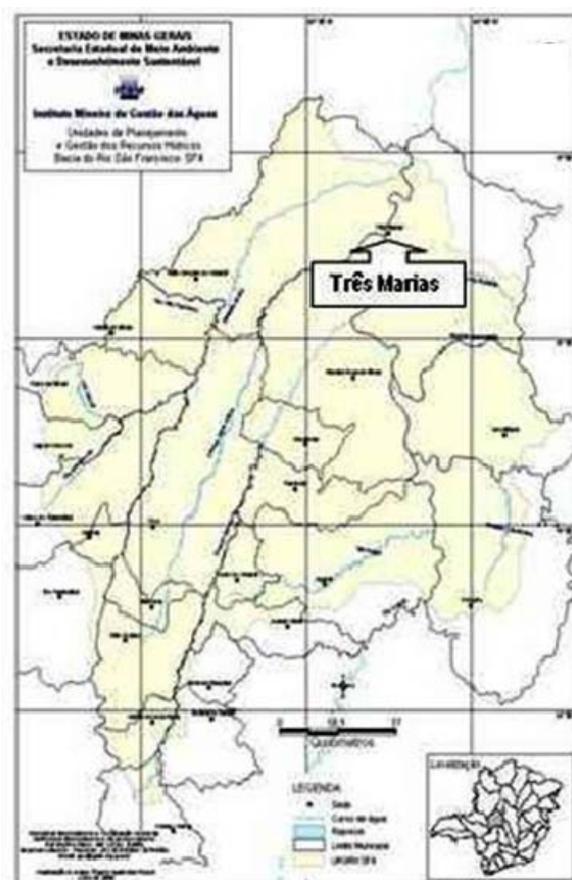


Figura 2 Mapa de localização do município de Três Marias, MG
Unidade de Planejamento UPGRH SF4 (Entorno da Represa Três Marias). Imagem adaptada de Instituto Nacional de Gestão das Águas, 2007

2.3 Contaminação do Solo por Metais Pesados

Dentre as atividades que mais contribuem para a poluição do solo com metais pesados destacam-se a mineração e a indústria metalúrgica, principalmente a de metais não ferrosos. Isso porque ao promoverem a extração de alguns metais, produzem grandes quantidades de rejeitos, muitas vezes com

elevados teores de níquel (Ni), cromo (Cr), cobre (Cu), chumbo (Pb), cádmio (Cd) e zinco (Zn), que afetam severamente a vegetação (BAKER et al., 1994) e as atividades biológicas do solo, como respiração e decomposição, no local e em áreas adjacentes (VANGRONSVELD et al., 1997).

Com o crescente desenvolvimento dessas atividades, a produção de resíduos vem aumentando, podendo formar grandes fontes de contaminação ambiental, devido à possível presença de elevadas concentrações de elementos químicos. Enfatizam-se, nesta gama, os elementos-traço, termo que, segundo Pierzynski et al. (1994) e Sparks (1995), tem sido preferivelmente usado para definir metais catiônicos e aniônicos que normalmente estão presentes em baixas concentrações no ambiente, usualmente menor que 1 g kg^{-1} .

Segundo Guilherme et al. (2005), os elementos-traço sempre serão onipresentes em solos, sedimentos e sistemas aquáticos e podem ser adicionados ao solo devido tanto a ações naturais (pedogênica), através do intemperismo de rochas e minerais, as emissões vulcânicas e outros; quanto por interferência humana (antropogênicas), por aterros sanitários, as atividades industriais e de mineração, as aplicações de corretivos, de fertilizantes e de pesticidas, entre outros.

A concentração desses elementos nos solos antes da adição antropogênica é, geralmente, aceita como benigna ou representa pouco risco, porque o crescimento de plantas ou a qualidade da água não são afetados adversamente (CHANG et al., 1984). Entretanto, há locais onde, mesmo sem a adição de materiais contendo esses elementos, sua concentração excede os limites admissíveis para solos devido a processos naturais de enriquecimento com elementos-traço ou de fatores de formação do solo.

Nos locais onde esses níveis base de elementos-traço são altos e em situações onde eles possam estar presentes em formas muito móveis no solo,

podendo vir a ser biodisponíveis, o risco gerado pela presença desses elementos-traço se eleva (GUILHERME et al., 2002).

Alguns desses elementos, como cádmio (Cd), chumbo (Pb) e mercúrio (Hg), não são utilizados em funções fisiológicas e nutritiva de seres vivos e causam danos estruturais quando entram na cadeia alimentar e sofrem bioacumulação (CUI et al., 2005).

Estudos em locais próximos a complexos industriais e de refino de minério indicam concentrações elevadas de metais pesados no solo e apontam essas atividades como principais responsáveis pela alteração na funcionalidade, biodiversidade e sustentabilidade dos ecossistemas, causando danos, às vezes irreversíveis, às propriedades químicas, físicas e biológicas do solo (SOARES et al. 2002).

Por esse motivo, o interesse em problemas ambientais causados por acúmulo de metais em solos vem crescendo nos últimos anos. Porém, segundo Soares et al. (2001), pouca ênfase tem sido dada ao impacto desses elementos sobre a flora arbórea tropical.

2.4 Fitorremediação na Recuperação de Áreas Degradadas

Atualmente, grandes esforços têm sido feitos visando à reabilitação de solos contaminados com metais pesados. Os métodos correntes de remediação de solos incluem remoção, lavagem do solo e estabilização física. Todos esses métodos possuem como desvantagem o alto custo (TU; MA, 2002). Os métodos tradicionais de remediação de solo contaminados precisam ser substituídos por métodos com custos mais baixos e menos agressivos ao ambiente.

Nesse sentido, vários produtos têm sido testados como amenizantes da fitotoxicidade de elementos-traço em plantas de modo a aumentar o potencial fitorremediador dessas (KUMPIENE et al., 2008). Dentro os amenizantes mais

estudados destacam-se: calcário (ACCIOLY et al., 2004; CUNHA et al., 2008), silicatos (ACCIOLY et al., 2009), fosfatos (GALINDO et al., 2005; SIQUEIRA et al., 2008), compostos contendo óxidos de ferro (GUILHERME; COSTA, 2007; COSTA et al., 2008; RIBEIRO-FILHO et al., 2008) e compostos orgânicos (SIMÃO, 1999).

Poluentes inorgânicos, como os metais pesados, não podem ser degradados. Mas quando estão biodisponíveis no solo eles podem ser absorvidos e estabilizados nos tecidos vegetais (PILON-SMITS, 2005), processo denominado fitorremediação.

A fitorremediação é uma técnica que vem sendo amplamente empregada na descontaminação ambiental (LINDBLOM et al., 2006) por ser de baixo custo e gerar o mínimo de perturbação ao solo quando comparado com outras técnicas (HENRY, 2000), podendo ser utilizada na recuperação de águas superficiais ou subterrâneas, solo e subsolo (DINARDI et al., 2003) e ar contaminados, além de promover a recuperação estética do ambiente.

Esta técnica consiste no uso de plantas, geralmente com microbiota associada (fungos e bactérias) para remover, imobilizar ou tornar os contaminantes inofensivos ao ecossistema (SALT, 1998). A fitorremediação apresenta inúmeras vantagens, dada a sua natureza permanente, combinada aos baixos custos de manutenção, à proteção contra a erosão eólica e hídrica, à melhoria na estrutura do solo, ao aumento da fertilidade do solo e a recuperação da estética das áreas contaminadas (RASKIN; ENSLEY, 2000).

Isso é possível porque algumas espécies vegetais conseguem se estabelecer em ambientes com elevados teores de metais pesados desenvolvendo estratégias para contornar a fitotoxicidade dessas substâncias (BOVET et al., 2006).

Devido ao custo relativamente baixo, a fitorremediação comporta-se como uma atrativa opção para a despoluição de solos com metais pesados,

principalmente em países em desenvolvimento, onde financiamentos para recuperação ambiental são escassos (NASCIMENTO et al., 2006). Accioly & Siqueira (2000) acreditam que a fitorremediação é uma prática promissora, com mercado garantido no país, se for considerada a existência de inúmeras e extensas áreas contaminadas, particularmente com metais pesados.

O sucesso dos programas de fitorremediação depende da seleção natural ou artificial que as espécies apresentam em resposta ao estresse causado por determinados poluentes (PIRES et al., 2003). A escolha da estratégia a ser utilizada deve considerar diversos fatores, como as características do local contaminado (água ou solo e se são superficiais ou subterrâneos) e do contaminante (mobilidade e concentração), além da vegetação presente na área (PADMAVATHIAMMA; LI, 2007) e do destino a ser dado ao material absorvido.

É com base no destino dos contaminantes que os mecanismos fitorremediadores são classificados. Dessa forma, o poluente pode ser contido através da fitoimobilização, estabilizado (fitoestabilização), degradado (fitodegradação ou rizodegradação), volatilizado (fitovolatilização), extraído (fitoextração) ou ainda filtrado, através da rizofiltração (CUNINGHAM; BERTI, 1993; PILON-SMITS, 2005).

Os mecanismos mais indicados para recuperação de áreas com altos níveis de metais pesados são a fitoextração e a fitoestabilização. As espécies herbáceas são mais empregadas na fitoextração por apresentarem melhores condições de manejo. Na fitoextração, o contaminante absorvido pela planta é translocado para as partes aéreas (caule e folhas), que são podadas quando atingem a capacidade máxima de extração de forma que voltam a brotar e dar continuidade ao processo. O material recolhido pode ser reaproveitado através da recuperação dos metais absorvidos ou empregado na produção de energia

através da utilização da biomassa produzida como matéria prima na produção de biocombustíveis (LIEVENS et al, 2008; SCHRÖDER et al., 2008).

Na fitoestabilização a planta retém o contaminante na raiz ou no caule (no caso de espécies arbóreas), não sendo necessário realizar a coleta posterior, dispensando investimento em planos de manejo. Esse mecanismo é empregado em solos com alto nível de contaminação, onde somente as espécies tolerantes conseguem se estabelecer acumulando o metal sem prejudicar suas funções celulares em longo prazo. Segundo Zhao & McGrath (2009), ainda que os elementos permaneçam na área degradada, a fitoestabilização consiste em um mecanismo eficaz por reduzir o risco de erosão, lixiviação e contaminação do lençol freático.

Segundo Oliveira et al. (2006) a espécie vegetal empregada em programas de fitorremediação deve possuir características específicas para obtenção de sucesso, como tolerância ao acúmulo do poluente, capacidade manter as atividades celulares e de produzir grande quantidade de biomassa, além de se adaptar às condições do ambiente impactado, com reprodução, propagação e coleta facilitada, caso seja necessário.

Além de fitorremediar, algumas dessas espécies podem apresentar características que demonstram, em seu desenvolvimento e distribuição, os efeitos da contaminação e/ou das medidas utilizadas na recuperação dessas áreas, sendo denominadas bioindicadoras. Essas espécies são utilizadas por apresentarem respostas em curto prazo, permitindo melhor análise e planejamento das atividades de controle dos contaminantes através do biomonitoramento (BOTELHO; CAMPOS, 2001).

Segundo Niemi & McDonald (2004), essas espécies podem ser classificadas conforme as respostas apresentadas, sendo: (1) espécies “sentinelas”, espécies já conhecidas que são introduzidas no ambiente para indicar a presença do contaminante; (2) espécies “detectoras”, se instalam

naturalmente e respondem bem ao estresse de forma mensurável; (3) espécies “exploradoras”, altamente especializadas e reagem positivamente ao distúrbio ou agente causador do estresse; (4) espécies “acumuladoras”, que acumulam os contaminantes em seus órgãos e tecidos permitindo avaliar a bioacumulação e (5) espécies “bioensaio”, geralmente utilizadas em experimentos controlados.

É sabido que as espécies lenhosas apresentam menor grau de tolerância aos níveis tóxicos de metais pesados quando comparadas às espécies herbáceas (ELTROP et al., 1991). Porém, ainda são necessárias mais pesquisas para se conhecer a real capacidade de absorção, acúmulo e distribuição de metais pesados nessas espécies (HUANG; CUNNINGHAM, 1996).

Muitas espécies herbáceas denominadas plantas daninhas possuem as características (citadas anteriormente) descritas por Oliveira et al. (2006) e por esse motivo apresentam grande potencial fitorremediador de áreas contaminadas (PIRES et al., 2003).

Segundo Maestri et al. (2010) cerca de 450 espécies vegetais com potencial hiperacumulador de metais já foram identificadas. Segundo a classificação de Baker & Brooks (1989) e Baker et al. (1994), as plantas hiperacumuladoras são aquelas capazes de extrair e reter concentrações acima de 10mg kg^{-1} de Hg; 100 mg kg^{-1} de As ou Cd; 1.000 mg kg^{-1} de Co, Cr, Cu ou Pb e 10.000 mg kg^{-1} de Ni ou Zn.

Entretanto, muitos dos estudos que apresentam essas espécies são desenvolvidos através de bioensaio, com uso de soluções nutritivas enriquecidas com os contaminantes estudados. Esses estudos geralmente proporcionam respostas rápidas e o biomonitoramento se torna facilitado; enquanto poucos são realizados diretamente na área de estudo (por necessitarem de visitas constantes ao local) ou mesmo em casa de vegetação estabelecendo contato direto da espécie com o solo contaminado por exigirem maior tempo de duração, visto

que os contaminantes não se encontram diluídos, sendo então absorvidos mais lentamente pelas plantas.

2.5 Uso de Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs)

O termo micorriza é empregado à associação mutualística, não patogênica (CHU, 2005), entre certos fungos do solo e as raízes da maioria das espécies vegetais, enquanto os arbúsculos são estruturas especializadas na troca de nutrientes que esses fungos formam no córtex da raiz das plantas colonizadas (SMITH; READ, 2008).

Segundo Kulkarni et al. (1997), os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) são organismos obrigatoriamente simbiotróficos pertencentes à Classe Glomeromycota, que se associam às raízes das plantas terrestres. A Classe possui cinco famílias sendo: Gigasporaceae (com os gêneros *Gigaspora* e *Scutellospora*); Acaulosporaceae (*Acaulospora* e *Entrophospora*); Glomaceae (*Glomus*), conforme Morton e Benny, (1990); Archaseosporaceae (*Archaeospora*) e Paraglomaceae (*Paraglomus*), segundo Morton e Redecker, (2001).

A colonização das raízes da planta hospedeira pelos FMAs resulta em inúmeros benefícios para ambos através da simbiose, onde a planta fornece fotoassimilados aos fungos e recebe nutrientes essenciais menos solúveis, como o fósforo, zinco e cobre (SMITH; GIANINAZZI-PEARSON, 1988; CHU, 2005).

Entretanto, segundo Chu (2005), a micorrização pode ser inibida pela elevada fertilidade, perturbação e erosão do solo, o uso de fungicidas sistêmicos, desmatamento e a destruição da vegetação nativa na região tropical causa perda permanente de algumas espécies altamente adaptadas às condições locais específicas.

Diversos estudos demonstram a participação dos FMAs na nutrição mineral de plantas (FORSTER; NICOLSON, 1981; SYLVIA et al., 2003) e na estruturação do solo (KOSKE; POLSON, 1984), demonstrando a importância da presença desses fungos para a sobrevivência e crescimento de plantas na região tropical, onde predominam solos com baixa fertilidade e disponibilidade de fósforo (SANTOS et al. 2004; CHU, 2005; CORDAZZO; STÜRMER, 2007). Segundo Little & Maun (1996), os FMAs também são capazes de reduzir a susceptibilidade das plantas aos patógenos presentes nesses ambientes.

De acordo com Costa et al. (2001) e Cavalcante et al. (2002), a colonização das raízes da planta pelos FMAs depende de fatores edafoclimáticos e da relação entre o fungo e a planta, resultando em respostas diferenciadas por parte da planta hospedeira.

Os FMAs associados aos vegetais podem favorecer o crescimento e sobrevivência das plantas e promover a agregação do solo (MILLER; JASTROW, 1992; ABBOT; GAZEY, 1994; CORBETT et al., 1996), facilitando a revegetação de áreas degradadas, com grande potencial de aplicação naquelas contaminadas com metais pesados.

Sendo assim, o interesse na relação entre as plantas que se desenvolvem em solos contaminados por metais pesados quando associadas aos fungos micorrízicos arbusculares. Segundo Lasat (2002), a participação dos FMAs associados às plantas em solos contaminados parece ser específica, de acordo com as espécies envolvidas e os com os metais disponíveis.

Silva (2006) relata que a participação dos FMAs associados às raízes de *Brachiaria decumbens* amenizou o efeito tóxico dos metais pesados presentes em solo contaminado por Cd, Zn, Cu e Pb.

2.6 Anatomia Ecológica

As características morfológicas dos vegetais, como de todos os seres vivos, são determinadas pela sua constituição genética (genótipo), permitindo a separação das espécies. Entretanto, os fatores ambientais dos locais em que as plantas se encontram podem alterar algumas dessas características (fenótipo), provocando mudanças na formação de órgãos e tecidos, denominadas alterações fenotípicas (SCREMIN-DIAS, 2007). A anatomia ecológica é o estudo interpretado dessas alterações e visa identificar a influência dos fatores ambientais nas espécies vegetais em determinadas condições (MONTEFUSCO, 2005), permitindo uso dessas informações para prever sua capacidade adaptativa.

Segundo Baas (1973), mudanças nas características morfoanatômicas e fisiológicas no genótipo podem ser causadas por fatores ambientais em curto prazo, na forma fenotípica individual, ou em longo prazo promover a seleção natural, favorecendo o estabelecimento de espécies anatomicamente adaptadas às condições do local em que se encontram (MONTEFUSCO, 2005).

Sendo assim, indivíduos que apresentam alta plasticidade morfológica possuem maior capacidade de se desenvolver em determinadas alterações ambientais, enquanto os que não apresentam essa plasticidade se tornam mais vulneráveis (METCALFE; CHALK, 1979). A amplitude dessa adaptação é mensurável e pode ser quantificada, por exemplo, através da espessura das folhas (CASTRO et al., 2007; NERY et al., 2007).

Segundo Scremin-Dias (2007), a anatomia ecológica se divide em duas linhas, onde uma visa utilizar características anatômicas que ocorrem em plantas de diferentes espécies submetidas às mesmas condições ambientais e determinando em que frequência estas características ocorrem, buscando compreender a convergência adaptativa nessa comunidade.

A outra linha estuda a morfoanatomia de indivíduos de uma mesma espécie sob condições ambientais diferentes, para identificar as modificações que podem levar à divergência adaptativa.

Dentro dessa linha, vem crescendo o número de estudos sobre a morfoanatomia de plantas quando submetidas ao contato com metais pesados no solo, visando especialmente conhecer os mecanismos que possibilitam o estabelecimento de espécies vegetais em solos contaminados para promover a revegetação de áreas degradadas.

A redução da epiderme e perda de células do parênquima paliçádico e esponjoso das folhas de plantas submetidas ao alto nível de Zn no solo foram alterações apontadas por Sridhar et al. (2005). A redução em células parenquimáticas e na espessura dos feixes vasculares também foi observada por SILVA (2006) em *Brachiaria decumbens* em solo multicontaminado por metais pesados, entre eles o Cd e o Zn.

3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A contaminação do solo gerada pelas atividades de mineração constitui grande fator de risco para a manutenção da biodiversidade em regiões próximas às áreas de depósito de rejeito industrial resultante dessas atividades dentro desse bioma.

O uso das técnicas de fitorremediação pode ajudar a minimizar os impactos causados pela mineração nessas áreas. O uso de fungos micorrízicos arbusculares associados às raízes das plantas pode auxiliar no estabelecimento das espécies utilizadas nessa técnica por meio do aumento da área de absorção de nutrientes presentes no solo, especialmente onde esses recursos são escassos.

A fitorremediação é uma técnica que apresenta algumas limitações, entre elas pode-se citar a dificuldade na escolha das espécies que serão utilizadas de acordo com o tipo de contaminante, a influência dos fatores ambientais (variações na temperatura, umidade, luminosidade, entre outros) e o destino que será dado ao material em caso de coleta, além da introdução dos contaminantes na cadeia trófica.

Apesar dessas limitações, os benefícios apresentados pelo uso da fitorremediação são satisfatórios, embora muitas pesquisas em diversas áreas ainda sejam necessárias para melhor identificação das espécies com potencial fitorremediador e meios de se contornar os problemas que possam surgir.

Uma boa ferramenta de avaliação da tolerância de espécies vegetais em condições de alta contaminação do solo por metais pesados é o estudo de suas mudanças morfoanatômicas. As respostas apresentadas através dessas variações podem ajudar na compreensão da influência desses contaminantes sobre a flora e facilitar na seleção de espécies com maior potencial fitorremediador a serem utilizadas em programas de recuperação de áreas degradadas

Apesar das espécies lenhosas apresentarem menor grau de tolerância aos níveis tóxicos de metais pesados quando comparadas às espécies herbáceas, o uso das primeiras na recuperação de áreas contaminadas é interessante, considerando que os metais absorvidos ficarão por mais tempo imobilizados nos tecidos vegetais, principalmente no caule, retardando o retorno desses elementos ao solo. Para isso, é necessário conhecer a capacidade de absorção, acúmulo e distribuição de metais pesados em espécies arbóreas, pois estudos dessa natureza são de grande importância para se obter sucesso em programas de fitorremediação.

REFERÊNCIA

ABBOTT, L.K.; GAZEY, C. An ecological view of the formation of VA mycorrhizas. **Plant Soil**, v.159, p.69-78, 1994.

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

ACCIOLY, A.M.A.; SIQUEIRA, J.O.; CURI, N.; MOREIRA, F.M.S. Amenização do calcário na toxidez de zinco e cádmio para mudas de *Eucalyptus camaldulensis* cultivadas em solo contaminado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Brasília, 2004. v.28, n. 4, p. 775-783.

ACCIOLY, A.M.A; SOARES, C.R.F.S; SIQUEIRA, J.O. Silicato de cálcio como amenizante da toxidez de metais pesados no solo para mudas de eucalipto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.44, n.2, p.180-188, fev. 2009.

ANA. Agência Nacional de Águas. **A evolução da gestão dos recursos hídricos no Brasil. Edição comemorativa do dia mundial da água**. Brasília: ANA, 2002. 64p.

ANEEL. Agência Nacional de Energia Elétrica. **Atlas hidrológico brasileiro - Versão 1.0**. Brasília: ANEEL, 1998. CD-Rom.

BAAS, P. The wood anatomical range in *Ilex* (Aquifoliaceae) and its ecological and phylogenetic significance. **Blumea**, Amsterdam, v. 21, p.193-258. 1973.

BAKER, A. J. M.; McGRATH, S. P.; SODOLI, C. M. D.; REEVES, R. D. The possibility of *in situ* heavy metal decontamination of polluted soils using crops of metal accumulating plants. **Resources, Conservation and Recycling**, Amsterdam, 1994. v. 11, p. 41-49.

BAKER, A.M.J.; BROOKS, R.R. Terrestrial higher plants with hyperaccumulate metallic elements – a review of their distribution, ecology and phytochemistry. **Biorecovery**, 1:81-126, 1989.

BIGARELLI, W.; ALVES, F. Minas Gerais: Mantendo-se como líder na mineração brasileira. **Brasil Mineral**, 1998. v.162, p. 14-18,
BOTELHO, C. G.; CAMPOS, C. M. **Recursos naturais renováveis e impacto ambiental**. Lavras: UFLA/FAEP, 2001. p. 166-170.

BOVET, L.; KAMMER, P. M.; MEYLAN-BETTEX, M.; GUADAGNUOLO, R.; MATERA, V. Cadmium accumulation capacities of *Arabis alpine* under environmental conditions. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 57, n. 1/2, p. 80-88, Aug. 2006.

BRASIL. Lei Federal N° 6938 de 31 de Agosto de 1981. Dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, seus fins e mecanismos de formulação e aplicação, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 02 set 1981.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução CONAMA N° 420, de 28 de dezembro de 2009. Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 30 dez 2009.

CASTRO, E. M.; PINTO, J. E. B. P.; SOARES, A. M.; MELO, H. C.; BERTALUCCI, S. K. V.; VIEIRA, C. V.; JÚNIOR, E. C. L. Adaptações anatômicas de folhas de *Mikania glomerata* Sprengel (Asteraceae), em três regiões distintas da planta, em diferentes níveis de sombreamento. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 9, n. 2, p. 8-16, 2007.

CAVALCANTE, U.M.T.; MAIA, L.C.; MELO, A.M.M.; SANTOS, V.F. Influência da densidade de fungos micorrízicos arbusculares na produção de mudas de maracujazeiro-amarelo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.37, n.5, p.643-649, 2002.

CHANG, A.C., J.E. WARNEKE, A.L. PAGE, L.J. LUND. Accumulation of heavy metals in sewage sludge-treated soils. **Journal of Environmental Quality**. 1984. v.13(1), p.87-91.

CHU, E.Y. Sistema de produção da pimenteira-do-reino. **Embrapa Amazônia Oriental: Sistemas de Produção**, v. 1, Versão Eletrônica (ISSN 1809-4325), dez 2005.

CORBETT, E.A.; ANDERSON, R.C.; RODGERS, C.S. Prairie revegetation of strip mine in Illinois: fifteen years after establishment. **Rest. Ecology**, v.4, p.346-354, 1996.

CORDAZZO, C.V.; STÜRMER, S.L. Ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares em *Panicum racemosum* (p. Beauv.) Spreng (poaceae) em dunas costeiras do extremo sul do Brasil. Nota breve. **Atlântica**, Rio Grande, v. 29, n. 1, p. 65-68, 2007.

COSTA, C.M.C.; MAIA, L.C.; CAVALCANTE, U.M.T.; NOGUEIRA, R.J.M.C.. Influência de fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento de dois genótipos de aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 2001, v. 36, p. 893-901.

COSTA, E.T.S.; GUILHERME, L.R.G.; CURI, N.; OLIVEIRA, L.C.A.; VISIOLI, E.L.; LOPES, G. Subproduto da indústria de alumínio como amenizante de solos contaminados com cádmio e chumbo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 2533-2546, 2008.

CUI, Y.; ZHU, Y-G.; ZHAI, R.; HUANG, Y.; QIU, Y.; LIANG, J. Exposure to metal mixtures and human health impacts in a contaminated area in Nanning, China. **Environment International**, v.31, p.784-790, 2005.

CUNHA, K.P.V.; NASCIMENTO, C.W.A.; PIMENTEL, R.M.M.; FERREIRA, C.P. Cellular localization of cadmium and structural changes in maize plants grown on a Cd contaminated soil with and without liming. **Journal of Hazardous Materials**, v.160, p.228 - 234, 2008.

CUNNINGHAM, S., BERTI, W. R. The remediation of contaminated soils with green plants; an overview. **In vitro celular and development biology-plant**, v.29, p.207-212, 1993.

DINARDI, A. L.; FORMAGI, V. M.; CONEGLIAN, C. M. R.; BRITO N. N.; SOBRINHO, G. D.; TONSO, S.; PELEGRINI, R. Fitorremediação. In: FÓRUM DE ESTUDOS CONTÁBEIS, 3., 2003, Rio Claro. **Anais...** Rio Claro, SP: Faculdades Integradas Claretianas, 2003. CD ROM.

ELTROP, L.; BROWN, G.; JOACHIM, O.; BRINKMANN, K. Lead tolerance of betula and salix in the mining area of Mechernich/Germany. **Plant and Soil**, 131:279-285, 1991.

FERREIRA, R.M.A. Avaliação de Impacto Ambiental e a Legislação Brasileira. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte. 2000. v.21, n.202, p.5-11.

FORSTER, S.M.; NICOLSON, T.H. Microbial aggregation of sand in a maritime dune succession. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 13, p.205-208, 1981.

GALINDO, I.C.L.; BEZERRA, S.A.; NASCIMENTO, C.W.A.; ACCIOLY, A.M.A. Fertilizantes fosfatados e orgânicos e seus efeitos na imobilização de chumbo em solo contaminado. **Caatinga**, Mossoró - RN, v. 18, n. 1, p. 58-65, 2005.

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

GUILHERME, L.R.G.; COSTA, E.T.S. **Subproduto da indústria de alumínio como amenizante de áreas contaminadas com elementos-traço**. Depósito de patente intitulada "Subproduto da indústria de alumínio como amenizante de áreas contaminadas com elementos-traço", feito no dia 20/12/2007 sob o protocolo N° 014070009185. 2007.

GUILHERME, L.R.G.; MARQUES, J.J.G.S M.; PIERANGELI, M.A.P.; ZULIANI, D.Q.; CAMPOS, M.L.. Elementos-traço em solos, sedimentos e águas. In: Sociedade Brasileira de Recuperação de Áreas. (Org.). Palestras do V Simpósio Nacional sobre Recuperação de Áreas Degradadas. **Anais...** Lavras, 2002, v. 2, p. 30-55.

HENRY, J.R. An **overview of the phytoremediation of lead and mercury**, 2000. 51p. Disponível online: <http://www.clu-in.gov>.

HUANG, J.W.; CUNNINGHAM, S.D. Lead phytoextraction: species variation in lead uptake and translocation. **New Phytologist**, 1996. 134: 75-84.

IGAM. Instituto Mineiro de Gestão das Águas. **Monitoramento da qualidade das águas superficiais na Bacia do Rio São Francisco Norte em 2006**. Belo Horizonte: Instituto Mineiro de Gestão das Águas, 2007. 174p.

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

KOSKE, R.E.; POLSON, W.R. Are VA mycorrhizae required for sand dune stabilization? **Bioscience**, v. 34, p. 420-424, 1984.

KULKARNI, S.S.; RAVIRAJA, N.S.; SRIDHAR, K.R. Arbuscular mycorrhizal fungi of tropical sand dunes of west coast of India. **Journal of Coastal Research**, 13(3): 931-936. 1997.

KUMPIENE, J.; LAGERKVIST, A.; MAURICE, C. Stabilization of As, Cr, Cu, Pb and Zn in soil using amendments – A review. **Waste Management**, v.28, p.215-225, 2008.

LASAT, M.M. Phytoextraction of toxic metals: a review of biological mechanisms. **Journal Environment Qual.**, v.31, p.109–120, 2002.

LIEVENS, C.; YPERMAN, J.; CORNELISSEN, T.; CARLEER, R. Study of the potential valorisation of heavy metal contaminated biomass via phytoremediation by fast pyrolysis: Part II: Characterisation of the liquid and gaseous fraction as a function of the temperature, **Fuel**, 87, 1906-1916, 2008.

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

LITTLE, L.R.; MAUN, M.A. The “Ammophila problem” revisited: a role for mycorrhizal fungi. **Journal of Ecology**, v. 84, p.1-7, 1996.

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

McBRIDE, M.D. **Environmental chemistry of soils**. New York, Oxford University, 1994. 406p.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons**. 2. ed. Oxford: Clarendon, 1979, v. 2, 308 p.

MILLER, R.M.; JASTROW, J.D. The application of VA Mycorrhizae to ecosystem restoration and reclamation. In: ALLEN, M.F. (Ed.). Mycorrhizal functioning. **Chapman and Hall**, 1992. p.438-467.

MONTEFUSO, A. R. G. **Anatomia ecológica do lenho de *Stryphnodendron adstringens* (MART.) COVILLE (LEGUMINOSAE), barbatimão, no Parque Estadual do Cerrado – JAGUARIAÍVA-PR.** 2005. 105 p.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal do Paraná, Paraná.

MORTON, J.B.; REDECKER, D. Two new families of Glomales, Archaeosporaceae and Paraglomaceae, with two new genera *Archaeospora* and *Paraglomus*, based on concordant molecular and morphological characters. **Mycologia**, v. 93, n.1, p. 181-195, 2001.

MORTON, J.B.; BENNY, G.L. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae, and two families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. **Mycotaxon**, v. 37, p. 471-491, 1990.

NASCIMENTO, C.W.A; AMARASIRIWARDENA, D.; XING, B. Comparison of natural organic acids and synthetic chelates at enhancing phytoextraction of metals from a multi-metal contaminated soil. **Environmental Pollution**, 2006. v.140, p.114-123.

NERY, F. C.; ALVARENGA, A. A.; JUSTO, C. F.; CASTRO, E. M. C.; SOUZA, G. S.; ALVES, E. Aspectos anatômicos de folhas de plantas jovens de *Calophyllum brasiliense* Cambess. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p. 129-131, jul. 2007. Suplemento 2.

NIEMI, G. J.; McDONALD, M. E. Application of ecological indicators. **Annual Review Ecology, Evolution and Systematics**, Palo Alto, v. 35, p. 89-111, Dec. 2004.

OLIVEIRA, D. B.; CARA, D. V. C.; XAVIER, P. G.; SOBRAL, L. G. S.; LIMA, R. B.; ALMEIDA, A. L. **Fitorremediação: o estado da arte.** Rio de Janeiro: CETEM-MCT, 2006. 32 p. (Série Tecnologia Ambiental, 39).

PADMAVATHIAMMA, P. K.; LI, L. Y. Phytoremediation technology : hyper-accumulation metals in plants. **Water, Air, and Soil Pollution**, Amsterdam, v. 184, n. 1/4, p. 105-126, Sept. 2007.

PEREIRA, J.A.A.; BORÉM, R.S.T.; SANT'ANA, C.M. **Análise e avaliação de impactos ambientais.** Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 147p.

- PIERZYNSKI, G. M.; SIMS, J. T.; VANCE, G. F. **Soils and environmental quality**. Lewis Publishers, Boca Raton: Lewis Publishers, 1994. 313p.
- PILON- SMITS, E. Phytoremediation. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 56, p. 15-39, June 2005.
- PIRES, F. R.; SOUZA, C. M.; SILVA, A. A.; PROCÓPIO, S. O.; FERREIRA, L. R. Fitorremediação de solos contaminados com herbicidas. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 21, n. 2, p. 335-341, maio/ago. 2003.
- RASKIN, I.; ENSLEY, B. **Phytoremediation of toxic metals. Using plants to clean up the environmental**. John Wiley; Sons. New York, 2000. 304p.
- RIBEIRO-FILHO, M.; SIQUEIRA, J.O.; VANGRONSVELD, J.; SOARES, C.R.F.S.; CURI, N. Evaluation of inorganic materials as amendments for heavy metal contaminated soils using wild mustard (*Brassica* sp.) as a test plant. **Plant and Soil** (submetido) 2008.
- ROHDE, M.G. Estudos de impacto ambiental: a situação brasileira. Em: VERDUM, R.; MEDEIROS, R.M.V. [org.] RIMA, **Relatório de Impacto Ambiental**: Legislação, elaboração e resultados. 3ªed. ampl. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS, 1995. p. 20-36.
- ROSEN, J.A.; PIKE, S.C.; GOLDEN, M.L. Zinc, iron, and chlorophyll metabolism in zinc-toxic corn. **Plant Physiology**, 1977. v.59, p.1085-1087.
- SALT, D. E.; SMITH, R. D.; RASKIN, I. Phytoremediation. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 49, p. 643-68, June 1998.
- SANTOS, J; REIS,C.S.; GONÇALVES, M.T.; FREITAS, N. Micorrizas em *Ammophila arenaria* – comparação entre dois sistemas dunares. **Revista de Biologia**, v. 22, p. 101-108, 2004.
- SCHRÖDER, P.; HERZIG, R.; BOJINOV, B. RUTTENS, A.; NEHNEVAJOVA, E.; STAMATIADIS, S.; MEMON, A.; VASSILEV, A.; CAVIEZEL, M.; VANGRONSVELD, J. Bioenergy to save the world – Producing novel energy plants for growth on abandoned land. **Environmental Science and Pollution Research**, Landsburg, v. 15, n. 3, p. 196-204, May 2008.

SCREMIN-DIAS, E. Anatomia ecológica de espécies nativas: relação entre o ambiente e a estrutura é casual ou adaptativa? In: BARBOSA, L. M.; SANTOS-JÚNIOR, N. A. (Org.). **A botânica no Brasil** : pesquisa, ensino e políticas públicas ambientais. São Paulo: Sociedade Botânica do Brasil, 2007. p. 382-388.

SHRIDHAR, B.B.M.; DIEHL, S.V.; HAN, F.X.; MONTS, D.L; SU, Y. Anatomical changes due to uptake and accumulation of Zn and Cd in Indian mustard (*Brassica juncea*). **Environmental of Experinmental Botany**, 2005. v.54, p.131-141.

SILVA, S. **Fungos micorrízicos arbusculares no crescimento, extração de metais pesados e características anatômicas de *Brachiaria decumbens* Stapf em solos contaminados com metais pesados**. 82p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

SIMÃO, J.B.P. **Mitigação da fitotoxicidade de metais pesados no solo, através do uso de materiais orgânicos e inorgânicos**. 1999. 135p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SIQUEIRA, J.O.; SOARES, C.R.F.S.; SILVA, C.A. Matéria orgânica em solos de áreas degradadas. In: SANTOS, G.A.; SILVA, L.S.S.; CANELLAS, L.P.; CAMARGO, F.A.O. (Org.). **Fundamentos da matéria orgânica do solo - Ecossistemas tropicais e sub-tropicais**. 2 ed. Porto Alegre: Metrópole Editora Ltda, 2008, v. 1, p. 495-524.

SMITH, S.E.; GIANINAZZI-PEARSON, V. Physiological interactions between symbionts in vesicular-arbuscular micorrhizal plants. **Annual Review of Physiology and Plant Molecular Biology**, 1988, v. 39, p. 221-244.

SMITH, S.E.; READ, D.J. **Mycorrhizal Symbiosis**. Third edition. London: Elsevier, p.787, 2008.

SOARES, C. R. F. S.; ACCIOLY, A.M.A.; MARQUES, T. C. L. L. S. E. 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**, v. 13, n. 3, p. 302-315, 2001.

SOARES, C.R.F.S.; ACCIOLY, A.M.A.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S. Diagnóstico e reabilitação de área degradada pela contaminação por metais pesados. In: CEMAC; Universidade Federal de Lavras; SOBRADE. (Org.). V Simpósio Nacional sobre Recuperação de Áreas Degradadas. **Anais...** Lavras, 2002, v. 1, p. 56-82.

SPARKS, D.L. **Environmental soil chemistry**. San Diego, Academic Press, 1995. 267p.

SYLVIA, D.M.; ALAGELY, A.K.; KANE, M.E.; PHILMAN, N.L. Compatible host/mycorrhizal fungus combinations for micropropagated sea oats – I. Field sampling and greenhouse evaluations. **Mycorrhiza**, v. 13, p. 177-183, 2003.

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

VANGRONSVELD, J.; COLPAERT, J.V.; TICHELEN, K.K. van. Reclamation of a bare industrial area contaminated by non-ferrous metals: physicochemical and biological evaluation of the durability of soil treatment and revegetation. **Environmental Pollution**, Oxford, 1997. v.94, p. 131-140.

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

CAPÍTULO 2

Levantamento florístico de uma área de depósito de rejeito do processamento de Zinco

1 INTRODUÇÃO

O solo é um dos recursos mais importantes para garantir qualidade de vida ao homem e as modificações dos sistemas naturais pela atividade humana originam a formação de áreas degradadas, sendo que sua degradação constitui em grande prejuízo sócio-econômico para as gerações atuais e enormes riscos para as gerações futuras (WADT et al., 2003).

Apesar de sua baixa participação no processo de degradação ambiental, a mineração é uma atividade responsável por grandes impactos por promover retirada da camada superficial do solo (KOBAYAMA et al., 2001), entre outros fatores.

O crescente interesse mundial nas questões ambientais direcionou a Política Pública Nacional na elaboração de leis de proteção ao meio ambiente, delimitação de áreas de proteção ambiental, normatizações para o descarte de rejeitos industriais e instruções para melhor controle dos impactos ambientais causados pelas empresas, atentando para a responsabilidade social e ambiental dessas organizações.

Nesse sentido, cita-se a Lei Federal 6.938/81, que “Dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, seus fins e mecanismos de formulação e aplicação, e dá outras providências” (BRASIL, 1981), tornando a Avaliação de Impacto Ambiental obrigatória em processos de licenciamento de atividades poluidoras ou modificadoras do ambiente natural (PEREIRA et al., 2001); e a Resolução 420/2009, do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), “Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas” (BRASIL, 2009), entre outras.

Uma parceria foi firmada entre a Universidade Federal de Lavras (UFLA), através do Departamento de Ciência do Solo (DCS) e a empresa de mineração Votorantim Metais, Unidade Três Marias/ MG, para a realização de pesquisas com o objetivo de promover a descontaminação e recuperação ambiental das áreas de depósito de rejeitos da mineração de Zinco, por meio das técnicas de fitorremediação, visando alcançar adequação com as leis ambientais, além de promover a recuperação estética do ambiente.

A fitorremediação é uma técnica emergente para descontaminação ambiental (LINDBLUM et al., 2006), de baixo custo e que gera o mínimo de perturbação ao solo quando comparado com outras técnicas (HENRY, 2000), favorecendo o financiamento da recuperação ambiental quando os recursos são escassos (NASCIMENTO et al., 2006).

Para fazer uso dessa técnica e promover a recuperação de áreas degradadas (RAD) se faz necessário um planejamento bem elaborado para o uso de um conjunto de medidas que auxiliam na recuperação. Sendo que a melhor compreensão da área é obtida após a realização de pelo menos uma visita técnica que possibilite a realização do diagnóstico ambiental.

Segundo Piolli et al. (2004) o estudo dos remanescentes florestais dos locais a serem reflorestados permitem o levantamento das espécies presentes e a caracterização do tipo de vegetação, sendo importante cruzar os dados coletados com mapas de tipos de vegetação.

Dessa forma, a área de rejeitos da Votorantim Metais (Unidade Três Marias – MG) foi visitada para realização de um diagnóstico ambiental, visto que, mediante o diagnóstico visual de alguns sinais de degradação, é possível realizar uma análise do estado de degradação e a partir dessa etapa realizar o planejamento para adoção imediata de algumas práticas conservacionistas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de Estudo

Para realização do diagnóstico ambiental, a área de estudo foi visitada em setembro de 2009, para observação das características ambientais e em busca da identificação de atributos químicos e físicos, os quais podem vir a limitar o desenvolvimento de plantas.

O clima da região corresponde ao semi-árido brasileiro, apresentando temperatura média anual variando entre 19°C e 22°C e precipitação média anual de 1100mm³ a 1400mm³. A vegetação predominante na região é típica do Cerrado brasileiro, com formação de mosaico de suas variações paisagísticas (campo limpo, campo sujo, cerradão e Cerrado stricto sensu).

Segundo Euclides et al. (2001), o relevo da região é caracterizado por planos, depressões e áreas dissecadas resultantes da alternância de atuação de processos morfoclimáticos associados ao condicionamento geológico.

2.2 Coleta e Identificação de Espécies Nativas

O método definido para realização do levantamento rápido preliminar da vegetação existente na área foi o caminhamento aleatório. Espécies nativas com potencial fitorremediador encontradas na área de estudo foram coletadas.

Os exemplares das espécies coletadas foram colocados em prensa de madeira para secagem em estufa de luz, e em seguida foram confeccionadas exsiccatas para identificação por especialistas e após essa etapa o material botânico foi depositado junto ao Herbário ESAL, do Departamento de Biologia/Setor de Ecologia, da Universidade Federal de Lavras (UFLA). As espécies encontradas que apresentavam frutos maduros tiveram as sementes

coletadas e colocadas para germinar em casa de vegetação visando a produção de mudas para testes futuros.

2.3 Coleta e Análise de Solo

Amostras compostas do solo proveniente da área de rejeitos da empresa foram coletadas na profundidade de 0-20cm utilizando-se trado holandês, por caminhamento em ziguezague. As amostras foram peneiradas em malha de 2mm e mantidas em sacos plásticos em câmara fria (4°C) até o momento das análises.

O solo separado para amostra passou por processo de digestão conforme o método 3051a da *United States Environmental Protection Agency* (USEPA, 1995) e os teores de Cádmio (Cd) e Zinco (Zn) foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica com equipamento *PerkinElmer AAnalyst 800®* com atomizador tipo chama.

O material de referência utilizado para garantia de qualidade da análise do solo foi o *BCR® – 142R LIGHT SANDY SOIL*, do IRMM (*Institute for Reference Material and Measurements – European Commission*) em cada bateria, além de uma amostra em branco (contendo apenas HNO₃) com recuperação de 90% a 130%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Pesquisas Realizadas na Área de Estudo

Como mencionado anteriormente, por volta de 2001 a empresa de mineração Votorantim Metais, Unidade Três Marias – MG, estabeleceu uma parceria com a Universidade Federal de Lavras (UFLA) através do Departamento de Ciência do Solo (DCS) visando promover a reabilitação da área contaminada pelo rejeito industrial proveniente do processamento de Zn.

Desde então, a área vem sendo visitada constantemente para realização de coleta de amostras de solo para análise e implantação de projetos-piloto de revegetação. Diversos estudos já foram realizados, com utilização predominante de exóticas, como o *Eucalipto camadulensis* Dehn (Myrtaceae) com plantio em linha e *Brachiaria decumbens* Stapf. (Poaceae) nas entre-linhas (Figura 3).

Segundo Accioly (2001) e Santos (2010), o solo da área recebeu amenizantes de fitotoxidez (calcário, silicato de cálcio), fertilizantes (N-P-K) e matéria orgânica para melhor estabelecimento das espécies implantadas.

Os resultados desses estudos apontam o *E. camadulensis* como a espécie com maior tolerância aos níveis de contaminação dessa área (MARQUES et al., 2000; CURY et al., 1998).

As áreas de depósito de rejeito AC₁ e AC₂ já receberam espécies nativas e exóticas em projetos pilotos realizados nos anos de 2001 e 2002. Segundo Santos (2010), essas duas áreas e a área AC são as que apresentam contaminação severa em profundidade por zinco, chumbo, cádmio e cobre.

Durante a visita foi possível verificar que entre as espécies já implantadas nas áreas a serem recuperadas o *Eucalipto camadulensis* apresentou maior tolerância aos níveis de contaminação, conseguindo se estabelecer.

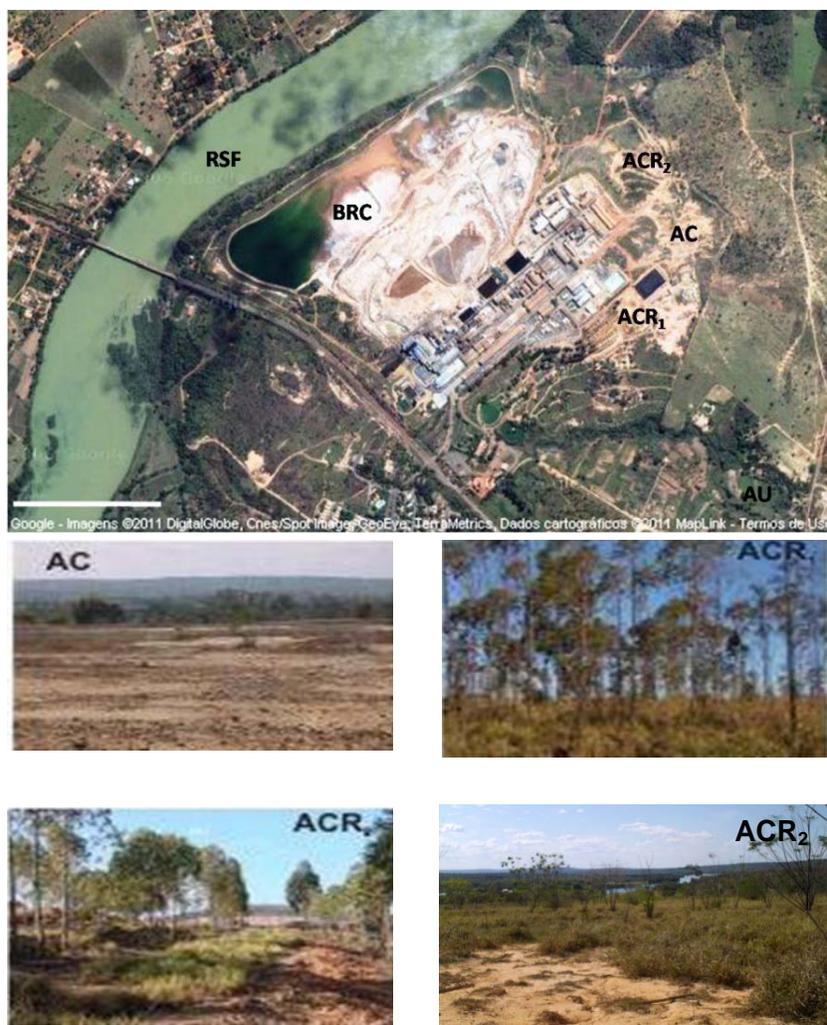


Figura 1 Área de Processamento de Zinco, Votorantim Metais Unidade Três Marias – MG. (RSF) Rio São Francisco; (AC) Área contaminada pela deposição de resíduos; (ACR1 e ACR2) Área contaminada após processos de revegetação. (BRC) Barragem de resíduos contaminados; (AU) Área urbana. Barra de escala: 500m. Imagem de satélite adaptada de Google Imagens © 2011. Acesso em 29 de janeiro de 2011

3.2 Identificação de Espécies Nativas

As espécies nativas selecionadas neste estudo, com potencial uso na recuperação de áreas degradadas estão listadas na Tabela 1, enquanto na Figura 2 podem ser vistas as exsicatas dessas espécies que estão depositadas no Herbário ESAL/UFLA.

Tabela 1 Lista de espécies nativas encontradas na área de estudo com potencial uso em recuperação de áreas degradadas

Família	Espécie	Nº de registro
Amaranthaceae	<i>Gomphrena globosa</i> L.	26172
Anacardiaceae	<i>Anacardium cf. nanum</i> A. St. –Hil.	26175
Asteraceae	<i>Vernonia</i> sp. Schreb.	26174
Fabaceae	<i>Inga</i> sp. Mill.	26176
	<i>Machaerium villosum</i> Vogel	-
Myrtaceae	<i>Eugenia dysenterica</i> DC.	26173
Urticaceae	<i>Cecropia</i> sp. Loefl.	-
Vochysiaceae	<i>Qualea grandiflora</i> Mart.	-

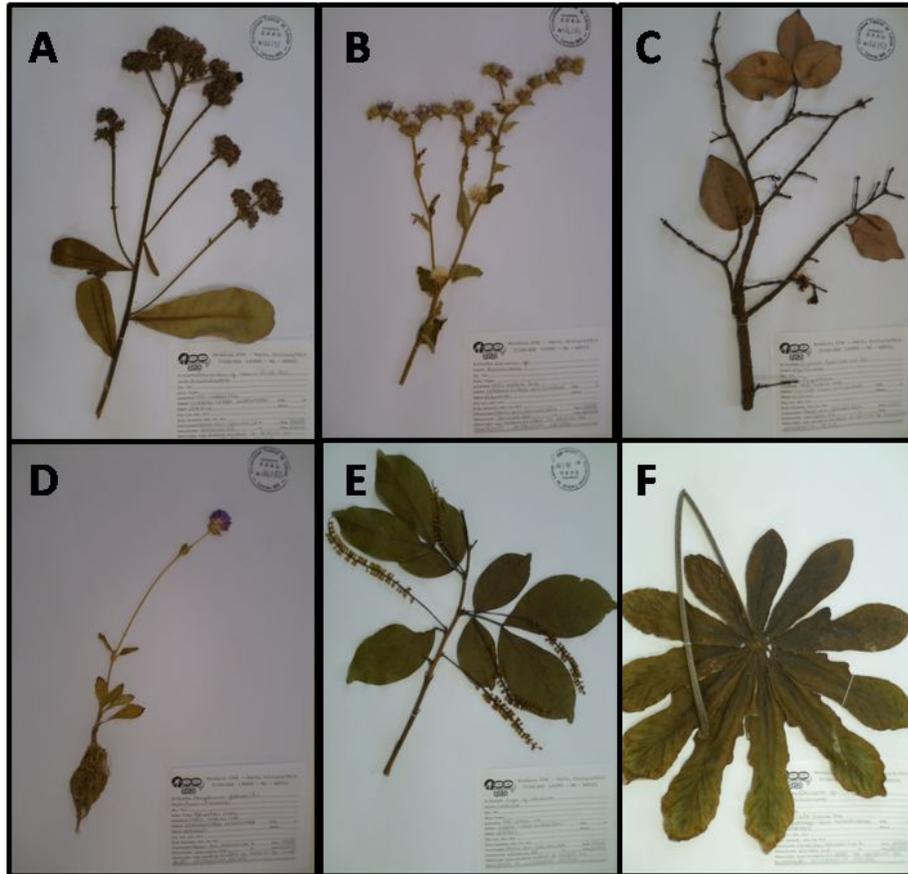


Figura 2 Espécies nativas do Cerrado coletadas na área de estudo. Exsicatas identificadas e depositadas junto ao Herbário ESAL/UFLA. (A) *Anacardium cf. nanum* A.St.-Hil.; (B) *Vernonia* sp. Schreb.; (C) *Eugenia dysenterica* DC.; (D) *Gomphrena globosa* L.; (E) *Inga* sp. Mill.; (F) *Cecropia* sp. Loeft

3.3 Análises do solo

O resultado da análise química do solo mostrou que a área apresenta alta concentração de Zn, Cd, Cu e Pb . Os elementos com maior concentração foram selecionados e entre eles, Cd e Zn obtiveram maior atenção nesse estudo por apresentarem valores acima dos recomendados para intervenção industrial pela Resolução CONAMA 420/2009 (Tabela 2).

Tabela 2 Teores de Cd e Zn (mg Kg^{-1}) nas amostras de solo

Substância	Solo Tratamento	Qualidade*	Prevenção*	Intervenção Industrial*
Cádmio	175,76	< 0,5	1,3	20
Zinco	18.331,31	60	300	2.000

* Valores segundo Resolução CONAMA 420/2009.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante a coleta de material botânico e de solo foi possível observar que a ocorrência espontânea de vegetação nas áreas de rejeito é muito baixa, podendo ser considerada nula.

A diversidade encontrada pode ser considerada baixa no que diz respeito ao processo natural de sucessão ecológica, sendo aplicável a implantação de um programa de revegetação que acelere o processo de cobertura do solo.

Embora tenha sido possível encontrar vegetação na área, verifica-se que ainda existem diversos pontos com exposição do solo, sujeitos à erosão.

Essa coleta preliminar não abrange todas as espécies que ocorrem na área, visto que o tempo de visita não foi adequado para esse estudo, sendo ainda necessário que se faça uma coleta mais detalhada para realizar o inventário completo da comunidade vegetal da área e entorno.

Para realização do inventário florístico da área de rejeito e entorno serão necessárias pelo menos quatro visitas ao longo de um ano, de forma que sejam coletadas as espécies que apresentam floração em diferentes condições climáticas. Dessa forma, as coletas abrangem todas as estações (seca, fria, chuvosa e quente), proporcionando maior conhecimento da área, principalmente no que diz respeito ao levantamento de espécies secundárias e clímax que possam ser introduzidas futuramente na área de estudo, completando os estágios de sucessão ecológica.

5 CONCLUSÃO

A área sofre grande contaminação por Cd e Zn, apresentando teores muito acima dos indicados para intervenção industrial segundo a Resolução CONAMA 420/2009, porém é passível de fitorremediação, visto que foram encontradas algumas espécies nativas nas regiões próximas às áreas de depósito de rejeito da mineradora. Essa ocorrência pode ser resultante do desenvolvimento de mecanismos de tolerância aos contaminantes nessas espécies.

REFERÊNCIA

ACCIOLY, A.M.A. **Amenizantes e estratégias para o estabelecimento de vegetação em solos de áreas contaminadas por metais pesados**. 170p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.

BRASIL. Lei Federal Nº 6938 de 31 de Agosto de 1981. Dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, seus fins e mecanismos de formulação e aplicação, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 02 set 1981.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução CONAMA Nº 420, de 28 de dezembro de 2009. Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 30 dez 2009.

CURY, J. C.; SIQUEIRA, J. O.; GRAZZIOTTI, P. H.; MOREIRA, F. M. S. Amenização da toxidez de metais pesados por calcário, solomax e vermicomposto em dez espécies de eucalipto. In: FERTBIO'98, 1, 1998, Caxambu. **Anais...** Lavras: UFLA/SBCS, 1998. p. 819-819.

EUCLYDES, H.P.; FERREIRA, P.A.; RUBERT, O.A.; SANTOS, R.M. Regionalização hidrológica na bacia do alto São Francisco a montante da barragem de Três Marias, Minas Gerais. **Revista Brasileira de Recurso Hídricos**, v. 6, n. 2, 2001, p. 81-105.

HENRY, J.R. **An overview of the phytoremediation of lead and mercury**, 2000. 51p. Disponível online: <http://www.clu-in.gov>.

KOBIYAMA, M.; MINELLA, L.P.G.; FABRIS, R. Áreas degradadas e sua recuperação. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.22, n. 210, p.10-17, 2001.

LINDBLOM, S. D.; ABDEL-GHANY, S.; HANSON, B. R.; HWANG S.; TERRY, N.; PILON-SMITS, E. A. H. Constitutive expression of a high-affinity

sulfate transporter in Indian mustard affects metal tolerance and accumulation. **J. Environmental Quality**, v. 35, p. 726–733, 2006.

MARQUES, T.C.L.L.S.M.; MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. Crescimento e teor de metais de mudas de espécies arbóreas cultivadas em solo contaminado com metais pesados. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v.35, n.1, p.121-132, 2000.

NASCIMENTO, C.W.A; AMARASIRIWARDENA, D. & XING, B. Comparison of natural organic acids and synthetic chelates at enhancing phytoextraction of metals from a multi-metal contaminated soil. **Environmental Pollution**, v.140, p.114-123, 2006.

PEREIRA, J.A.A.; BORÉM, R.S.T. & SANT'ANA, C.M. 2001. **Análise e avaliação de impactos ambientais**. Lavras: UFLA/FAEPE, 147p.

PIOLLI, A.L.; CELESTINI, R.M. & MAGON, R. **Teoria e prática em recuperação de áreas degradadas**: Plantando a semente de um mundo melhor. Planeta Água – Associação de Defesa do Meio Ambiente, Serra Negra, 2004. 55p.

SANTOS, J.V. **Biomassa e atividade microbiana como indicadores da reabilitação de áreas contaminadas por elementos-traço**. 47p. Dissertação. Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

UNITED ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – USEPA. **Test methods for evaluating soil waste, physical/chemical methods SW-846**. 3 ed. Washington, 1995. Disponível em: <http://www.epa.gov/SW-846/3051a.pdf>. Acesso em: 10 de outubro de 2009.

WADT, P.G.S.; PEREIRA, J.E.S.; GONÇALVES, R.C.; SOUZA, C.B.C; ALVES, L.S. Práticas de recuperação do solo e recuperação de áreas degradadas. EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Rio Branco: Embrapa Acre. **Documentos**, 90, 2003, 29p.

CAPÍTULO 3

Tolerância aos altos níveis de cádmio e zinco no solo em *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae) e *Inga vera* Willd. (Fabaceae)

RESUMO

Solo contaminado é aquele que apresenta concentrações de determinado elemento químico acima do esperado em condições naturais, geralmente resultante de atividade antrópica. A fitorremediação é uma técnica de uso crescente na descontaminação ambiental por ser de baixo custo e gerar o mínimo de perturbação ao solo. Consiste no uso de plantas para remover, imobilizar ou tornar os contaminantes inofensivos ao ecossistema. *Eugenia dysenterica* DC e *Inga vera* Willd são espécies arbóreas nativas do Cerrado (bioma da área de estudo), sendo a primeira característica de ambientes preservados desse bioma, enquanto a segunda possui maior capacidade de colonizar áreas impactadas (pioneira). Esse trabalho objetiva identificar alterações anatômicas em folhas e raízes de *E. dysenterica* e *I. vera* quando submetidas ao contato com solo contaminado com altos teores de Cádmiio e Zinco, bem como sua capacidade de fitorremediação ambiental. Mudanças destas espécies foram colocadas em contato com o solo contaminado por 25,22 mg Kg⁻¹ de Cd e 4898,39 mg Kg⁻¹ de Zn e em solo nativo de Cerrado sem contaminação (1,18 mg Kg⁻¹ de Cd e 14,59 mg Kg⁻¹ de Zn) como testemunha por 120 dias. Amostras dos órgãos vegetativos foram analisadas em microscopia (de luz e varredura) e o teor dos contaminantes foi mensurado. Os resultados mostram que as espécies apresentaram variações anatômicas, como a redução na espessura do mesofilo, alterações no tamanho dos estômatos e espessura dos vasos do xilema, evidenciando maior necessidade de retenção hídrica quando submetidas ao estresse. As espécies obtiveram bons resultados na concentração dos elementos. Nas raízes de *E. dysenterica* foram encontrados 17,92 mg Kg⁻¹ de Cd e 560,88 mg Kg⁻¹ de Zn e em *I. vera* 28,12 mg Kg⁻¹ de Cd e 1394,33 mg Kg⁻¹ de Zn. *E. dysenterica* apresentou maior sensibilidade ao Cd enquanto *I. vera* demonstrou maior resistência ao elemento. Nas partes aéreas (caule e folhas) de *E. dysenterica* foram encontrados 6,51 mg Kg⁻¹ de Cd e 383,34 mg Kg⁻¹ de Zn. Em *I. vera* 1,77 mg Kg⁻¹ de Cd e 2691,23 mg Kg⁻¹ de Zn. Com esses dados, o índice de translocação foi calculado, onde *I. vera* apresentou índice 1,98 para de Zn, enquanto *E. dysenterica* apresentou índice de 0,68 na translocação desse elemento. As duas espécies apresentaram baixo índice de translocação de Cd. *I. vera* se mostrou tolerante a presença dos elementos estudados, podendo ser usada na fase inicial de programas de recuperação de áreas com características semelhantes.

Palavras-chave: Anatomia ecológica. Solo contaminado. Metais pesados. Fitorremediação. Recuperação de áreas degradadas.

ABSTRACT

Contamination of soils is characterized by the presence of chemical elements in concentrations higher than expected under natural conditions. This contamination is usually a result of human activities. Phytoremediation is a technique that has increasingly been used for soil decontamination due to its low cost and minimum disturbance of the soil. This technique consists in the use of plants to remove, immobilize or transform the hazardous levels of contaminants into harmless levels in the ecosystem. *Eugenia dysenterica* DC and *Inga vera* Willd are native species of the Cerrado biome (biome of the study area). *E. Dysenterica* is typical of preserved areas, whilst *I. vera* Willd is capable of colonizing impacted areas (pioneer species). The objectives of this study were to identify anatomical changes in leaves and roots of *E. dysenterica* and *I. vera* when exposed to soil contaminated with high levels of cadmium and zinc, as well as to verify their phytoremediation potential. Seedlings of these species were placed in soil contaminated by 25.22 mg Kg⁻¹ of Cd and 4898.39 mg Kg⁻¹ of Zn. The control was prepared by placing seedlings in uncontaminated Cerrado soil (1.18 mg Kg⁻¹ of Cd and 14.59 mg Kg⁻¹ of Zn) for 120 days. Samples of vegetative organs were analyzed through microscopic techniques (light and scanning microscopy) and the levels of contaminants were measured. The results showed that the species presented anatomical variations, such as reduction of mesophyll thickness, changes in stomatal index and thickness of the xylem vessels. These results are evidence of a greater need of water retention by the plants, when they are exposed to environmental stress. The results concerning the concentration of elements in the studied plants were optimistic. The roots of *E. dysenterica* presented 17.92 mg Kg⁻¹ of Cd and 560.88 mg Kg⁻¹ of Zn and *I. vera*, 28.12 mg Kg⁻¹ of Cd and 1394.33 mg Kg⁻¹ of Zn. *E. dysenterica* presented a higher sensibility to Cd. However, *I. vera* presented a higher resistance to this element. It was also possible to observe different concentrations of Cd and Zn in the aerial parts (stem and leaves) of both species: *E. dysenterica* with 6.51 mg Kg⁻¹ of Cd and 383.34 mg Kg⁻¹ of Zn; and *I. vera* with 1.77 mg Kg⁻¹ of Cd and 2691.23 mg Kg⁻¹ of Zn. These results were used to calculate the translocation index for each species. *I. vera* presented a high translocation index for Zn (TI=1.98). However, this value was lower for the species *E. dysenterica* (TI=0.68). Both species presented low translocation index for Cd. *I. vera* was tolerant to the presence of the studied elements and could be used in the initial phase of recovering programs of areas with similar environmental characteristics.

Keywords: Ecologic anatomy. Contaminated soil. Heavy metals. Phytoremediation. Recovery of degraded areas.

1 INTRODUÇÃO

As atividades de mineração são de fundamental importância para a obtenção da matéria-prima necessária para a fabricação de bens indispensáveis ao homem, trazendo inúmeros benefícios para a sociedade e para o desenvolvimento do país. Entretanto, diversos trabalhos mostram que o processo de obtenção desses recursos pode causar impactos ambientais, comprometendo a saúde da população, dos ecossistemas e a vida de futuras gerações.

A fitorremediação é uma técnica que vem sendo amplamente empregada na descontaminação ambiental (LINDBLOM et al., 2006), podendo ser utilizada na recuperação de águas superficiais ou subterrâneas, solo e subsolo (DINARDI et al., 2003) e ar contaminados, por ser de baixo custo e gerar o mínimo de perturbação ao solo quando comparado com outras técnicas (HENRY, 2000), além de promover a recuperação estética do ambiente. Consiste no uso de plantas e microbiota associada para remover, imobilizar ou tornar os contaminantes inofensivos ao ecossistema (SALT, 1998).

Durante seu ciclo de vida, nem sempre as plantas encontram condições ambientais favoráveis ao seu desenvolvimento natural, gerando reações ao estresse (CHAVES-FILHO; STACCIARINI-SERAPHIN, 2001). Essas reações podem ser observadas em plantas que se desenvolvem em solos contaminados por altos teores de metais fitotóxicos, como o que acontece em áreas de rejeito industrial.

O termo estresse é utilizado pela maioria dos autores em sentido muito amplo visto que as plantas não possuem muitas possibilidades de respostas, apresentando sintomas semelhantes independente dos fatores de estresse (LICHTENTHALER, 1996).

Myrtaceae é uma família botânica que possui distribuição predominantemente pantropical e subtropical, concentrada na região neotropical

e na Austrália. A família inclui cerca de 130 gêneros e 4000 espécies (SOUZA & LORENZI, 2005), entre eles o gênero *Eugenia*. *Eugenia dysenterica* DC é uma espécie arbórea decídua, heliófita, seletiva xerófita, secundária, característica e exclusiva dos Cerrados de altitude (acima de 800m), onde é muito abundante, porém com dispersão bastante descontínua e irregular (LORENZI, 1998). Ocorre preferencialmente em formações primárias e em capoeirões de terrenos elevados, como solo argiloso ou arenoso bem drenado, produzindo anualmente grande quantidade de sementes viáveis.

A família Fabaceae possui distribuição cosmopolita, incluindo cerca de 650 gêneros e aproximadamente 18000 espécies, representando uma das maiores famílias de Angiospermas e também uma das principais do ponto de vista econômico. No Brasil ocorrem cerca de 200 gêneros e 1500 espécies (SOUZA; LORENZI, 2005). *Inga vera* Willd é uma planta semidecídua, heliófita, seletiva higrófita, pioneira, característica da floresta pluvial tropical. Ocorre principalmente em capoeiras, localizada sobre solos de baixada, que durante o período chuvoso alaga-se com facilidade (LORENZI, 1998).

As espécies *E. dysenterica* e *I. vera* foram estudadas em sua capacidade de desenvolvimento em solo contaminado com altos níveis de Cd e Zn resultante do descarte de rejeito da mineração de Zn, visando fazer a identificação de alterações morfoanatômicas causadas pelo contato direto com esses elementos e avaliar sua inclusão em programas de revegetação de áreas com características semelhantes.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de Estudo

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras (DCS/UFLA), em Lavras – MG, nos meses de abril a julho de 2010, em condições naturais de luminosidade. O município de Lavras está localizado na região sul de Minas Gerais, a 918m de altitude, latitude 21°14'S e longitude 45°00'W GRW. O clima, segundo a classificação de Köppen, é Cwa, temperado chuvoso (mesotérmico), com inverno seco e verão chuvoso, subtropical e inverno seco (DANTAS et al., 2007).

2.2 Montagem dos Experimentos

Mudas de *E. dysenterica* e *I. vera* foram colocadas em contato com o solo contaminado (25,22 mg Kg⁻¹ de Cd e 4898,39 mg Kg⁻¹ de Zn) com solo por 120 dias e em solo nativo de Cerrado sem contaminação (1,18 mg Kg⁻¹ de Cd e 14,59 mg Kg⁻¹ de Zn) como testemunha, sendo vinte vasos de tratamento e dez de testemunha para cada espécie.

Ao final do período, amostras de raiz e folha de cinco vasos de cada tratamento foram coletadas para análise microscópica de variação anatômica e avaliação morfoanatômica em microscopia eletrônica de varredura (MEV). O restante do material vegetal foi lavado e transferido para secagem em estufa, posteriormente triturado para obtenção da biomassa seca e análise da presença dos contaminantes.

Para as análises da variação anatômica foram coletadas as folhas do segundo nó para *E. dysenterica* e dos folíolos distais de *I. vera*. Em ambas as espécies foram retiradas duas amostras de raízes secundárias logo abaixo do coleto.

As modificações morfológicas nas plantas foram observadas diariamente em busca de sintomas de estresse causado pelos contaminantes. Ao final do experimento, as mudas foram medidas para caracterizar o crescimento e o material coletado para obtenção da biomassa seca total e particionada (entre parte aérea e raízes).

2.3 Microscopia de Luz

O preparo das amostras para a análise em Microscopia de Luz foi realizada no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (DBI/UFLA).

Após a coleta, o material foi lavado para retirada de impurezas e fixado em FAA_{70%} (formol 37%, ácido acético glacial P.A. e álcool etílico 70% na proporção de 0,5: 0,5: 9,0) (JOHANSEN, 1940). Após 72 horas da fixação foram conservadas em etanol 70° GL (JENSEN, 1962) até o momento das análises.

Para a confecção das lâminas foi retirada uma amostra da região mediana de cada folha para emblocamento em resina *Leica Historessin*®, da Leica Microsystems Nussolch GmbH. (7022 31731 Leica Historessin Embedding Kit). Para realização dessa etapa de preparo, o material foi submetido ao processo de desidratação em série alcoólica (álcool etílico 70%, álcool etílico comercial 92,8%, álcool etílico P.A.) por um período de duas horas para cada concentração. Em seguida, o material foi deixado em solução de pré-infiltração composta por resina base e etanol 95% (1:1) durante duas horas em vácuo e em

seguida foi transferido para a solução de infiltração (resina base), onde permaneceu por 48 horas. Após a infiltração, o material foi colocado em moldes de polietileno com a solução de polimerização (resina base/endurecedor 15:1), conforme especificações do fabricante.

Os histomoldes foram desemblocados após 24 horas, colados em suporte de madeira e levados para o micrótomo de deslize calibrado para obtenção de cortes com 5µm a 10µm de espessura, conforme a resistência do material histológico.

As secções foram dispostas em lâminas de vidro sobre placa aquecedora a 40°C. O material foi corado com azul de toluidina 0,05% (em tampão fosfato de potássio pH = 4,7) por 5 minutos. Em seguida foi lavado rapidamente em água destilada. Após a secagem em placa aquecedora a 40 °C, as lâminas foram montadas em bálsamo do Canadá (SOUZA et al., 2005).

As medições da espessura dos tecidos foram realizadas por meio do software de medição *Image Tool 3.00*©, do UTHSCSA (The University of Texas Health Science Center in San Antonio), utilizando-se fotomicrografias registradas em câmera digital Canon PowerShot A630 acoplada ao microscópio Ken-a-Vision TT18. Foram realizadas 42 medições por amostra, em seis cortes de cada tratamento, sendo realizadas sete medições em fotomicrografias de campos diferentes.

2.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A preparação e a observação das amostras em Microscópio Eletrônico de Varredura foram realizadas conforme protocolo do Laboratório de Microscopia Eletrônica e UltraEstrutura no Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras (DFP/UFLA).

As amostras foram seccionadas em pedaços de 0,5cm² e imersas em solução fixativa (Karnovisk`s modificado), pH 7,2, por 24 horas. As amostras foram colocadas em solução de tetróxido de ósmio 1% em água destilada, por 1 hora e, em seguida, desidratadas em série de acetona (30%, 50%, 70%, 90% e 100%, por três vezes) e, então, levadas para o aparelho de ponto crítico. As amostras pós-fixadas foram montadas em *stubs*, banhadas em ouro e levadas ao microscópio eletrônico de varredura (Zeiss – Leo Evo 40) para análises e obtenção das fotografias.

2.5 Avaliação dos Teores de Cádmio e Zinco

A biomassa seca das amostras foi triturada para digestão 3051a da *United Environmental Protection Agency* (USEPA, 1995), onde 0,5g de material foi colocado em tubos de *Teflon*® *PTFE* com 5 mL de HNO₃ (ácido nítrico) e levados ao forno de microondas à pressão 0,76MPa e temperatura aproximada de 175°C por 10 minutos. Após o resfriamento o material foi filtrado e ao volume obtido recebeu 10 mL de água destilada. Os teores de Cd e Zn foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica com equipamento *PerkinElmer AAnalyst 800*® com atomizador tipo chama. O material de referência utilizado para garantia de qualidade foi o *BCR*® *482 Lichen*, do IRMM (*Institute for Reference Material and Measurements – European Commission*) em cada bateria, além de uma amostra em branco (contendo apenas HNO₃) com recuperação de 77% a 137%.

2.6 Análise Estatística

Os dados obtidos foram analisados quanto à média, desvio padrão das amostras e análise de variância com uso de software *Microsoft Office Excel 2007*®, da Microsoft Corporation.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o contato com o solo contaminado as plantas de *Eugenia dysenterica* e *Inga vera* apresentaram acentuada perda de folhas com rebrota após 15 dias, sendo esse o período de adaptação adotado.

Eugenia dysenterica e *Inga vera* apresentaram baixo crescimento vertical. Esse resultado já era esperado por se tratarem de espécies arbóreas e por esse motivo possuem crescimento lento. Entretanto, a exposição aos contaminantes provocou redução no acúmulo de massa seca nas duas espécies estudadas, exceto nas raízes de *E. dysenterica*, onde foi possível observar pequeno aumento na biomassa seca. Os valores médios de produção de biomassa seca após o período de teste foram obtidos em Balança de Precisão Tecnal® Mark 1300 Classe II (Tabela 1).

Tabela 1 Biomassa seca em gramas de *Eugenia dysenterica* e *Inga vera*

	<i>Eugenia dysenterica</i>		<i>Inga vera</i>	
	Testemunha	Tratamento	Testemunha	Tratamento
Raiz	0,86	0,93	5,90	5,02
Caule	0,39	0,31	6,65	5,97
Folha	0,47	0,21	1,45	0,62

As alterações visualizadas nas folhas das duas espécies após o período experimental foram ocorrência de clorose, necrose e perda de flexibilidade, sendo esses efeitos mais marcantes em *E. dysenterica*.

3.1 Análises Microscópicas

As observações em microscopia de luz nas folhas de *E. dysenterica* em solo controle (testemunha) apresentam mesofilo dorsiventral, com parênquima paliádico com 2-3 camadas de células e de 6-7 camadas no parênquima

esponjoso (Figura 1). Tanto a epiderme adaxial quanto a abaxial possui apenas uma camada de células. Entretanto, as amostras obtidas de plantas que tiveram contato com os contaminantes apresentaram redução na espessura do mesofilo e nas camadas dos parênquimas, sendo o parênquima paliçádico com 1-2 camadas de células e o parênquima esponjoso com 5-6 camadas.

As amostras de *I. vera* em solo controle (testemunha) apresentam mesofilo dorsiventral com parênquima paliçádico com apenas uma camada celular alongada e parênquima esponjoso com 3-4 camadas de células espaçadas (Figura 2).

Nas amostras obtidas das plantas que foram submetidas ao solo contaminado houve redução na espessura do mesofilo e do parênquima paliçádico enquanto o parênquima esponjoso apresentou maior adensamento.

Os cortes transversais mostram que *E. dysenterica* sofreu redução na espessura do limbo foliar, epidermes das faces adaxial e abaxial, no parênquima paliçádico e no diâmetro dos vasos do xilema (Gráfico 1), sendo essa última, uma característica marcante em resposta ao contato com os contaminantes, visto que, contato com os metais pesados presentes no solo pode alterar severamente o balanço hídrico nas plantas (BARCELÓ; POSCHENREIDER, 1990).

Em *I. vera* as respostas foram contrárias, apresentando aumento na espessura do limbo foliar e no diâmetro dos vasos do xilema, evidenciando menor necessidade irrigação dos tecidos, como pode ser observado no Gráfico 2.

De acordo com Alves & Angyalossy-Alfonso (2000) a redução no número e calibre dos vasos condutores pode ser causada por fatores ambientais para assegurar a condução hídrica e segundo Sandalio et al. (2001), os metais pesados podem afetar a movimentação hídrica na planta, reduzindo os vasos do xilema e alterando inclusive o balanço hormonal.

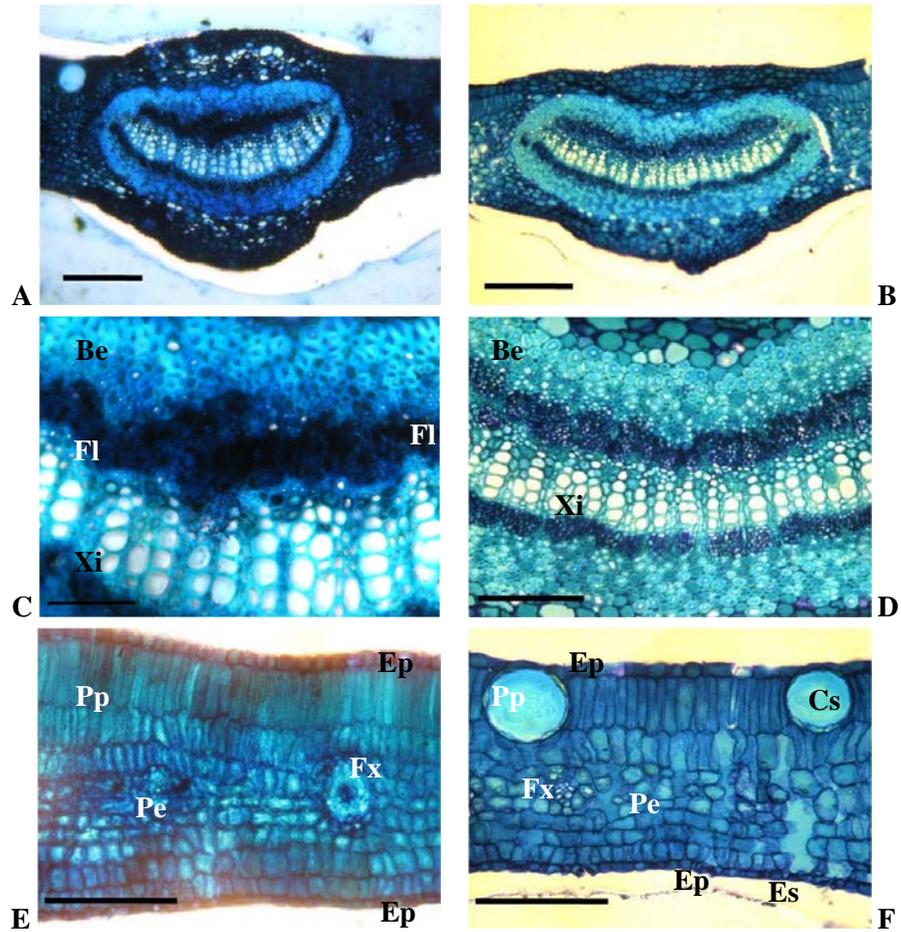


Figura 1 Secções transversais das folhas *Eugenia dysenterica*. (A, C e E) Em solo controle; (B, D e F) Em solo contaminado. (A e B) Nervura Central. (C e D) Detalhe da nervura central. (E e F) Limbo foliar evidenciando mesofilo dorsiventral. Be: Bainha esclerenquimática; Cs: Cavidade secretora; Ep: Epiderme; Es: Estômato; Fl: Floema; Fx: Feixe vascular; Pe: Parênquima esponjoso; Pp: Parênquima paliçádico; Xi: Xilema. Barras de escala: (A e B = 200µm); (C, D, E e F = 100µm)

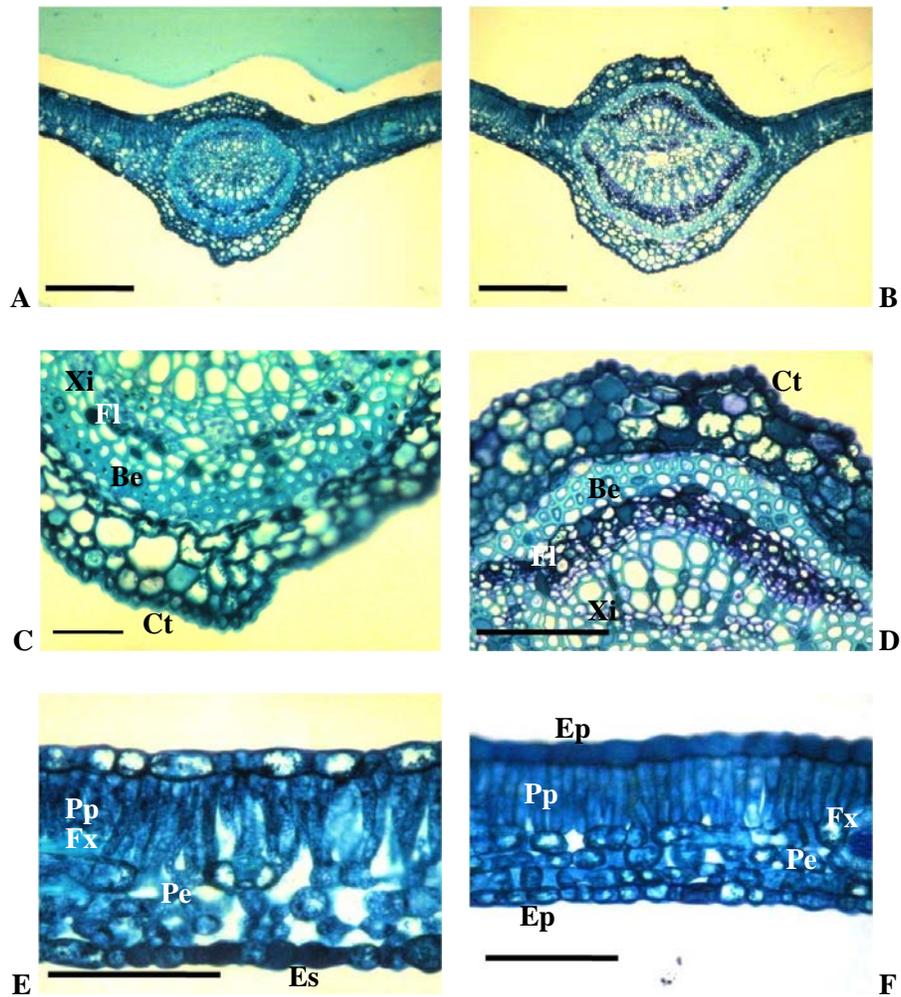


Figura 2 Secções transversais das folhas *Inga vera*. (A, C e E) Em solo controle; (B, D e F) Em solo contaminado. (A e B) Nervura Central. (C e D) Detalhe da nervura central. (E e F) Limbo foliar evidenciando mesófilo dorsiventral. Be: Bainha esclerenquimática; Ct: Cutícula; Ep: Epiderme; Es: Estômato; Fl: Floema; Fx: Feixe vascular; Pe: Parênquima esponjoso; Pp: Parênquima paliádico; Xi: Xilema. Barras de escala: (A e B = 200 μ m); (C, D, E e F = 100 μ m)

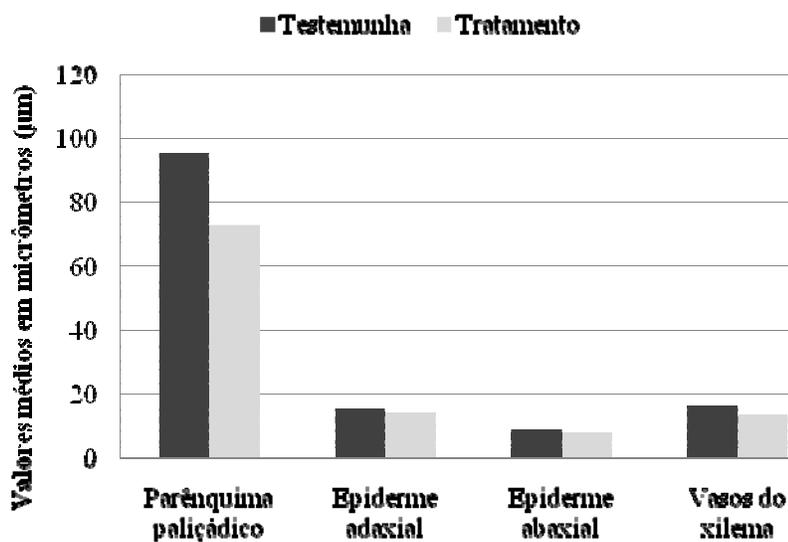


Gráfico 1 Valores médios do desenvolvimento foliar de *Eugenia dysenterica* em solo contaminado por Cd e Zn

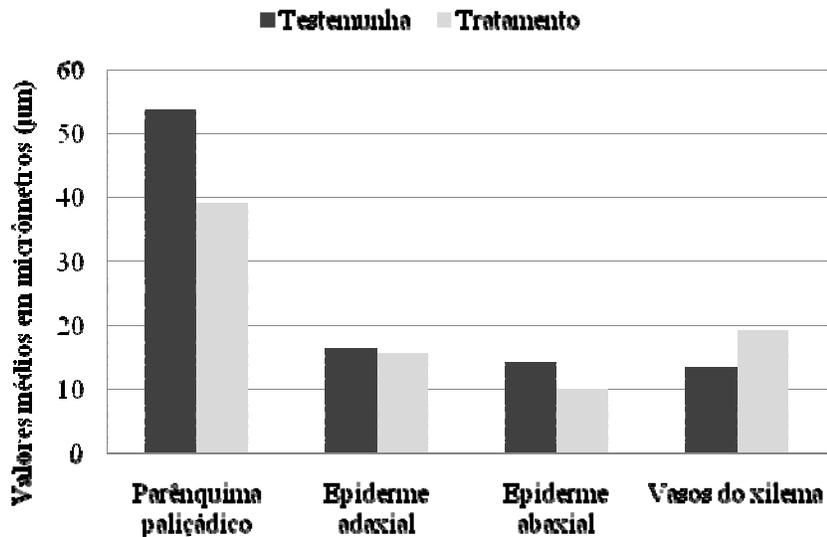


Gráfico 2 Valores médios do desenvolvimento foliar de *Inga vera* em solo contaminado por Cd e Zn

O parênquima paliçádico é rico em cloroplastos, sendo fundamental para a absorção de luz para a realização da fotossíntese (CASTRO et al., 2007), sendo assim, a redução desse tecido nas folhas de *E. dysenterica* quando submetidas ao estresse pode acarretar em deficiência na produção de energia, fato que explica a baixa produção de biomassa dessa espécie nas condições apresentadas. De acordo com Stobart et al. (1985), a exposição das plantas aos metais pesados afeta o desenvolvimento dos cloroplastos. Sirdhar et al. (2005) também verificaram variações nos parênquimas paliçádico e esponjoso de *Brassica juncea* quando exposta ao Cd e Zn.

Em ambas as espécies houve aumento na largura do feixe vascular na nervura central e conseqüente aumento na espessura do colênquima das faces adaxial e abaxial, resultado também encontrado por Vollenweider et al. (2006) em estudo anatômico com presença de Cd, de forma que esse resultado pode ser uma reação à absorção desse contaminante pelas plantas. A perda acentuada de flexibilidade foliar também pode estar relacionada ao aumento nesse tecido.

Os valores de redução das epidermes das faces adaxial e abaxial nas duas espécies estudadas não são significativos estatisticamente, sendo proporcionais aos valores de redução do mesofilo.

O aumento no tamanho dos estômatos em *E. dysenterica* evidencia maior necessidade de efetuar trocas gasosas. A redução no tamanho dos estômatos quanto submetida ao estresse da contaminação também pode justificar o maior investimento na produção dessas estruturas.

Em *I. vera* houve significativa redução no tamanho dos estômatos, quando dispostos na epiderme da face adaxial. Esses fatores podem indicar maior necessidade de retenção hídrica dessa espécie quando submetidas ao estresse da contaminação do solo. Chardonnens et al. (1998) também relatam aumento na densidade estomática em *Silene vulgaris* em condições de estresse

causado pela presença de Cd, assim como *Brassica napus*, relatado por Baryla et al. (2001).

Ocorreu acentuada redução na espessura do limbo foliar em ambas as espécies quando colocadas em contato com os contaminantes. Segundo Melo et al. (2007), essa mudança na espessura do limbo ocorre como uma medida de adaptação em condições de estresse em plantas que possuem plasticidade anatômica. Outros estudos mostram essa característica em plantas que tiveram contato com metais pesados (ZHAO et al., 2000; MARUTHI et al., 2005) e para Alves et al. (2001), a redução nos espaços intercelulares dos tecidos pode dificultar a circulação de gases tóxicos.

Silva (2006) relata danos aos tecidos do mesofilo foliar como redução do número de camadas de células parenquimáticas e do tamanho dos feixes vasculares, aumento na espessura do periciclo e da cutícula; e nas raízes absorventes reduzem o volume do tecido cortical, aumento da espessura da epiderme, do parênquima lignificado e redução no tamanho dos vasos xilemáticos, em *Brachiaria decumbens* em solo contaminado por Cd e Zn.

As imagens em microscopia eletrônica de varredura de *E. dysenterica* mostram que a espécie apresenta células epidérmicas justapostas isodiamétricas, com contorno sinuoso, poucos estômatos na face adaxial e ausência de tricomas.

Na epiderme da face abaxial não foram encontrados muitos estômatos (Figura 3), entretanto a abundância de estômatos foi visualizada na epiderme face abaxial da folha dessa espécie quanto submetida à contaminação. O contorno sinuoso das células epidérmicas nessa espécie também foi visualizado por Palhares (2003) e em *Eugenia brasiliensis* por Donato & Morretes (2007). Para Menezes (2003), essa sinuosidade pode ocorrer em função de tensões na folha ou pelo endurecimento da cutícula durante a diferenciação celular. Não foram encontrados tricomas glandulares ou outros anexos epidérmicos comuns em espécies do gênero *Eugenia*.

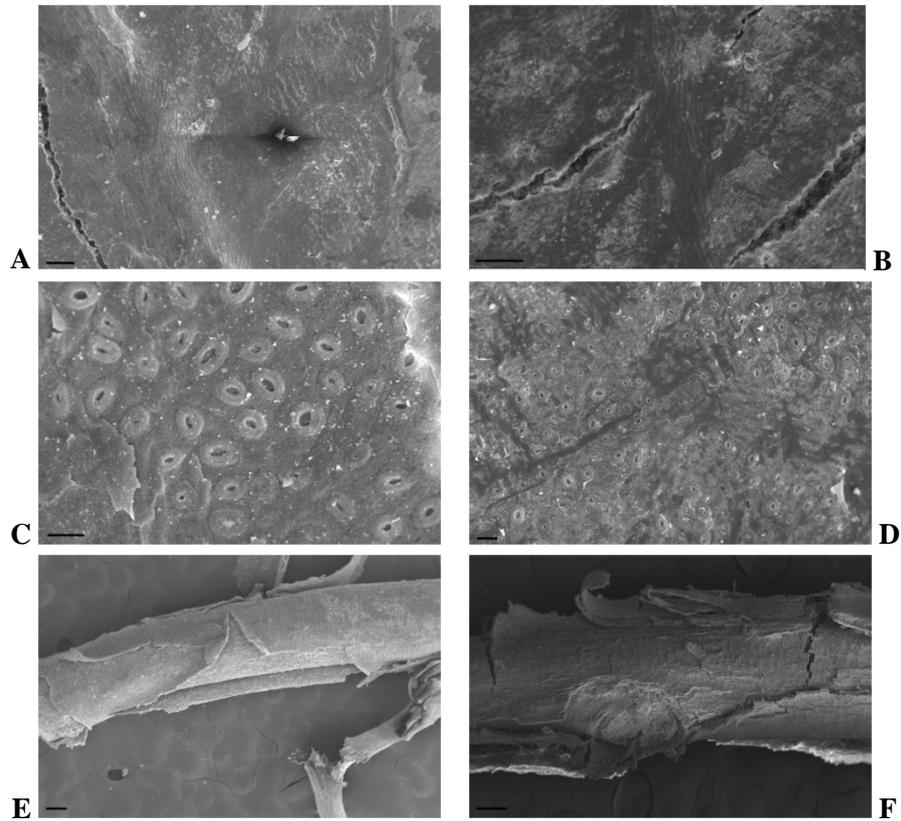


Figura 3 Fotomicrografias de *Eugenia dysenterica* em microscopia eletrônica de varredura. (A, C e E) Em solo controle; (B, D e F) Em solo contaminado. (A e B) Epiderme da face adaxial mostrando ausência de tricomas e estômatos. Barra: 100µm. (C e D) Epiderme da face abaxial com muitos estômatos. Barra: 20µm. (E e F) Raíz evidenciando aumento na descamação. Barra: 200µm

Inga vera também apresenta células epidérmicas justapostas isodiamétricas, com contorno sinuoso, além de poucos estômatos na face adaxial e presença de tricomas tectores isolados sobre a nervura central de ambas as faces e nas bordas das folhas.

A espécie apresentou muitos estômatos apenas na face abaxial, com poucas ocorrências na epiderme da face adaxial (Figura 4). A abundância de estômatos apenas na epiderme da face abaxial foi também visualizada na folha dessa espécie quanto submetida à contaminação.

Verificou-se que nas duas espécies estudadas houve aumento na descamação da epiderme das raízes quando submetidas ao contato com o solo contaminado, com melhor visualização em microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Diversos trabalhos apontam o alto teor de Cd no substrato como um dos principais agentes causadores de lesões celulares em plantas, como a perda de elasticidade (BARCELÓ et al., 1988), deformações (WOJCIK et al., 2005) e rompimento da parede celular (SRIDHAR et al., 2005), sendo os danos mais comuns em raízes e folhas de plantas expostas ao contaminante.

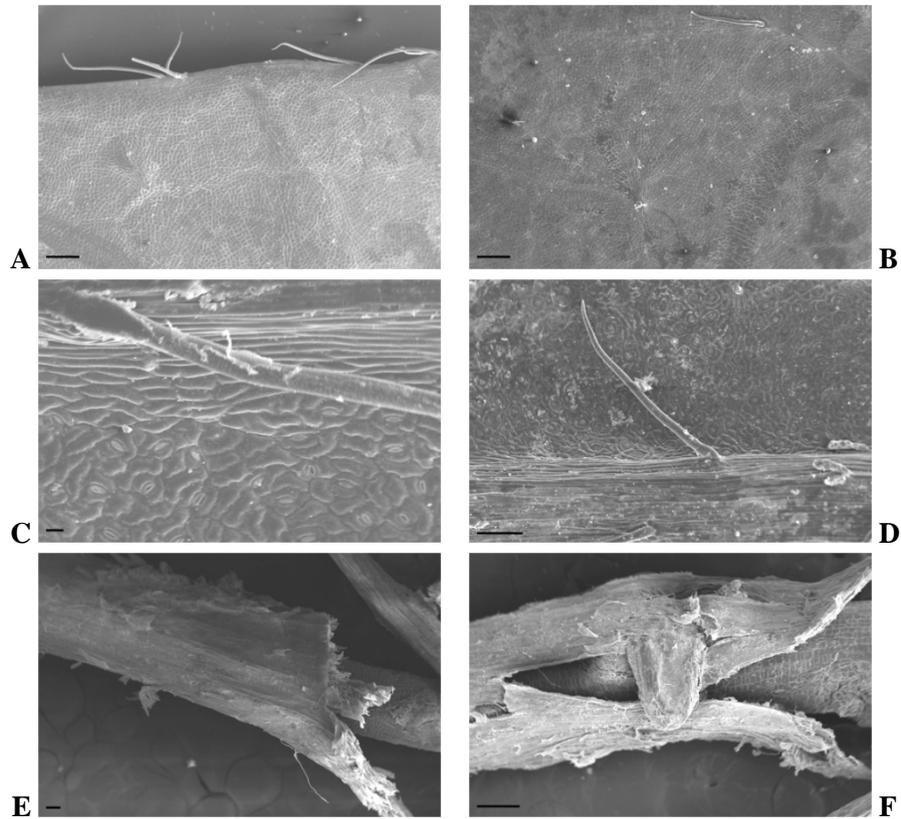


Figura 4 Fotomicrografias de *Inga vera* em microscopia eletrônica de varredura (A, C e E) Em solo controle; (B, D e F) Em solo contaminado. (A e B) Epiderme da face adaxial mostrando tricomas na borda da folha (A) e sobre a nervura central (B). Barra: 200 μ m. (C e D) Epiderme da face abaxial com muitos estômatos e tricomas sobre a nervura central. Barra: (C) 20 μ m; (D) 100 μ m. (E e F) Raiz com aumento na descamação. Barra: (E) 100 μ m; (F) 200 μ m

3.2 Teores de Cádmio e Zinco

E. dysenterica e *I. vera* absorveram maior quantidade de Zn se comparados com os teores de Cd encontrados nas espécies.

Os teores de Cd e Zn apresentados por *E. dysenterica* ao final do experimento demonstram sua baixa capacidade de absorver os contaminantes, embora os valores encontrados sejam relativamente altos se comparados aos obtidos a partir do solo não contaminado (Tabela 2). Os resultados mostram que a espécie pode ser empregada em programas de fitorremediação de áreas com características semelhantes, desde que sejam empregados amenizantes como os sugeridos por Accioly (2001) e utilizadas mudas mais maduras.

Tabela 2 Teores de Cd e Zn encontrados nas amostras de *Eugenia dysenterica* e *Inga vera*

	Cádmio (mg kg ⁻¹)		Zinco (mg kg ⁻¹)	
	Testemunha	Tratamento	Testemunha	Tratamento
<i>E. dysenterica</i>				
Raiz	1,45	17,92	29,40	560,88
Caule	-	-	-	-
Folha	-	-	-	-
Parte aérea	1,71	6,51	45,03	383,34
	Cádmio (mg kg ⁻¹)		Zinco (mg kg ⁻¹)	
<i>I. vera</i>	Testemunha	Tratamento	Testemunha	Tratamento
Raiz	1,39	28,12	11,53	1394,33
Caule	< LD	1,63	15,19	258,70
Folha	< LD	< LD	17,31	2432,53

< LD: Abaixo do limite de detecção

Limite de detecção (LDM): Cd = 1,27 e Zn = 0,67

Baixa concentração de Cd em folha de *Salix viminalis* foi relatada por Vollenweider et al. (2006), onde a distribuição desse elemento nesse órgão

ocorreu de forma protetora para os tecidos envolvidos na fotossíntese, podendo representar uma estratégia de tolerância a presença dos metais pesados.

As duas espécies apresentaram maior capacidade de translocação dos elementos em comparação com a capacidade de bioacumulação (Tabela 3).

O fator de translocação é mensurado através da concentração do elemento de estudo nas partes aéreas da planta em relação ao teor encontrado na raiz. Em *I. vera* o fator de translocação para Zn foi considerado satisfatório (> 1), demonstrando sua alta capacidade de extrair esse elemento do solo.

Tabela 3 Valores de bioacumulação e translocação de Cd e Zn em *Eugenia dysenterica* e *Inga vera*

	Bioacumulação		Translocação	
	Cádmio	Zinco	Cádmio	Zinco
<i>Eugenia dysenterica</i>	1,10	0,19	0,36	0,68
<i>Inga vera</i>	1,34	0,83	0,12	1,89

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados mostram *Inga vera* como uma espécie promissora na bioacumulação de Zn no caule e na raiz, visto que os teores encontrados nessas partes da planta foram muito elevados quando comparados aos valores apresentados em solo com baixa concentração desse elemento (testemunha) em um espaço de tempo relativamente curto (120 dias de exposição). Por ser uma espécie arbórea, o tempo de vida dessa espécie é relativamente longo e estudos com maior duração podem confirmar essa possibilidade.

Estudos detalhados sobre o emprego de *I. vera* em silvicultura nos solos com essas características podem revelar a produção de madeira com alta qualidade e resistência, favorecendo a redução do uso de espécies exóticas e contribuindo para a descontaminação ambiental através da imobilização desses poluentes.

De modo geral, avaliações em longo prazo nas duas espécies podem apresentar fatores de bioacumulação e translocação para o Cd e o Zn, ressaltando o uso de mudas mais desenvolvidas para *E. dysenterica*, como mencionado anteriormente.

O uso de *E. dysenterica* de forma espaçada em grandes áreas degradadas é visto como favorável, já que essa espécie produz flores de odor atrativo e frutos de paladar agradável para a fauna, podendo atuar como chamariz para dispersores de sementes, favorecendo a entrada de outras espécies vegetais colonizadoras.

Entretanto, seu emprego deve ser cauteloso, preferencialmente em áreas de acesso restrito, visto que, além da fauna, os frutos são amplamente consumidos também pela população humana do Cerrado e estudos sobre a

translocação de Cd e Zn para os mesmos não foram realizados, de forma que os efeitos desses elementos na cadeia trófica não são conhecidos.

5 CONCLUSÃO

As espécies estudadas apresentam respostas morfoanatômica aos contaminantes e demonstram plasticidade morfológica como meio de resistência aos altos níveis de Cd e Zn no solo.

Eugenia dysenterica apresenta maior sensibilidade aos teores de Cd e Zn encontrados no solo testado, quanto comparada ao desenvolvimento de *Inga vera*.

Inga vera possui mecanismos especializados na translocação de Zn, podendo ser empregada em programas de recuperação ambiental com altos níveis desse elemento através da fitoestabilização.

As variações anatômicas encontradas em *I. vera* não afetaram seu estabelecimento no solo com altos níveis de Cd e Zn, permitindo classificá-la como espécie tolerante.

REFERÊNCIA

- ACCIOLY, A.M.A. **Amenizantes e estratégias para o estabelecimento de vegetação em solos de áreas contaminadas por metais pesados**. 170p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.
- ALVES, E.S. & ANGYALOSSY-ALFONSO. Ecological trends in the wood of some Brazilian species 1: growth rings and vessels. **Iawa Journal**, v. 21, p. 3-30. 2000.
- ALVES, E.S.; GIUSTI, P.M. & DOMINGOS, M. Anatomic studies on *Trandescantia hybrid* clone 4430 leaves: changes caused by urban air pollution. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, p. 561-566. Suplemento. 2001.
- BARCELÓ, J.; VÁSQUEZ, M.D.; POSHENRIEDER, C.H. Plant water relations as affected by heavy metal stress. A review. **Journal of Plant Nutrition** **13**: 1-37. 1990.
- BARCELÓ, J.; VAZQUEZ, M. D. & POSCHENRIEDER, C. Structural and ultrastructural disorders in cadmium-treated bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). **The New Phytologist**, Lancaster, v. 108, n. 1, p. 37-49, Jan. 1988.
- BARYLA, A.; CARRIER, P.; FRANCK, F.; COULOMB, C.; SAHUT, C. & HAVAUX, M. Leaf closes in oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium-polluted soil: causes and consequences for photosynthesis and growth. **Planta**, 212, p. 696-709. 2001.
- CASTRO, E. M.; PINTO, J. E. B. P.; SOARES, A. M.; MELO, H. C.; BERTALUCCI, S. K. V.; VIEIRA, C. V.; JÚNIOR, E. C. L. Adaptações anatômicas de folhas de *Mikania glomerata* Sprengel (Asteraceae), em três regiões distintas da planta, em diferentes níveis de sombreamento. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 9, n. 2, p. 8-16, 2007. 2007.
- CHARDONNENS, A.N.; TEN BOOKUM, W.M.; KUIJPER, D.J.; VERKLEIJ, J.A.C.; ERNST, W.H.O. Distribution of cadmium in leaves of cadmium tolerant and sensitive ecotypes of *Silene vulgaris*. **Physiologia Plantarum**, v.104, p.75-80. 1998.

CHAVES FILHO, J. T.; STACCIARINI-SERAPHIN, E. Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos solúveis em plantas jovens de lobeira (*Solanum lycocarpum* St.-Hil.) em resposta ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Botânica**, v.24, n.2, p.199-204, 2001.

DANTAS, A.A.A.; CARVALHO, L.G.; FERREIRA, E. Classificação e tendências climáticas em Lavras. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 6, p. 1862-1866, nov./dez. 2007.

DINARDI, A. L.; FORMAGI, V. M.; CONEGLIAN, C. M. R.; BRITO N. N.; SOBRINHO, G. D.; TONSO, S.; PELEGRINI, R. Fitorremediação. In: FÓRUM DE ESTUDOS CONTÁBEIS, 3., 2003, Rio Claro. **Anais...** Rio Claro, SP: Faculdades Integradas Claretianas, 2003. CD ROM.

DONATO, A.M. & MORRETES, B.L. Anatomia foliar de *Eugenia brasiliensis* Lam. (Myrtaceae) proveniente de áreas de restinga e de floresta. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.3, p.426-443, 2007.

HENRY, J.R. **An overview of the phytoremediation of lead and mercury**, 2000. 51p. Disponível online: <http://www.clu-in.gov>.

JENSEN, W. A. **Botanical histochemistry: principle and practice**. San Francisco: W. H. Freeman, 1962. 408p.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York, McGraw- Hill Book Company, 1940. 523p.

LICHTENTHALER, H. K. Vegetation stress: an introduction to the stress concept in plants. **Journal Plant Physiology**, v.148, n.1, p. 4-14, 1996.

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

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Vol. 2, 2ª Ed. Nova Odessa, SP: Editora Plantarum, 1998. 352p.

MARUTHI SRIGHAR, B.B.; DIEHL, S.V.; HANC, F.X.; MONTS, D.L.; SUB, Y. Anatomical changes due to uptake and accumulation of Zn and Cd in Indian mustard (*Brassica juncea*). **Environmental and Experimental Botany**, v. 54, p. 131-141. 2005.

MELO, H.C.; CASTRO, E.M.; SOARES, A.M.; MELO, L.A.; ALVES, J.D. Alterações anatômicas e fisiológicas em *Setaria anceps* Stapf ex Massey e *Paspalum paniculatum* L. sob condições de déficit hídrico. **Hoehnea**, v. 34, n. 2, p. 145-153. 2007.

MENEZES, N. L.; SILVA, D. C. & PINNA, G. F. M. Folha. In: APPEZZATO-DA GLÓRIA, B.; CARMELO-GUERREIRO, S.M. (editoras). **Anatomia vegetal**. Viçosa: Ed. UFV, 2003. 438p.

PALHARES, D. Caracterização farmacognóstica das folhas de *Eugenia dysenterica* DC (Myrtaceae Jussieu). **Revista Lecta**, v.21, n.1/2, p.29-36, 2003.

SALT, D. E.; SMITH, R. D.; RASKIN, I. Phytoremediation. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 49, p. 643-68, June 1998.

SANDALIO, L.M.; DALURZO, H.C.; GÓMES, M.; ROMERO-PUERTAS, M. C. DEL RIO, L. A. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. **Journal of Experimental Botany**, v.52, n.364, p.2115-2126, 2001.

SILVA, S. **Fungos micorrízicos arbusculares no crescimento, extração de metais pesados e características anatômica de *Brachiaria decumbens* Stapf em solos contaminados com metais pesados**. 82p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

SOUZA, L.A.; ROSA, S.M.; MOSCHETA, I.S.; MOURÃO, K.S.M.; RODELLA, R.A.; ROCHA, D.C. & LOLIS, M.I.G.A. **Morfologia e anatomia vegetal: Técnicas e Práticas**. Ponta Grossa: UEPG, 2005, 194p.

SOUZA, V.C. & LORENZI, H. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APGII**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2005. 640p.

SRIDHAR, B.B. M.; DIEHL, S.V.; HANC, F.X.; MONTS, D.L.; SU, Y. Anatomical changes due to uptake and accumulation of Zn and Cd in Indian mustard (*Brassica juncea*). **Environmental and Experimental Botany**, New York, v. 54, n. 2, p. 131-141 Sept. 2005.

STOBART, A.K.; GRIFFITHS, W.T.; AMEEN-BUKHARI, I., SHERWOOD, R. The effect of Cd²⁺ on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley. **Physiologia Plantarum**, v.63, p.293-298, 1985.

UNITED ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – USEPA. **Test methods for evaluating soil waste, physical/chemical methods SW-846**. 3 ed. Washington, 1995. Disponível em: <http://www.epa.gov/SW-846/3051a.pdf>. Acesso em: 10 out 2009.

VOLLENWEIDER, P.; COSIO, C.; GÜNTHARDT-GOERG, M. & KELLER, C. Localization and effects of cadmium in leaves of a cadmium-tolerant willow (*Salix viminalis* L.) Part II microlocalization and cellular effects of cadmium. **Environmental and Experimental Botany**, v. 58, p. 25-40. 2006.

WÓJCIK, M.; VANGRONVELD, J.; D'HAENC, J.; TUKIENDORF, A. Cadmium tolerance in *Thlaspi caerulescens* : II localization of cadmium in *Thlaspi caerulescens*. **Environmental and Experimental Botany**, New York, v. 53, n. 2, p. 163-171, Apr. 2005.

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

CAPÍTULO 4

**Tolerância aos altos níveis de cádmio e zinco no solo em
Gomphrena globosa L. (Amaranthaceae)**

RESUMO

Uma das atividades que mais contribui para a poluição do solo com elementos-traço é a mineração, por produzir grandes quantidades de rejeitos ricos nesses elementos. A fitorremediação é uma técnica de uso crescente na descontaminação ambiental por ser de baixo custo e gerar o mínimo de perturbação ao solo. Consiste no uso de plantas para remover, imobilizar ou tornar os contaminantes inofensivos ao ecossistema. O uso de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) associados às raízes das plantas também vem sendo muito empregado por resultar em inúmeros benefícios para ambos através da simbiose. *Gomphrena globosa* L. é uma espécie herbácea nativa do Cerrado pertencente à família Amaranthaceae. Esse trabalho objetiva identificar modificações anatômicas em *G. globosa* quando submetida ao contato com solo contaminado com altos teores de Cádmio e Zinco, bem como sua capacidade de fitorremediação ambiental. Mudanças da espécie foram colocadas em contato com o solo contaminado por 25,22 mg Kg⁻¹ de Cd e 4898,39 mg Kg⁻¹ de Zn e em solo sem contaminação (1,18 mg Kg⁻¹ de Cd e 14,59 mg Kg⁻¹ de Zn) como testemunha por 45 dias. Em metade dos vasos com cada solo foi feita a inoculação de FMAs para estudo de sua participação no desenvolvimento dessa espécie em contato com os contaminantes. Amostras dos órgãos vegetativos foram analisadas em microscopia. Os resultados mostram que a espécie possui plasticidade anatômica, apresentando redução na espessura do mesofilo e no número de camadas do parênquima esponjoso, sendo essa redução ainda mais acentuada nas plantas que receberam inoculação de FMAs. Os teores dos elementos estudados encontrados nas raízes de *G. globosa* foram 69,35 mg Kg⁻¹ de Cd e 1445,77 mg Kg⁻¹ de Zn nas plantas em solo sem FMAs; e 73,60 mg Kg⁻¹ de Cd e 983,53 mg Kg⁻¹ de Zn nas plantas que receberam a inoculação de FMAs. Nas partes aéreas da planta foram encontrados 25,88 mg Kg⁻¹ de Cd e 3396,18 mg Kg⁻¹ de Zn nas plantas em solo sem FMAs; e 29,15 mg Kg⁻¹ de Cd e 1485,16 mg Kg⁻¹ em solo com FMAs. A inoculação favoreceu a absorção de nutrientes, promovendo aumento de biomassa na espécie e também na absorção de Cd pela planta. *G. globosa* possui alta capacidade em absorver e translocar o Zn para as partes aéreas, especialmente na ausência de FMAs, podendo ser utilizada na remoção desse elemento para fins de reciclagem ou mesmo fitorremediação do solo.

Palavras-chave: Anatomia ecológica. Fitorremediação. Metais pesados. Fungos micorrízicos arbusculares. Recuperação de áreas degradadas.

ABSTRACT

Phytoremediation is a low-cost technique which causes a minimum disturbance of soil in programs of environmental decontamination. The use of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) associated with plant roots has also been largely used. It is based in the symbiotic relation between plants and microorganisms, which results in various benefits for both groups. *Gomphrena globosa* L. (Family: Amaranthaceae) is a native herbaceous species of the Cerrado biome (Brazilian Savannah). The objectives of the present study was to identify anatomical changes in *G. globosa* when introduced in soil contaminated with high levels of cadmium (Cd) and zinc (Zn), as well as verify its potential phytoremediation use. Seedlings of *G. globosa* were placed in contaminated soil (with 25.22 mg kg⁻¹ of Cd and 4898.39 mg kg⁻¹ of Zn) and uncontaminated soil (with 1.18 mg kg⁻¹ of Cd and 14.59 mg kg⁻¹ of Zn). The control (uncontaminated soil) was performed and observed for 45 days. AMF was inoculated in half the containers filled with contaminated and uncontaminated soil. This technique was used to observe the effects of these microorganisms in the development of *G. globosa* in contaminated soil. Samples of vegetative organs were analyzed under a microscope. The results showed that *G. globosa* has an anatomical plasticity, with reduction of the mesophyll thickness and in the number of layers in the spongy parenchyma. This reduction was more pronounced in the specimens treated with AMF. The concentration of elements registered in the roots of *G. globosa* were, 69.35 mg kg⁻¹ of Cd and 1445.77 mg kg⁻¹ of Zn in specimens not treated with AMF. The specimens treated with AMF presented concentrations of 73.60 mg kg⁻¹ of Cd and 983.53 mg kg⁻¹ of Zn in their roots. Concerning the aerial parts of the plant, the concentrations registered were 25.88 mg kg⁻¹ of Cd and 3396.18 mg kg⁻¹ of Zn in the specimens not treated with AMF. The specimens placed in soil treated with AMF presented 29.15 mg kg⁻¹ of Cd and 1485.16 mg kg⁻¹. The inoculation of AMF in the soil favored the absorption of nutrients by the studied specimens. It caused increase in biomass and in absorption of Cd. *G. globosa* has a great capacity of absorption and translocation of Zn to aerial parts, especially in the absence of AMF. Thus, the use of *G. globosa* for the removal of zinc in recycling or soil phytoremediation programs should be considered.

Keywords: Ecologic anatomy. Phytoremediation. Heavy metals. Arbuscular mycorrhizal fungi. Recovery of degraded areas.

1 INTRODUÇÃO

Dentre as atividades que mais contribuem para a poluição do solo com elementos-traço destacam-se a mineração e a indústria metalúrgica, principalmente a de metais não ferrosos. Isso porque ao promoverem a extração de alguns metais, produzem grandes quantidades de rejeitos, muitas vezes com elevados teores de níquel (Ni), cromo (Cr), cobre (Cu), chumbo (Pb), cádmio (Cd) e zinco (Zn), que afetam severamente a vegetação (BAKER et al., 1994) e as atividades biológicas do solo, como respiração e decomposição, no local de atuação das empresas e em áreas adjacentes (VANGRONSVELD et al., 1997).

Poucas espécies vegetais conseguem se estabelecer em regiões contaminadas pelo acúmulo de elementos-traço em áreas de depósito de rejeito resultantes do refino mineral. A maior parte das plantas gera reações ao estresse nesses ambientes (CHAVES-FILHO; STACCIARINI-SERAPHIN, 2001).

Isso acontece porque esses poluentes inorgânicos não podem ser degradados. Mas quando estão biodisponíveis no solo eles podem ser absorvidos e estabilizados nos tecidos vegetais (PILON-SMITS, 2005), processo denominado fitorremediação.

Esse processo se tornou uma opção atrativa para a despoluição de solos com elementos-traço, principalmente em países em desenvolvimento, onde financiamentos para recuperação ambiental são escassos (NASCIMENTO et al., 2006). Accioly & Siqueira (2000) já apontavam a fitorremediação como uma prática promissora, com mercado garantido no país, em função da existência de inúmeras e extensas áreas contaminadas, particularmente com metais pesados.

Segundo Lopez (2010), após programas de reabilitação, as áreas contaminadas por metais pesados apresentam elevada diversidade e densidade de microorganismos no solo.

O uso de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) associados às raízes das plantas também vem sendo muito empregado. A colonização das raízes da planta hospedeira pelos FMAs resulta em inúmeros benefícios para ambos através da simbiose, onde a planta fornece fotoassimilados aos fungos e recebe nutrientes essenciais menos solúveis, como o fósforo, zinco e cobre (SMITH; GIANINAZZI-PEARSON, 1988; CHU, 2005).

De acordo com Costa et al. (2001) e Cavalcante et al. (2002), a colonização das raízes da planta pelos FMAs depende de fatores edáfoclimáticos e da relação entre o fungo e a planta, resultando em respostas diferenciadas por parte da planta hospedeira; e segundo Chu (2005), para melhor aproveitamento dos efeitos da associação simbiótica com fungos micorrízicos em benefício da planta, é preciso selecionar as espécies mais eficientes de FMAs.

Amaranthaceae é uma família botânica com distribuição cosmopolita, exceto pelas regiões mais frias do Hemisfério Norte. A família inclui cerca de 170 gêneros e 2000 espécies, sendo que no Brasil ocorrem 20 gêneros nativos e aproximadamente 100 espécies. Nos Cerrados destacam-se as espécies de *Gomphrena* com inflorescências vistosas alaranjadas ou rosadas (SOUZA; LORENZI, 2005).

Gomphrena globosa L. é uma espécie herbácea nativa do Cerrado pertencente à família Amaranthaceae. É uma planta perene, rasteira ou semi-prostrada, considerada daninha por muitas vezes invadir culturas em regiões próximas (LORENZI, 2008).

O desenvolvimento de *G. globosa* com inoculação de FMAs foi estudado para verificar sua capacidade de crescimento em solo contaminado com altos teores de Cd e Zn resultantes do descarte de rejeito da mineração de Zn, visando fazer a identificação de modificações morfoanatômicas causadas pelo contato direto com esses elementos e avaliar sua inclusão em programas de revegetação de áreas com características semelhantes.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de Estudo

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras (DCS/UFLA), em Lavras – MG, nos meses de abril a julho de 2010, em condições naturais de luminosidade. O município de Lavras está localizado na região sul de Minas Gerais, a 918m de altitude, latitude 21°14'S e longitude 45°00'W GRW. O clima, segundo a classificação de Köppen, é Cwa, temperado chuvoso (mesotérmico) com inverno seco e verão chuvoso, subtropical e inverno seco (DANTAS et al., 2007).

2.2 Preparação e Inoculação dos Fungos Micorrízicos Arbusculares

Os fungos micorrízicos arbusculares foram isolados do solo da área de estudo e identificados, sendo *Acaulopora morrowiae*, *Gigaspora albida* e *Glomus clarum* as espécies utilizadas. Seu crescimento foi realizado em solução nutritiva (*Hoogland* modificado), conforme protocolo do Laboratório de Microbiologia do Solo, Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras (DCS/UFLA).

Em cada vaso do experimento (descrito no próximo item) foi colocado 1 mL de solução contendo aproximadamente 230 esporos da mistura de fungos. Os vasos testemunha receberam a solução filtrada para retirada dos esporos.

2.3 Preparação das Mudanças e Montagem dos Experimentos

Sementes de *G. globosa* foram colocadas para germinar em substrato comercial *Plantmax*® autoclavado por uma hora em temperatura de 120°C e pressão de 1atm. As mudas obtidas foram colocadas em vasos contendo solo contaminado (25,22 mg Kg⁻¹ de Cd e 4898,39 mg Kg⁻¹ de Zn) com e sem a adição de esporos de fungos micorrízicos arbusculares, sendo cinco vasos para cada tratamento. O mesmo foi feito em vasos contendo solo sem contaminação (1,18 mg Kg⁻¹ de Cd e 14,59 mg Kg⁻¹ de Zn) como testemunha.

As plantas permaneceram nos tratamentos em casa de vegetação pelo período de 45 dias em condições naturais de luz e umidade. Ao final do período, as plantas foram removidas. Amostras de raiz e folha de cinco vasos de cada tratamento foram coletadas para observação em microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia de luz. O restante do material vegetal foi lavado e transferido para secagem em estufa, posteriormente triturado para obtenção da biomassa seca e análise da presença dos contaminantes.

Para as análises de variação anatômica foram coletadas as folhas do segundo nó para *G. globosa*, sendo quatro amostras para cada tratamento, bem como duas amostras de raízes secundárias.

2.4 Avaliações de Crescimento e Biomassa

As modificações morfológicas nas plantas foram observadas diariamente em busca de sintomas de estresse causado pelos contaminantes. Ao final do experimento, as mudas foram medidas para caracterizar o crescimento e o material coletado para obtenção da biomassa seca total e particionada (entre parte aérea e raízes).

2.5 Microscopia de Luz

O preparo das amostras para a análise em Microscopia de Luz foi realizada no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (DBI/UFLA).

Após a coleta, o material foi lavado para retirada de impurezas e fixado em FAA_{70%} (formol 37%, ácido acético glacial P.A. e álcool etílico 70% na proporção de 0,5: 0,5: 9,0) (JOHANSEN, 1940). Após 72 horas da fixação foram conservadas em etanol 70° GL (JENSEN, 1962) até o momento das análises.

Para a confecção das lâminas foi retirada uma amostra da região mediana de cada folha para emblocamento em resina *Leica HistoResin*®, da Leica Microsystems Nussolch GmbH. (7022 31731 Leica HistoResin Embedding Kit). Para realização dessa etapa de preparo, o material foi submetido ao processo de desidratação em série alcoólica (álcool etílico 70%, álcool etílico comercial 92,8%, álcool etílico P.A.) por um período de duas horas para cada concentração. Em seguida, o material foi deixado em solução de pré-infiltração composta por resina base e etanol 95% (1:1) durante duas horas em vácuo e em seguida foi transferido para a solução de infiltração (resina base), onde permaneceu por 48 horas. Após a infiltração, o material foi colocado em moldes de polietileno com a solução de polimerização (resina base/endurecedor 15:1), conforme especificações do fabricante.

Os histomoldes foram desemblocados após 24 horas, colados em suporte de madeira e levados para o micrótomo de deslize calibrado para obtenção de cortes com 5µm a 10µm de espessura, conforme a resistência do material histológico.

As secções foram dispostas em lâminas de vidro sobre placa aquecedora a 40°C. O material foi corado com azul de toluidina 0,05% (em tampão fosfato

de potássio pH = 4,7) por 5 minutos. Em seguida foi lavado rapidamente em água destilada. Após a secagem em placa aquecedora a 40 °C, as lâminas foram montadas em bálsamo do Canadá (SOUZA et al., 2005).

As medições da espessura dos tecidos foram realizadas por meio do software de medição *Image Tool 3.00*®, do UTHSCSA (The University of Texas Health Science Center in San Antonio), utilizando-se fotomicrografias registradas em câmera digital *Canon PowerShot A630* acoplada ao microscópio *Ken-a-Vision TT18*. Foram realizadas 42 medições por amostra, em seis cortes de cada tratamento, sendo realizadas sete medições em fotomicrografias de campos diferentes.

2.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A preparação e a observação das amostras em Microscópio Eletrônico de Varredura foram realizadas conforme protocolo do Laboratório de Microscopia Eletrônica e UltraEstrutura no Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras (DFP/UFLA).

As amostras foram seccionadas em pedaços de 0,5cm² e imersas em solução fixativa (Karnovisk's modificado), pH 7,2 por 24 horas. As amostras foram colocadas em solução de tetróxido de ósmio 1% em água destilada, por 1 hora e, em seguida, desidratadas em série de acetona (30%, 50%, 70%, 90% e 100%, por três vezes) e, então, levadas para o aparelho de ponto crítico. As amostras pós-fixadas foram montadas em *stubs*, banhadas em ouro e levadas ao microscópio eletrônico de varredura (*Zeiss – Leo Evo 40*) para análises e obtenção das fotografias.

2.7 Avaliação dos Teores de Cádmio e Zinco

A biomassa seca das amostras foi triturada para digestão 3051a da *United Environmental Protection Agency* (USEPA, 1995), onde 0,5g de material foi colocado em tubos de *Teflon*® PTFE com 5 mL de HNO₃ (ácido nítrico) e levados ao forno de microondas à pressão 0,76MPa e temperatura aproximada de 175°C por 10 minutos. Após o resfriamento o material foi filtrado e ao volume obtido recebeu 10 mL de água destilada. Os teores de Cd e Zn foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica com equipamento *PerkinElmer AAnalyst 800*® com atomizador tipo chama. O material de referência utilizado para garantia de qualidade foi o *BCR*® 482 *Lichen*, do IRMM (*Institute for Reference Material and Measurements – European Commission*) em cada bateria, além de uma amostra em branco (contendo apenas HNO₃) com recuperação de 77% a 137%.

2.8 Análise Estatística

Os dados obtidos foram analisados quanto à média, desvio padrão das amostras e análise de variância com uso de software *Microsoft Office Excel 2007*®, da Microsoft Corporation.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O crescimento de *Gomphrena globosa* foi favorecido pela inoculação dos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) em solo não contaminado, entretanto a inoculação não favoreceu o desenvolvimento da espécie em solo com a presença de Cd e Zn. De acordo com Costa et al. (2001) e Cavalcante et al. (2002), a colonização das raízes da planta pelos FMAs depende de fatores edafoclimáticos e da relação entre o fungo e a planta, resultando em respostas diferenciadas por parte da planta hospedeira.

Geralmente, a colonização das raízes da planta hospedeira pelos FMAs resulta em inúmeros benefícios para ambos através da simbiose, onde a planta fornece fotoassimilados aos fungos e recebe nutrientes essenciais menos solúveis, como o fósforo, zinco e cobre (SMITH; GIANINAZZI-PEARSON, 1988; CHU, 2005). Entretanto, os resultados obtidos mostram que além de aumentar a superfície de absorção de nutrientes, os FMAs também podem contribuir para o aumento da absorção dos contaminantes, causando efeito negativo no desenvolvimento das plantas. Os valores médios de produção de biomassa seca após o período de teste foram obtidos em Balança de Precisão Tecnal® Mark 1300 Classe II (Tabela 1).

Tabela 1 Biomassa seca em gramas de *Gomphrena globosa* em solo contaminado com Cádmiio e Zinco, sem e com a inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs)

	Solo sem FMAs		Solo com FMAs	
	Testemunha	Tratamento	Testemunha	Tratamento
Raiz	1,78	1,14	2,05	1,14
Parte aérea	1,82	1,05	1,80	1,01
Inflorescência	0,90	0,80	0,79	0,81

As alterações macroscópicas visualizadas nas folhas de *G. globosa* após o período experimental foram ocorrência de clorose, necrose e perda de flexibilidade, principalmente nas plantas que receberam inoculação de FMAs em solo contaminado

3.1 Análises Microscópicas

As observações em microscopia de luz nas folhas de *Gomphrena globosa* em solo controle (testemunha) mostraram que essa espécie possui mesofilo dorsiventral, com parênquima paliçádico com uma camada celular e de 4-5 camadas no parênquima esponjoso (Figura 1). Tanto a epiderme adaxial quanto a abaxial possui apenas uma camada de células. Entretanto, as amostras obtidas de plantas que tiveram contato com os contaminantes apresentaram redução na espessura do mesofilo e no número de camadas do parênquima esponjoso (3-4 camadas).

Os resultados mostram que *G. globosa* sofreu redução na espessura de outras estruturas foliares, como parênquima paliçádico, epidermes adaxial e abaxial e nos vasos do xilema (Gráfico 1). Essa redução também foi vista na espessura do limbo foliar e na nervura central (Gráfico 2) quando submetidas ao contato com o solo contaminado, sendo essa redução ainda mais acentuada nas plantas que receberam inoculação de FMAs.

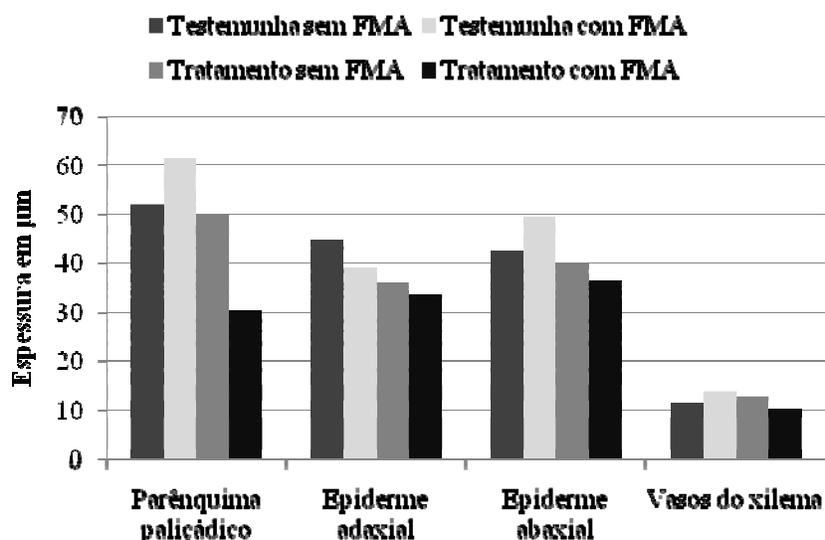


Gráfico 1 Espessura de estruturas foliares em *Gomphrena globosa* em solo contaminado com Cd e Zn, com e sem inoculação de FMAs

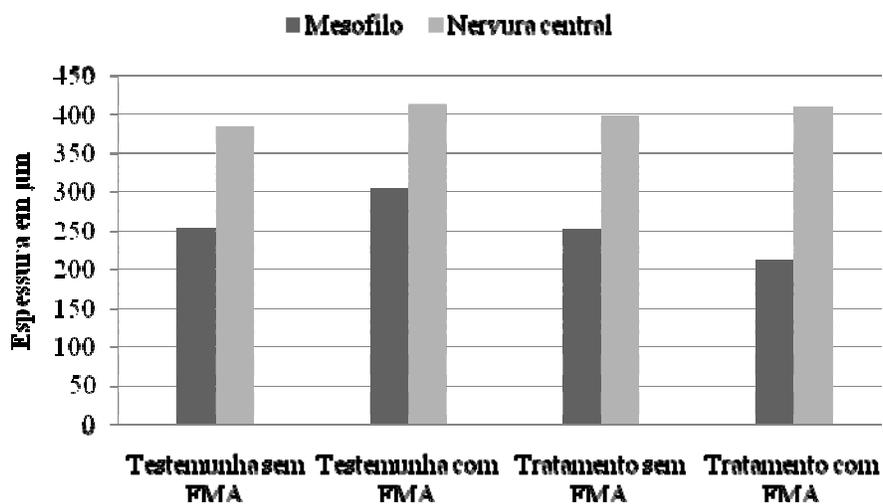


Gráfico 2 Espessura da folha de *Gomphrena globosa* na região da nervura central e no mesofilo

O contato com o solo contaminado provocou aumento no diâmetro dos vasos do xilema nas folhas de *G. globosa*, entretanto houve redução na medida dos mesmos nas amostras que receberam inoculação de FMAs. A contaminação pode ter levado *G. globosa* a intensificar a irrigação nesse órgão para melhor desempenho de suas atividades fisiológicas. A redução no tamanho dos estômatos quando submetida ao estresse da contaminação também podem indicar ineficiência nos processos fisiológicos.

De acordo com Alves & Angyalossy-Alfonso (2000) a redução no número e calibre dos vasos condutores pode ser causada por fatores ambientais para assegurar a condução hídrica; e segundo Sandalio et al. (2001), os elementos-traço podem afetar a movimentação hídrica na planta, reduzindo os vasos do xilema e alterando inclusive o balanço hormonal.

O parênquima paliçádico é rico em cloroplastos, sendo fundamental para a absorção de luz para a realização da fotossíntese (CASTRO et al., 2007), sendo assim, a redução na espessura desse tecido nas folhas de *G. globosa* quando submetida ao estresse pode acarretar em deficiência na produção de energia, fato que explica a baixa produção de biomassa dessa espécie nas condições apresentadas.

De acordo com Stobart et al. (1985), a exposição das plantas aos elementos-traço afeta o desenvolvimento dos cloroplastos. Sirdhar et al. (2005) também verificaram variações nos parênquimas paliçádico e esponjoso de *Brassica juncea* quando exposta ao Cd e Zn.

G. globosa sofreu aumento na largura do feixe vascular na nervura central e conseqüente aumento na espessura do colênquima das faces adaxial e abaxial quando submetida ao contato com o solo contaminado.

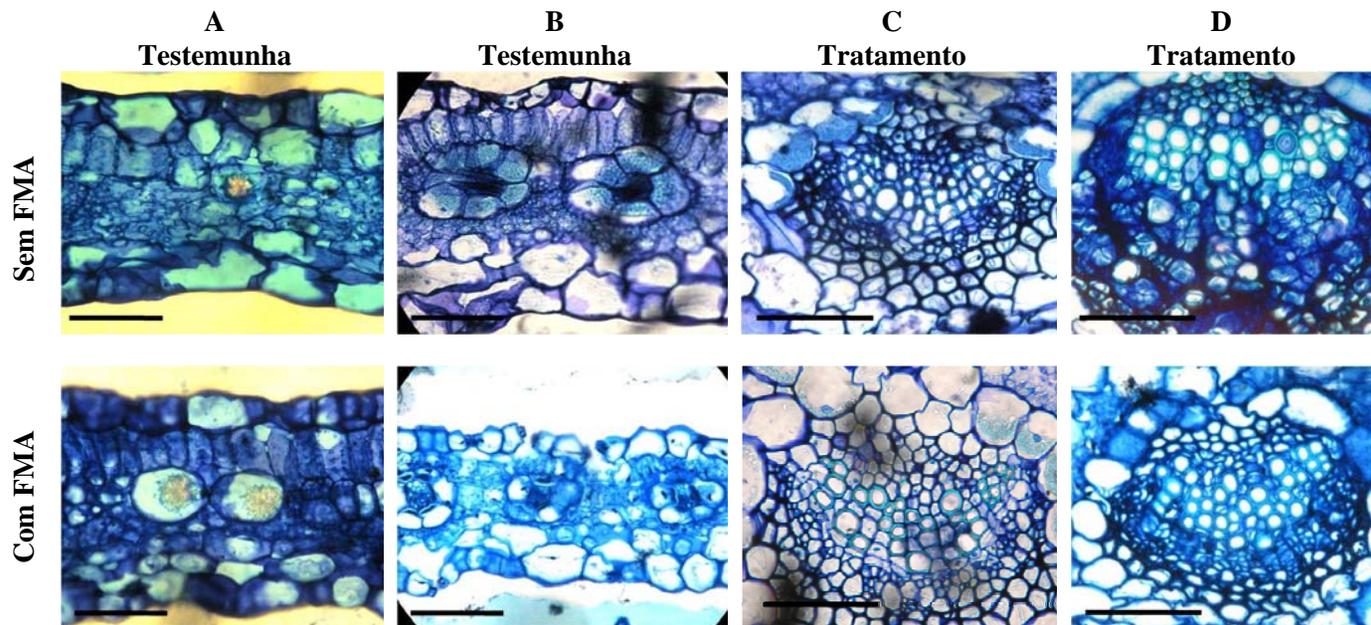


Figura 1 Secções transversais das folhas de *Gomphrena globosa*

Colunas A e B: Limbo foliar evidenciando mesofilo dorsiventral. Colunas C e D: Detalhe da região vascular na nervura central com variações na espessura dos vasos do xilema. Barras de escala: 100µm.

Resultado semelhante foi encontrado por Vollenweider et al. (2006) em estudo anatômico com presença de Cd, de forma que esse resultado pode ser uma reação à absorção desse contaminante pelas plantas. A perda acentuada de flexibilidade foliar também pode estar relacionada ao aumento nesse tecido.

Os valores de redução das epidermes das faces adaxial e abaxial em ambas as espécies não são significativos estatisticamente, sendo proporcionais aos valores de redução do mesofilo.

A redução no tamanho dos estômatos pode ser uma evidência da necessidade de retenção hídrica ou da toxidez causada pelos contaminantes na espécie. Essa redução ocorreu tanto em função da contaminação do solo quanto pela presença dos fungos micorrízicos e foi observada também no tamanho dos estômatos isolado das faces adaxial e abaxial da epiderme de *G. globosa*, principalmente em plantas que receberam a inoculação. A redução dos estômatos quando a planta é submetida ao estresse da contaminação também pode acarretar em baixa queda na fotossíntese pela deficiência na realização de trocas gasosas. Esse resultado não é comum em plantas sob efeito do Cd. Chardonnens et al. (1998) relatam aumento na densidade estomática em *Silene vulgaris* em condições de estresse causado pela presença desse elemento, assim como *Brassica napus*, relatado por Baryla et al. (2001).

Ocorreu acentuada redução na espessura do limbo foliar nas plantas em contato com os contaminantes que receberam inoculação de FMAs. Segundo Melo et al. (2007), essa mudança na espessura do limbo ocorre como uma medida de adaptação em condições de estresse em plantas que possuem plasticidade anatômica. Outros estudos mostram essa característica em plantas que tiveram contato com elementos-traço (ZHAO et al., 2000; MARUTHI et al., 2005) e para Alves et al. (2001), a redução nos espaços intercelulares dos tecidos pode dificultar a circulação de gases tóxicos.

As imagens em microscopia eletrônica de varredura das folhas de *G. globosa* mostram que a espécie apresenta células epidérmicas justapostas isodiamétricas, com contorno sinuoso, muitos tricomas tectores e poucos estômatos na face adaxial (Figura 2). Para Menezes (2003), essa sinuosidade pode ocorrer em função de tensões na folha ou pelo endurecimento da cutícula durante a diferenciação celular.

G. globosa apresenta muitos estômatos na face abaxial da epiderme. Essa abundância de estômatos também foi visualizada na epiderme face abaxial da folha dessa espécie quanto submetida à contaminação.

Tanto os tricomas da face adaxial quanto da face abaxial da epiderme tiveram expressivo aumento no comprimento nas plantas que se cresceram em solo contaminado, podendo representar o maior investimento da planta no desenvolvimento de estruturas protetoras.

As plantas que tiveram contato com o solo contaminado sofreram aumento na espessura e maior produção de raízes laterais. Segundo Barceló & Poschenreider (1990), a presença do Cd no solo é responsável pelo aumento de raízes laterais com redução dos pelos absorventes, promovendo a compactação e adensamento do sistema radicular.

A produção de biomassa radicular não foi afetada pela presença de FMAs em solo contaminado. Isso mostra que a inoculação de FMAs proporcionou maior transferência dos contaminantes presentes no solo em detrimento dos nutrientes para *G. globosa*, evidenciando uma relação negativa para essa espécie nessas condições ambientais.

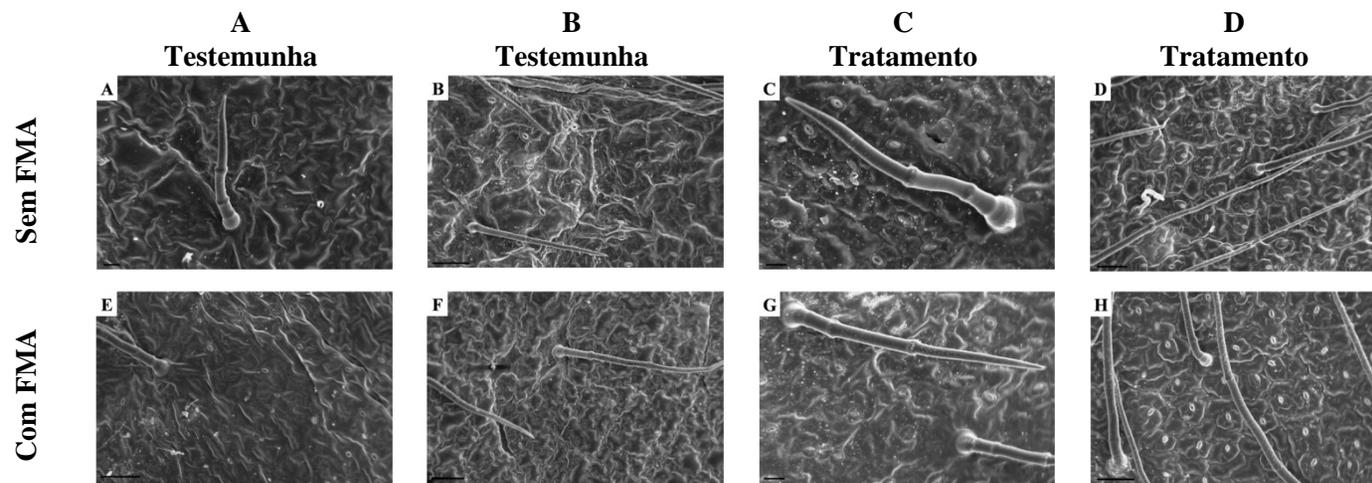


Figura 23 Fotomicrografias de *Gomphrena globosa* em microscopia eletrônica de varredura
 Colunas A e C: superfície adaxial da folha. Colunas B e D: Superfície abaxial da folha.
 As imagens mostram aumento na ocorrência de tricomas em contato com solo contaminado e redução na
 quantidade de estômatos (pontos brancos). Barras de escala: (A, C e G: 30 μ m); (B, D, E, F e H: 100 μ m)

No interior das raízes da espécie o efeito da contaminação foi contrário ao encontrado nas folhas. A espessura dos vasos do xilema reduziu em contato com os contaminantes, entretanto aumentou quando houve inoculação de FMAs (Figura 3). Redução no número de vaso do metaxilema também foi observada, sendo essa uma resposta comum em plantas submetidas ao estresse. Sabe-se que a redução dos vasos provoca aumento na pressão interna, aumentando a circulação hídrica, o que justifica o maior investimento de *G. globosa* maior na produção de vasos como medida adaptativa aos níveis de contaminação do solo.

Segundo Barceló & Poschenreider (1990) e Sandalio et al. (2001), altos níveis de elementos-traço presentes no solo podem afetar o balanço hormonal radicular, interferindo na formação dos tecidos.

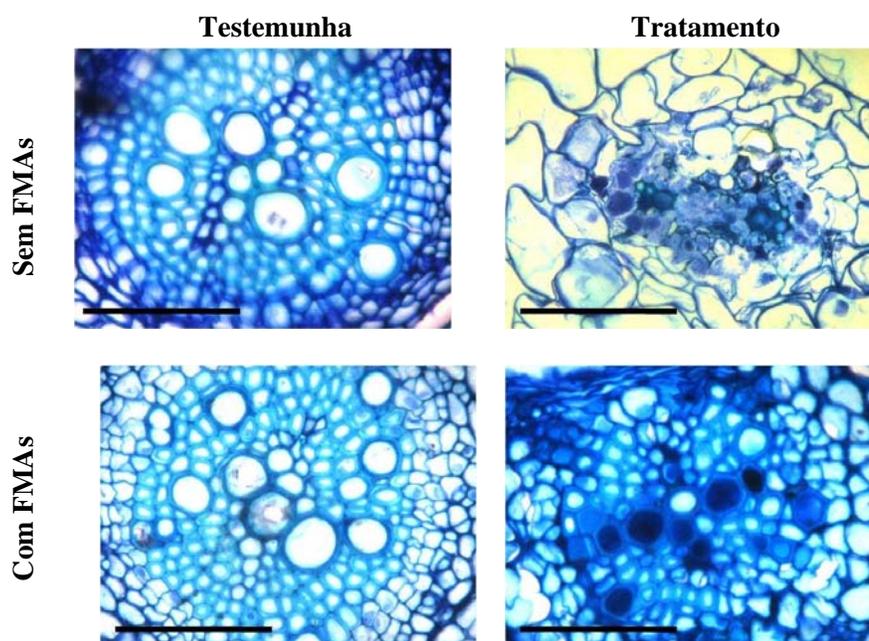


Figura 3 Secções transversais das raízes de *Gomphrena globosa*. Variações na espessura dos vasos do xilema quando submetida ao contato com o solo contaminado. Barras de escala: 100µm

3.2 Teores de Cádmio e Zinco

Em ambos os tratamentos (sem e com FMAs) as plantas de *Gomphrena globosa* absorveram maior quantidade de Zn se comparados os com os teores de Cd encontrados.

Os teores de Cd e Zn apresentados por *G. globosa* ao final do experimento não foram altos, mas sofreram ligeiro aumento de Cd nas plantas associadas aos FMAs, entretanto nas mesmas plantas houve redução de Zn, demonstrando sua baixa capacidade de absorver os dois contaminantes ao mesmo tempo (Tabela 2). Silva (2006) aponta a redução no teor de metais nas plantas como consequência da proteção exercida pela simbiose com os FMAs.

A espécie demonstra mais facilidade em absorver o Zn com alta taxa de transferência para as partes aéreas. Segundo Accioly (2001), o uso de amenizantes (calcário, silicato de cálcio), fertilizantes (N-P-K) e matéria orgânica podem melhorar o estabelecimento das espécies nessas condições. Dessa forma o seu uso na cobertura do solo de áreas com características semelhantes se torna favorável, visto que essa espécie possui dispersão facilitada, podendo ajudar no controle da erosão e da dispersão dos contaminantes.

Baixa concentração de Cd em folha de *Salix viminalis* foi relatada por Vollenweider et al. (2006), onde a distribuição desse elemento nesse órgão ocorreu de forma protetora para os tecidos envolvidos na fotossíntese, podendo representar uma estratégia de tolerância a presença dos elementos-traço.

Gomphrena globosa apresenta maior capacidade de bioacumulação de Cd e de translocação de Zn (Tabela 3). O fator de bioacumulação é calculado através da concentração do elemento na planta em relação ao teor encontrado no solo.

Tabela 2 Teores de Cd e Zn encontrados nas amostras de *Gomphrena globosa*, sem e com inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs)

	Cádmio (mg kg⁻¹)		Zinco (mg kg⁻¹)	
	Testemunha	Tratamento	Testemunha	Tratamento
Sem FMAs				
Raiz	< LD	69,35	25,03	1445,77
Parte aérea	< LD	25,88	39,90	3396,18
Inflorescência	< LD	0,90	1,75	30,10
	Cádmio (mg kg⁻¹)		Zinco (mg kg⁻¹)	
Com FMAs	Testemunha	Tratamento	Testemunha	Tratamento
Raiz	< LD	73,60	17,51	983,53
Parte aérea	< LD	29,15	40,53	1485,16
Inflorescência	6,04	2,08	253,66	94,42

< LD: Abaixo do limite de detecção

Limite de detecção (LDM): Cd = 1,27 e Zn = 0,67

O fator de translocação é mensurado através da concentração do elemento de estudo nas partes aéreas da planta em relação ao teor encontrado na raiz. Em *G. globosa* o fator de translocação para Zn foi considerado satisfatório (> 1), demonstrando sua alta capacidade de extrair esse elemento do solo.

Tabela 3 Valores de bioacumulação e translocação de Cd e Zn em *Gomphrena globosa*, sem e com inoculação de fungos micorrízicos arbusculares

	Bioacumulação		Translocação	
	Cádmio	Zinco	Cádmio	Zinco
Solo sem FMAs	4,32	0,99	0,39	2,37
Solo com FMAs	4,71	0,52	0,42	1,61

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos mostram que a inoculação com FMAs pode ser uma importante ferramenta biotecnológica, para melhorar a adaptação e reduzir o estresse do transplante, beneficiando o desenvolvimento das plantas, entretanto essa associação não se mostrou benéfica para *Gomphrena globosa* em alguns aspectos.

A inoculação favoreceu a absorção de nutrientes, promovendo aumento de biomassa na espécie e também na absorção de Cd pela planta. Esses fatores são considerados importantes do ponto de vista da fitorremediação.

Porém, em consequência do aumento de Cd a planta sofreu sérias alterações morfoanatômicas que comprometem seu desenvolvimento. É possível que a presença de FMAs acelere a entrada desse elemento tóxico de tal modo que a planta não consiga desenvolver estratégias de isolamento do contaminante.

Estudos demonstram que, embora os FMAs ocorram de forma generalizada na natureza, a sua distribuição no solo não é uniforme, de forma que o uso de *G. globosa* em solos com objetivo de fitorremediar a contaminação por Cd pode ser feito, porém sem a inoculação voluntária de FMAs, deixando que isso ocorra naturalmente, se for o caso. Dessa forma, o tempo de sobrevivência da espécie nessas condições pode ser aumentado, favorecendo sua dispersão e, conseqüentemente, promovendo maior cobertura da área.

Os resultados mostram que a espécie *G. globosa* possui alta capacidade em absorver e translocar o Zn para as partes aéreas, especialmente na ausência de FMAs, podendo ser utilizada na remoção desse elemento para fins de reciclagem ou mesmo fitorremediação.

5 CONCLUSÃO

Gomphrena globosa apresenta respostas morfoanatômica aos contaminantes, demonstrando plasticidade morfológica como meio de resistência aos altos níveis de Cd e Zn no solo.

A espécie possui mecanismos especializados na translocação de Zn, podendo ser empregada em programas de recuperação ambiental com altos níveis desse elemento.

A resistência de *G. globosa* é reduzida na presença de fungos micorrízicos arbusculares, porém as variações anatômicas encontradas na espécie sem a inoculação de FMAs não afetaram seu estabelecimento no solo com altos níveis de Cd e Zn, permitindo classificá-la como espécie tolerante.

REFERÊNCIA

- ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; SCHAEFER, C.E., ed. **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000, v.1, p.299-352.
- ACCIOLY, A.M.A. **Amenizantes e estratégias para o estabelecimento de vegetação em solos de áreas contaminadas por metais pesados**. 170p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.
- ALVES, E.S.; ANGYALOSSY-ALFONSO. Ecological trends in the wood of some Brazilian species 1: growth rings and vessels. **Iawa Journal**, v. 21, p. 3-30. 2000.
- BAKER, A. J. M.; McGRATH, S. P.; SODOLI, C. M. D.; REEVES, R. D. The possibility of *in situ* heavy metal decontamination of polluted soils using crops of metal accumulating plants. **Resources, Conservation and Recycling**, Amsterdam, v. 11, p. 41-49, 1994.
- BARCELÓ, J.; VÁSQUEZ, M.D.; POSHENRIEDER, C.H. Plant water relations as affected by heavy metal stress. A review. **Journal of Plant Nutrition** **13**: 1-37. 1990.
- BARYLA, A.; CARRIER, P.; FRANCK, F.; COULOMB, C.; SAHUT, C.; HAVAUX, M. Leaf closes in oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium-polluted soil: causes and consequences for photosynthesis and growth. **Planta**, 212, p. 696-709. 2001.
- CASTRO, E. M.; PINTO, J. E. B. P.; SOARES, A. M.; MELO, H. C.; BERTALUCCI, S. K. V.; VIEIRA, C. V.; JÚNIOR, E. C. L. Adaptações anatômicas de folhas de *Mikania glomerata* Sprengel (Asteraceae), em três regiões distintas da planta, em diferentes níveis de sombreamento. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 9, n. 2, p. 8-16, 2007.
- CAVALCANTE, U.M.T.; MAIA, L.C.; MELO, A.M.M.; SANTOS, V.F. Influência da densidade de fungos micorrízicos arbusculares na produção de mudas de maracujazeiro-amarelo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n.5, p.643-649, 2002.

CHARDONNENS, A.N.; TEN BOOKUM, W.M.; KUIJPER, D.J.; VERKLEIJ, J.A.C.; ERNST, W.H.O. Distribution of cadmium in leaves of cadmium tolerant and sensitive ecotypes of *Silene vulgaris*. **Physiologia Plantarum**, v.104, p.75-80. 1998.

CHAVES FILHO, J. T.; STACCIARINI-SERAPHIN, E. Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos solúveis em plantas jovens de lobeira (*Solanum lycocarpum* St.-Hil.) em resposta ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Botânica**, v.24, n.2, p.199-204, 2001.

CHU, E.Y. Sistema de produção da pimenteira-do-reino. **Embrapa Amazônia Oriental: Sistemas de Produção**, v. 1, Versão Eletrônica (ISSN 1809-4325), dez 2005.

COSTA, C.M.C.; MAIA, L.C.; CAVALCANTE, U.M.T.; NOGUEIRA, R.J.M.C.. Influência de fungos micorrízicos arbusculares sobre o crescimento de dois genótipos de aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 2001, v. 36, p. 893-901.

DANTAS, A.A.A.; CARVALHO, L.G.; FERREIRA, E. Classificação e tendências climáticas em Lavras. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 6, p. 1862-1866, nov./dez. 2007.

JENSEN, W. A. **Botanical histochemistry: principle and practice**. San Francisco: W. H. Freeman, 1962. 408p.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 523 p.

LOPEZ, M.V. **Microbiota edáfica como indicadora da reabilitação de áreas contaminadas por elementos-traço**. 60. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

LORENZI, H.. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas**. 4ª Ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008, 640p.

MARUTHI SRIGHAR, B.B.; DIEHL, S.V.; HANC, F.X.; MONTS, D.L.; SUB, Y. Anatomical changes due to uptake and accumulation of Zn and Cd in Indian mustard (*Brassica juncea*). **Environmental and Experimental Botany**, v. 54, p. 131-141. 2005.

MELO, H.C.; CASTRO, E.M.; SOARES, A.M.; MELO, L.A.; ALVES, J.D. Alterações anatômicas e fisiológicas em *Setaria anceps* Stapf ex Massey e *Paspalum paniculatum* L. sob condições de déficit hídrico. **Hoehnea**, v. 34, n. 2, p. 145-153. 2007.

MENEZES, N. L.; SILVA, D. C.; PINNA, G. F. M. Folha. In: APPEZZATO-DA GLÓRIA, B.; CARMELO-GUERREIRO, S.M. (editoras). **Anatomia vegetal**. Viçosa: Ed. UFV, 2003. 438p.

NASCIMENTO, C.W.A; AMARASIRIWARDENA, D.; XING, B. Comparison of natural organic acids and synthetic chelates at enhancing phytoextraction of metals from a multi-metal contaminated soil. **Environmental Pollution**, v.140, p.114-123, 2006.

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

SANDALIO, L.M.; DALURZO, H.C.; GÓMES, M.; ROMERO-PUERTAS, M. C. DEL RIO, L. A. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. **Journal of Experimental Botany**, v.52, n.364, p.2115-2126, 2001.

SILVA, S. **Fungos micorrízicos arbusculares no crescimento, extração de metais pesados e características anatômica de *Brachiaria decumbens* Stapf em solos contaminados com metais pesados**. 82p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

SMITH, S.E.; GIANINAZZI-PEARSON, V. Physiological interactions between symbionts in vesicular-arbuscular micorrhizal plants. **Annual Review of Physiology and Plant Molecular Biology**, 1988, v. 39, p. 221-244.

SOUZA, L.A.; ROSA, S.M.; MOSCHETA, I.S.; MOURÃO, K.S.M.; RODELLA, R.A.; ROCHA, D.C.; LOLIS, M.I.G.A. **Morfologia e anatomia vegetal: Técnicas e Práticas**. Ponta Grossa: UEPG, 2005, 194p.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APGII**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2005, 640p.

SRIDHAR, B.B. M.; DIEHL, S.V.; HANC, F.X.; MONTS, D.L.; SU, Y. Anatomical changes due to uptake and accumulation of Zn and Cd in Indian mustard (*Brassica juncea*). **Environmental and Experimental Botany**, New York, v. 54, n. 2, p. 131-141 Sept. 2005.

STOBART, A.K.; GRIFFITHS, W.T.; AMEEN-BUKHARI, I., SHERWOOD, R. The effect of Cd²⁺ on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley. **Physiologia Plantarum**, v.63, p.293-298, 1985.

UNITED ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – USEPA. **Test methods for evaluating soil waste, physical/chemical methods SW-846**. 3 ed. Washington, 1995. Disponível em: <http://www.epa.gov/SW-846/3051a.pdf>. Acesso em:10 out 2009.

VANGRONVELD, J.; COLPAERT, J.V.; TICHELEN, K.K. van. Reclamation of a bare industrial area contaminated by non-ferrous metals: physicochemical and biological evaluation of the durability of soil treatment and revegetation. **Environmental Pollution**, Oxford, v. 94, p. 131-140, 1997.

VOLLENWEIDER, P.; COSIO, C.; GÜNTHARDT-GOERG, M.; KELLER, C. Localization and effects of cadmium in leaves of a cadmium-tolerant willow (*Salix viminalis* L.) Part II microlocalization and cellular effects of cadmium. **Environmental and Experimental Botany**, v. 58, p. 25-40. 2006.

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