

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE ENGENHARIA
CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

CAROLINE DE LIMA FRACHIA

**TOLERÂNCIA E POTENCIAL FITORREMEIADOR DE *Inga uruguensis* E
Inga fagifolia EM SOLO CONTAMINADO POR CHUMBO**

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

CAROLINE DE LIMA FRACHIA

**TOLERÂNCIA E POTENCIAL FITORREMEIADOR DE *Inga uruguensis* E
Inga fagifolia EM SOLO CONTAMINADO POR CHUMBO**

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Especialidade: Sistemas de Produção

Profa. Dra. Liliane Santos de Camargos
Orientadora

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

F798t Frachia, Caroline de Lima.
Tolerância e potencial fitorremediador de *Inga uruguensis* e *Inga fagifolia*
em solo contaminado por chumbo / Caroline de Lima Frachia. -- Ilha Solteira:
[s.n.], 2022
56 f.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de
Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Sistemas de Produção,
2022

Orientador: Liliane Santos de Camargos
Inclui bibliografia

1. Áreas contaminadas. 2. Fitoestabilização. 3. Leguminosas arbóreas. 4.
Metal pesado.


Raiane da Silva Santos

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: TOLERÂNCIA E POTENCIAL FITORREMEIADOR DE *Inga fagifolia* E *Inga uruguensis* EM SOLO CONTAMINADO POR CHUMBO

AUTORA: CAROLINE DE LIMA FRACHIA

ORIENTADORA: LILIANE SANTOS DE CAMARGOS

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA, área:

Sistemas de Produção pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. LILIANE SANTOS DE CAMARGOS (Participação Virtual)
Departamento de Biologia e Zootecnia / UNESP/ Câmpus de Ilha Solteira

Profa. Dra. ALINE REDONDO MARTINS (Participação Virtual)
Departamento de Biologia e Zootecnia / UNESP - Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - SP

Prof. Dr. FABRÍCIO DE SOUZA DELITE (Participação Virtual)
Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano) / Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM)

Ilha Solteira, 26 de abril de 2022

DEDICO

À memória dos meus amados avós, Sylvio e Maria Eliza, que sempre valorizaram meus estudos, me incentivaram a correr atrás dos meus sonhos e se orgulhavam de todas as minhas conquistas.

AGRADECIMENTOS

À FEIS-UNESP por contribuir para o meu desenvolvimento pessoal e ser responsável pela minha formação profissional. Me graduar e fazer o mestrado nessa instituição foi um grande sonho realizado e motivo de muito orgulho.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil), por ter financiado minha pesquisa (Financiamento 001).

Aos meus pais, José Ângelo e Débora, e à minha irmã Mariana, por sempre acreditarem em mim, me apoiarem e me darem subsídios para eu correr atrás dos meus sonhos e alcançar meus objetivos.

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Liliane, por me orientar desde a graduação de forma tão empática, humana e solícita. Grata por todo o aprendizado, paciência e compreensão.

Aos meus colegas do LFMV e do LEMAV, em especial à Nayane e ao Jailson, por toda a ajuda e colaboração em meu trabalho.

Aos meus amigos Mariana e Victor, por serem meus fiéis companheiros ao longo de todos esses anos, compartilharem bons e maus momentos, e tornarem a trajetória mais leve.

A Deus e à Nossa Senhor por abrirem meus caminhos e guiarem os meus passos.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para o meu crescimento pessoal, profissional e para a realização desse trabalho.

Muito obrigada!

“As nuvens mudam sempre de posição, mas são sempre nuvens no céu. Assim devemos ser todo dia, mutantes, porém leais com o que pensamos e sonhamos; lembre-se, tudo se desmancha no ar, menos os pensamentos”.

(Paulo Baleki)

RESUMO

O chumbo é um metal pesado não essencial, caracterizado como o principal contaminante do solo e considerado o segundo elemento mais ameaçador, ficando somente atrás do arsênio. Ainda assim, sua utilização é abrangente e envolve diversas atividades. Sua alta toxicidade pode inviabilizar a utilização de áreas onde estão presentes, gerando inúmeros prejuízos. Quando em contato com o organismo vegetal tende a provocar redução de crescimento e de biomassa, inibir a síntese de pigmentos fotossintetizantes, prejudicar a fotossíntese e provocar outras inúmeras disfunções bioquímicas e fisiológicas. A busca por técnicas que auxiliem na remoção de chumbo no solo se mostra urgente e necessária. A fitorremediação é uma alternativa que vem se mostrando eficiente, sustentável e economicamente viável. Leguminosas arbóreas possuem rápido crescimento e alta produção de biomassa, apresentando características favoráveis para serem utilizadas como fitorremediadoras, mas ainda assim, há uma restrição de estudos nessa área. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial fitorremediador de *Inga fagifolia* e *Inga uruguensis*, duas leguminosas arbóreas nativas, em solo contaminado com o chumbo e os possíveis efeitos desse metal nos parâmetros fotossintéticos de ambas as espécies. O solo, do tipo latossolo vermelho distrófico, foi contaminado artificialmente com acetato de chumbo $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$, formando os tratamentos 100, 200, 300, 400 e 500 $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$, além do controle. Mudanças de *I. uruguensis* e *I. fagifolia* foram transplantadas em vasos com capacidade de 2 litros, nos respectivos tratamentos, permanecendo por 8 meses. Os resultados mostraram que o chumbo não afetou a síntese de clorofila, exceto a clorofila *a* de mudas de *Inga uruguensis* expostas ao tratamento de 500 $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$. Os carotenoides mostraram um incremento progressivo em mudas de *Inga fagifolia*, conforme as doses de metal aumentaram, podendo indicar uma resposta frente ao estresse oxidativo provocado. Apesar da sua alta toxicidade o chumbo não afetou o crescimento da parte aérea das mudas. Ambas as espécies absorveram o referido metal, alocando-o majoritariamente em suas raízes, apresentando perfil de fitoestabilizadoras. Pode-se concluir que *Inga uruguensis* e *Inga fagifolia* apresentaram tolerância inicial ao chumbo, sendo *I. uruguensis* a espécie mais efetiva para sua remoção e a mais afetada em níveis fotossintéticos. O presente estudo apresenta uma perspectiva inicial do comportamento das duas leguminosas quando expostas ao chumbo, abrindo caminhos para que novas pesquisas que reforcem o potencial fitorremediador dessas espécies sejam realizadas.

Palavras-chave: áreas contaminadas; fitoestabilização; leguminosas arbóreas; metal pesado.

ABSTRACT

Lead is a non-essential heavy metal, characterized as the main soil contaminant and considered the second most threatening element, after arsenic. Even so, its use is comprehensive and involves several activities. Their high toxicity can make it impossible to use areas where they are present, causing numerous damages. When in contact with the plant organism, it tends to cause a reduction in growth and biomass, inhibit the synthesis of photosynthetic pigments, impair photosynthesis and cause countless other biochemical and physiological dysfunctions. The search for techniques that assist in the removal of lead in the soil is urgent and necessary. Phytoremediation is an alternative that has proven to be efficient, sustainable, and economically viable. Tree legumes have fast growth and high biomass production, presenting favorable characteristics to be used as phytoremediators, but even so, there is a restriction of studies in this area. Thus, the objective of this work was to evaluate the phytoremediation potential of *Inga fagifolia* and *Inga uruguensis*, two native leguminous trees, in soil contaminated with lead and the possible effects of this metal on the photosynthetic parameters of both species. The soil, of the dystrophic red latosol type, was artificially contaminated with lead acetate $(\text{CH}_3\text{COO})_2 \text{Pb}$, forming treatments 100, 200, 300, 400, and 500 $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$, in addition to the control. Seedlings of *I. uruguensis* and *I. fagifolia* were transplanted into pots with a capacity of 2 liters, in the respective treatments, remaining for 8 months. The results showed that lead did not affect chlorophyll synthesis, except for chlorophyll *a* from *Inga uruguensis* seedlings exposed to the treatment of 500 $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$. Carotenoids showed a progressive increase in *Inga fagifolia* seedlings, as the metal doses increased, which may indicate a response to the oxidative stress caused. Despite its high toxicity, the lead did not affect the shoot growth of the seedlings. Both species absorbed the aforementioned metal, allocating it mostly in their roots, presenting a profile of phytostabilizers. It can be concluded that *Inga uruguensis* and *Inga fagifolia* showed initial tolerance to lead, with *I. uruguensis* being the most effective species for its removal and the most affected in photosynthetic levels. The present study presents an initial perspective of the behavior of the two legumes when exposed to lead, opening the way for further research to be carried out to reinforce the phytoremediation potential of these species.

Keywords: contaminated areas; heavy metal; leguminous trees; phytostabilization.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	9
	REFERÊNCIAS	11
2	CAPÍTULO I: POTENCIAL DE REMOÇÃO DE PB POR <i>Inga uruguensis</i> E <i>Inga fagifolia</i> EM SOLO CONTAMINADO	15
2.1	Introdução	15
2.1	Material e métodos	17
2.1.1	<i>Solo para o experimento</i>	17
2.1.2	<i>Contaminação do solo e instalação do experimento</i>	17
2.1.3	<i>Parâmetros de crescimento</i>	18
2.1.4	<i>Quantificação de chumbo nos tecidos</i>	19
2.1.5	<i>Determinação de teor do metal e potencial fitorremediador</i>	19
2.1.6	<i>Análise estatística</i>	19
2.2	Resultados	20
2.3	Discussão	25
2.4	Conclusão	28
	REFERÊNCIAS	28
3	CAPÍTULO II: TROCAS GASOSAS E PIGMENTOS FOTOSSINTETIZANTES DE <i>Inga uruguensis</i> E <i>Inga fagifolia</i> CULTIVADAS EM SOLO CONTAMINADO POR Pb	32
3.1	Introdução	32
3.2	Material e métodos	33
3.2.1	<i>Solo para o experimento</i>	33
3.2.2	<i>Contaminação do solo e instalação do experimento</i>	34
3.2.3	<i>Avaliação das trocas gasosas</i>	35
3.2.4	<i>Determinação do teor de clorofilas e carotenoides</i>	35
3.2.5	<i>Determinação do teor total de compostos fenólicos</i>	36
3.2.6	<i>Análise estatística</i>	36
3.3	Resultados	36
3.4	Discussão	45
3.5	Conclusão	47
	REFERÊNCIAS	48
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS	52

1 INTRODUÇÃO GERAL

Os metais pesados (MP's) são elementos que ocorrem naturalmente no solo, porém atividades antropogênicas vêm aumentando significativamente suas concentrações. Alguns metais, têm papel relevante na nutrição de plantas, enquanto outros exercem efeitos deletérios sobre vários componentes da biosfera (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2001). Os MP's, tais como cobre (Cu), zinco (Zn), manganês (Mn), níquel (Ni) e ferro (Fe), podem ser considerados elementos essenciais, tendo importantes papéis regulatórios em vários processos biológicos, como cofatores de numerosas enzimas, na transferência de elétrons e proteínas e na manutenção da estrutura tridimensional de biomoléculas do metabolismo celular, porém, quando ultrapassam o limiar necessário, podem tornar-se tóxicos (VALLS; LORENZO, 2002; FAGERIA *et al.*, 2009; CHAFFAI; KOYAMA, 2011). Já os metais pesados não essenciais, como, cádmio (Cd), mercúrio (Hg) e chumbo (Pb) não possuem funções biológicas conhecidas e podem causar graves danos ao metabolismo dos seres vivos (VALLS; LORENZO, 2002; SARWAR *et al.*, 2017).

Segundo dados divulgados pela CETESB (2020), em 2020 haviam cadastradas no Estado de São Paulo 635 áreas contaminadas sob investigação, 780 áreas contaminadas com risco confirmado, 1.429 áreas em processo de remediação, 285 áreas contaminadas em processo de reutilização, 1369 áreas em processo de monitoramento para encerramento e 1902 áreas reabilitadas para uso declarado. Os MP's foram um dos principais grupos de contaminantes encontrados, aparecendo em 1.273 áreas cadastradas, ficando atrás somente dos PAHs (hidrocarbonetos policíclicos aromáticos), dos solventes aromáticos e dos combustíveis automotivos (CETESB, 2020). Entre as atividades potencialmente geradoras de área contaminada, destacaram-se os postos de combustível (70% do total), seguidos das atividades industriais (20%), das atividades comerciais (6%), das instalações para destinação de resíduos (3%) e dos casos de acidentes, agricultura e fonte de contaminação de origem desconhecida (1%) (CETESB, 2020).

Dentre os metais comumente encontrados em casos de contaminação de solo, está presente o Pb, um dos elementos tóxicos mais antigos e considerado o metal com maior interação humana já conhecida (SILVA *et al.*, 2019; SOUZA, 2012; GRIOGOLETTO, 2011). Ainda assim, esse metal possui uma vasta utilização, tendo as atividades de

mineração como uma das mais significativas fontes antropogênicas de contaminação (LO *et al.*, 2012). Outros fatores que também contribuem para aumentar os níveis de Pb no ambiente são as emissões gases por veículos, fundição, desmantelamento de resíduos elétricos, tintas, indústrias de vidro, práticas agrícolas, descarte inadequado de resíduos, produção de cerâmicas, soldagem e petrolífera, além de instalações de água feitas com Pb ou com solda de Pb (ZWOLAK *et al.*, 2019; LI *et al.*, 2019).

O Pb é um contaminante especialmente preocupante por migrar na cadeia trófica podendo causar diversos problemas no metabolismo humano e vegetal. De acordo com Li *et al.* (2019), no ano de 2016, o Pb foi considerado responsável pela morte de 540.000 pessoas em todo o mundo. As principais vias de exposição humana se dão pela inalação/ingestão de poeira contaminada (MOGHTADERI *et al.*, 2019) e pela ingestão de alimentos, incluindo cereais e vegetais (NAG; CUMMINS, 2022). Esse metal pode influenciar negativamente o sistema neurológico, os rins e a circulação sanguínea, em especial de crianças, bebês e fetos, podendo causar danos irreversíveis (GUO *et al.*, 2018). Quando em contato com o tecido vegetal, o Pb pode inibir a fotossíntese (RIBEIRO *et al.*, 2015), além de afetar outros processos fisiológicos como a respiração e nutrição mineral, diminuir o crescimento da raiz e da parte aérea, o índice de tolerância e a produção de biomassa vegetal (NAS; ALI, 2018).

Tendo em vista a grande incidência de contaminação de áreas por metais pesados, a busca por uma tecnologia eficiente para evitar a inviabilidade desses locais, se torna necessária. A fitorremediação é uma técnica que provém da biorremediação, e é baseada na utilização de plantas visando a correção do solo e da água (VASCONCELLOS *et al.*, 2012), sendo capaz de extrair ou conter contaminantes, incluindo metais tóxicos, petróleo e pesticidas (SOUZA *et al.*, 2018). Além de apresentar resultados positivos, a fitorremediação também se mostra uma técnica com reduzido custo e impacto ambiental, além de fácil manuseio (VASCONCELLOS *et al.*, 2012; UEBEL *et al.*, 2017), podendo auxiliar na maior estruturação do solo, aumentar a fertilidade das áreas degradadas e protegê-las contra erosão eólica e hídrica (SILVA *et al.*, 2019).

Espécies arbóreas, apresentam um rápido crescimento vegetal e elevada produção de biomassa, além de possuírem a capacidade de reduzir a lixiviação, adicionar matéria orgânica ao solo, controlar a erosão e apresentarem baixa translocação de metais para a parte aérea, mostrando um grande potencial para serem usadas em processos de fitorremediação (PULFORD; WATSON, 2003). Ainda assim, a relação de espécies

arbóreas nativas tropicais que reconhecidamente sejam efetivas para essa finalidade, é restrita (CAIRES *et al.*, 2011).

O interesse pelo uso de árvores na fitorremediação, teve um aumento nos últimos anos devido à ampla diversidade genética e à alta produção de biomassa de algumas espécies (DICKINSON; PULFORD, 2005; UNTERBRUNNER *et al.*, 2007). Somado a isso, a utilização de lenhosas é uma prática de baixo custo de implantação, que promove a estabilização do solo, limita a propagação do contaminante, além de auxiliar a ciclagem nutricional, agregação do solo e capacidade de retenção de água, ao adicionarem quantidades consideráveis de matérias orgânica, através da senescência foliar (ALMEIDA *et al.*, 2007).

A família Fabaceae é caracterizada como a terceira maior família de plantas do planeta e a maior família botânica brasileira, possuindo 19.325 espécies, distribuídas em 727 gêneros, dos quais 222 estão presentes no Brasil (LEWIS *et al.*, 2005; BFG, 2015). *Inga* spp, é um dos gêneros presentes em território brasileiro, apresentando grande diversidade genética (PENNINGTON, 1997), potencial econômico para reflorestamento (FERNANDES *et al.*, 2016) e capacidade de facilitar a regeneração de florestas devido a associações micorrízicas (IGLESIAS *et al.*, 2011). *Inga uruguensis* e *Inga fagifolia* são duas espécies pertencentes ao gênero *Inga* ssp., que em estudos anteriores apresentaram características favoráveis à fitorremediação (FRACHIA *et al.*, *in press*). Por conseguinte, a caracterização destas espécies quanto ao seu potencial fitorremediador é de grande importância, pois seus resultados podem impulsionar e gerar um importante avanço no uso de leguminosas arbóreas em solos contaminados.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. F.; VALLE, R.R.; MIELKE, M.S.; GOMES, F.F. Tolerance and prospection of phytoremediator woody species of Cd, Pb, Cu and Cr. **Braz. J. Plant Physiol.**, Campinas, v. 19, n. 2, p. 83-98, 2007.
- BFG - The Brazil Flora Group. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 66, p. 1085-1113, 2015.
- CAIRES, S. M. de; FONTES, M. P. F.; FERNANDES, R. B. A.; NEVES, J. C. L.; FONTES, R.L.F. Desenvolvimento de mudas de cedro-rosa em solo contaminado com cobre: tolerância e potencial para fins de fitoestabilização do solo. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 35, n. 6, p. 1181–1188, 2011. DOI:10.1590/s0100-67622011000700004.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO - CETESB. **Relação de áreas contaminadas**. São Paulo: CETESB, 2020. Disponível em: <chrome-extension://efaidnbnmnnibpcajpcglcfindmkaj/viewer.html?pdfurl=https%3A%2F%2Fcetesb.sp.gov.br%2Fareas-contaminadas%2Fwp-content%2Fuploads%2Fsites%2F17%2F2021%2F03%2FTEXT0-EXPLICATIVO-2020.pdf&clen=754278&chunk=true>>. Acesso em: 31 mar. 2022.

CHAFFAI, R.; KOYAMA, H. Heavy metal tolerance in *Arabidopsis thaliana*. **Adv. Bot. Res.**, San Diego, v. 60, n. 1, p. 49, 2011.

DICKINSON, N. M.; PULFORD, I. D. Cadmium phytoextraction using short-rotation coppice *Salix*: the evidence trail. **Environ. Int.**, Oxford, v. 31, p. 609-613, 2005.

FAGERIA, N.K.; FILHO, M.P.B.; MOREIRA, A.; GUIMARAES, C.M. Foliar fertilization of crop plants. **J. Plant Nut.**, New York, v. 32, p. 1044-1064, 2009.

FERNANDES, J. M.; DONDONI DA COSTA, R.; ARAÚJO, C. R.; LOPES, S. Taxonomia de *Inga macrophylla* Humb. & Bonpl. ex Willd. (Leguminosae, Mimosoideae): Uma Nova Ocorrência Para Mato Grosso, Brasil. **Enciclopédia Biosfera**, Petersburg, v. 13, n. 24, p. 1329-1335, 2016.

GUO, G.; LEI, M.; WANG, Y.; SONG, B.; YANG, J. Accumulation of as, cd, and pb in sixteen wheat cultivars grown in contaminated soils and associated health risk assessment. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, Basel, v. 15, p. 1-17, 2018. DOI: 10.3390/ijerph15112601, 2018.

GRIGOLETTO, T.L.B. **Chumbo na água de consumo de Ribeirão Preto (SP): fatores químicos, físicos e possíveis correlações com a contaminação de crianças**. 2011. 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011.

IGLESIAS, L.; SALAS, E.; LEBLANC, H. A.; NYGREN, P. Response of *Theobroma cacao* and *Inga edulis* seedlings to cross-inoculated populations of arbuscular mycorrhizal fungi. **Agroforestry Systems**, Dordrecht, v. 83, n. 1, p. 63-73, 2011.

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

LAMEGO, F.P.; VIDAL, A.R. Fitorremediação: plantas como agentes de despoluição? Pesticidas: **R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 17, p.9-18. doi:10.5380/pes.v17i0.10662, 2007.

LEWIS, G. P.; SCHRIRE, B.; MACKINDER, B.; LOCK, M. Legumes of the world. **Royal Botanic Gardens, Kew**. p. 592. 2005.

LI, X.; ZHANG, B.; LI, N.; JI, X.; LIU, K.; JIN, M. Zebrafish neurobehavioral phenomics applied as the behavioral warning methods for fingerprinting endocrine disrupting effect by lead exposure at environmentally relevant level. **Chemosphere**, Oxford, v. 231, p. 315-325, 2019. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2019.05.146.

LO, Y.C.; DOOYEMA, C.A.; NERI, A.; DURANT, J.; JEFFERIES, T.; MEDINA-MARINO, A.; DE REVELLO, L.; THOROUGHMAN, D.; DAVIS, L.; DANKOLI, R.S.; SAMSON, M.Y.; IBRAHIM, L.M.; OKECHUKWU, O.; UMAR-TSAFE, N.T.; DAMA, A.H.; BROWN, M.J. Childhood lead poisoning associated with gold ore processing: a village-level investigation-Zamfara state, Nigeria, october-november. **Environ. Health Perspect.**, Research Triangle Park, v. 120, p. 1450-1455, 2012. DOI: 10.1289/ehp.1104793.

MOGHTADERI, T.; AMINIYAN, M.M.; ALAMDAR, R.; MOGHTADERI, M. Index-based evaluation of pollution characteristics and health risk of potentially toxic metals in schools dust of Shiraz megacity, SW. **Iran Hum. Ecol. Risk Assess.**, [s. l.], v. 25, p. 410-437, 2019. DOI: 10.1080/10807039.2019.1568857.

NAG, R.; CUMMINS, E. Human health risk assessment of lead (Pb) through the environmental-food pathway. **Science of The Total Environment**, Amsterdam, v. 810, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151168>.

NAS, F. S.; ALI, M. The effect of lead on plants in terms of growing and biochemical parameters: a review. **MOJ Eco Environ Sci**, Edmond, v. 3, n. 4, p. 265-268, 2018. DOI: 10.15406/mojes.2018.03.00098.

PENNINGTON, T. **The Genus Inga**. Richmond: Royal Botanic Gardens Kew, 1997.

PULFORD, I. D.; WATSON, C. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees a review. **Environment International**, Oxford, v. 29, n. 04, p. 529-540, 2003.

RIBEIRO, E. S.; PEREIRA, M. P.; CASTRO, E. M.; BARONI, G. D. R.; CORRÊA, F. F.; PEREIRA, F. J. Relações da anatomia radicular na absorção, no acúmulo e na tolerância ao chumbo em *Echinodorus grandiflorus*. **Rev. Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 19, n. 6, p. 605-612, 2015.

SARWAR, N.; IMRAN, M.; SHAHEEN, M. R.; ISHAQUE, W.; KAMRAN, M. A.; MATLOOB, A.; REHIM, A.; HUSSIAIN, S. Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: Modifications and future perspectives. **Chemosphere**, Oxford, v. 171, p. 710-721, 2017.

Silva, T. J.; HANSTED, F.; TONELLO, P. S.; GOVEIA, D. Fitorremediação de solos contaminados com metais: Panorama atual e perspectivas de uso de espécies florestais. **Rev. Virtual Quim.**, Niteroi, v. 11, n. 1, p. 18-34, 2019.

SOUZA, N. R. **Um estudo da formação de disponibilidade de piromorfita ($Pb_5(PO_4)_3OH$) em solos contaminados com Pb e remediados com $NH_4H_2PO_4$** . 2012. 93 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Materiais). Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2012.

SOUZA, L.A.; CAMARGOS, L.S.; CARVALHO, M. E. A. Toxic metal phytoremediation using high biomass non-hyperaccumulator crops: New possibilities for bioenergy resources. **Phytoremediation: Methods, Manag and Assess.** [S. l.: s. n.], 2018. Cap. 1,

UEBEL, A.; MULLER, M. P.; NIELAND, M. L.; DALLAZEN, M. C.; KUHN, D.; MAFIOLETI, J. P.; RIBEIRO, R.; VETTORELLO, G.; HOEHNE, L. Processo de

remediação do solo contaminado por chumbo. **Revista Caderno Pedagógico**, [s. l.], v.14, n.1, p. 63-71, 2017.

UNTERBRUNNER, R.; PUSCHENREITER, M.; SOMMER, P.; WIESHAMMER, G.; TLUSTO, P.; ZUPAN, M.; WENZEL, W.W. Heavy metal accumulation in trees growing on contaminated sites in Central Europe. **Environ. Poll.**, Oxford, v. 148, p. 107-114, 2007.

VALLS, M.; LORENZO, V. Exploiting the genetic and biochemical capacities of bacteria for remediation of heavy metal pollution. **FEMS Microbiology Reviews**, Oxford, v. 26, p. 327-338, 2002.

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

ZWOLAK, A.; SARZYŃSKA, M.; SZPYRKA, E.; STAWARCZYK, K. Sources of soil pollution by heavy metals and their accumulation in vegetables: a review.

Water Air Soil Pollut., 230, 10.1007/s11270-019-4221-y, 2019.

2 CAPÍTULO I: POTENCIAL DE REMOÇÃO DE PB POR *Inga uruguensis* E *Inga fagifolia* EM SOLO CONTAMINADO

2.1 Introdução

O chumbo (Pb) é um elemento metálico, altamente maleável, não corrosivo (SILVA, 2014), caracterizado como o principal contaminante do solo (GRATÃO *et al.*, 2005) e considerado na lista da Agência de Proteção Ambiental dos EUA como o segundo elemento mais ameaçador, ficando somente atrás do Arsênio (ATSDR, 2017). A problemática envolvendo-o decorre de que sua utilização abrange diversas áreas. Está presente na produção de ligas (bronze, latão), fabricação e recuperação de baterias, esmaltação de cerâmicas, fabricação de pigmentos, borrachas, vidros, cabos elétricos, soldas de peças, chapas elétricas, PVC e outros plásticos (GRIGOLETTO, 2011), usado em projéteis de armas de fogo, aditivo em combustíveis, fertilizantes e pesticidas fundido (SILVA, 2014).

Na maior parte das vezes, o Pb é retido fortemente no solo como fase ligada à matéria orgânica, minerais de argila e óxidos-hidróxidos de ferro (MARTINS e FIGUEIREDO, 2014), acreditando-se que em condições naturais apenas pequenas quantidades de chumbo estejam disponíveis para absorção pelas plantas (KOPITTKE *et al.*, 2008; PUNAMIYA *et al.*, 2010). Em locais com alta concentração do metal, a capacidade de troca catiônica e de adsorção do meio é excedida, e então, o Pb pode ser transportado para a água durante o processo de erosão e lixiviação do solo (MARTINS; FIGUEIREDO, 2014).

A contaminação do solo por Pb é um processo cumulativo praticamente irreversível (DUARTE; PASQUAL, 2000). Esse metal não é essencial a vida de nenhum ser vivo, possui a capacidade de se acumular facilmente nos diferentes tecidos biológicos, além de se destacar pelo seu alto potencial de toxicidade, podendo ser letal para organismos vivos (KUMAR; OOMMEN, 2012).

Quando em contato com as plantas, o Pb pode afetar negativamente o crescimento e o desenvolvimento vegetal (SOUZA *et al.*, 2011), inibir a fotossíntese e a germinação de sementes, provocar necrose foliar e senescência, causar danos ao material genético e mudanças do funcionamento enzimático (RIBEIRO *et al.*, 2015).

Desta forma, a busca por métodos de descontaminação é urgente e relevante, colocando a fitorremediação como uma técnica sustentável e economicamente viável, pois não interfere no ecossistema, requer pouca mão-de-obra e tem baixo custo financeiro (CRISTALDI *et al.*, 2017). Essa técnica utiliza plantas na recuperação de solos contaminados por metais pesados, que podem sequestrá-los ou imobilizá-los, gerando pouco ou nenhum impacto ambiental (VASCONCELLOS *et al.*, 2012). Trata-se, portanto, de uma ótima alternativa para a recuperação de solos contaminados com metais pesados (MP's), podendo ser classificada em 5 diferentes tipos, são eles: (1) fitoestabilização, onde o contaminante é complexado nos tecidos radiculares, sendo impossibilitado de se mover no solo, (2) fitoestimulação, o contaminante é degradado por microrganismos que se desenvolvem especificamente na região da rizosfera devido às condições particulares existentes, (3) fitodegradação – processo semelhante à fitoestimulação, mas que ocorre em partes aéreas, (4) fitoextração, o contaminante é absorvido e a maior parte é transportada para partes aéreas e (5) fitovolatilização, na qual o contaminante absorvido tem seu estado físico alterado para uma forma gasosa e assim é volatilizado (PILON-SMITS, 2005).

Crescimento rápido, elevada produção de biomassa, competitividade, vigor e tolerância à poluição, são 5 características favoráveis que indicam quais plantas podem ser usadas para fitorremediação (LAMEGO; VIDAL, 2007). Outra forma de se avaliar o potencial fitorremediador da espécie vegetal é através do fator de transferência (FT), definido como a razão entre a concentração total do contaminante na planta e a concentração total do contaminante no solo (LUBBEN; SAUERBECK, 1991).

As leguminosas arbóreas de crescimento rápido e sistema radicular bem ramificado e profundo apresentam grande potencial para serem utilizadas como fitorremediadoras. Como mostrado por Souza *et al.* (2018), plantas com alto potencial de produção de biomassa podem atuar efetivamente como extratores de metais tóxicos, no entanto, tais estudos são recentes e ainda há muita informação a ser obtida sobre esse assunto.

No processo de fitorremediação a utilização de plantas nativas se mostra de grande importância, pelo fato de essas espécies apresentarem a vantagem de serem melhores em termos de crescimento, sobrevivência e reprodução sob estresse ambiental do que plantas exóticas (GUPTA *et al.*, 2013). *Inga uruguensis* e *Inga fagifolia* são duas leguminosas arbóreas, nativas do Cerrado brasileiro, pertencentes à família Fabaceae, que demonstraram características favoráveis a fitorremediação (FRACHIA *et al.*, in

press). Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial fitorremediador de ambas as espécies em solo contaminado com chumbo.

2.1 Material e métodos

2.1.1 Solo para o experimento

O solo utilizado foi do tipo latossolo vermelho distrófico, proveniente do bioma Cerrado, coletado na área pertencente à Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da UNESP de Ilha Solteira, localizada no município de Selvíria-MS-BR (20°20'35''S e 51°24'04''W, com altitude de 358m asl), misturado com areia, em uma proporção 1:1. As condições finais do solo, antes da implantação do experimento, era de acidez e baixa saturação por bases (pH 4,4 e V% 16), soma de bases SB 16,4 mmolc/dm³, Ca²⁺ (7 mmol c/ dm³), K⁺ e Mg²⁺ (2,4 e 7 mmolc/dm³), acidez potencial (H⁺Al) de 88 mmol c/dm³, com 28 g/dm³ de matéria orgânica (MO), e boa capacidade de troca catiônica (CTC) 104,4 mmolc/dm³. A análise de micronutrientes (RAIJ *et al.* 2001) mostra que o solo tem alta concentração de Mn e Fe (32,8 e 32 mg/dm³), concentração alta de Cu e Zn (2,5 e 1,5 mg/dm³), e média concentração de B (0,39 mg/dm³). A análise granulométrica mostra que o solo é composto por 426 g/kg de argila, 502 g/kg de areia total e 72 g/kg de silte.

Posteriormente, um volume de 2dm³ de solo foi acondicionado em sacos plásticos com capacidade de 2 litros, para que, então, o procedimento de contaminação artificial fosse realizado.

2.1.2 Contaminação do solo e instalação do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação pertencente ao Laboratório de Fisiologia do Metabolismo Vegetal (LFMV) da UNESP campus Ilha Solteira-SP-BR, do dia 04/08/2019 até 04/04/2020.

Para a contaminação artificial do solo (2 dm³ de solo), houve a diluição de acetato de chumbo (CH₃COO)₂ Pb, que possui maior solubilidade (BOSSO e ENZWEILER, 2008), em 300 ml de água, formando as doses de 100, 200, 300, 400 e 500 mg Pb.dm⁻³.

De acordo com a CETESB (2016), para Pb, o valor de referência é 17 mg.dm^{-3} e o valor de prevenção é 72 mg.dm^{-3} . Para área agrícola e residencial, os valores 150 mg.dm^{-3} e 240 mg.dm^{-3} , respectivamente, são considerados altos e necessitam de intervenção. O volume de 2 dm^3 de solo foi acondicionado em sacos plásticos transparentes, o qual foi identificado pelo número de tratamento e repetição, correspondente às unidades experimentais. As soluções descritas acima foram adicionadas no vaso de cada unidade experimental, em uma quantidade de 20 ml. Ao controle foi adicionado 20 ml de água destilada. Em seguida, o solo foi homogeneizado manualmente, permanecendo incubado por 30 dias em casa de vegetação, sem rega e sem exposição ao sol, para estabilização do metal ao solo. Após o período de estabilização, foi coletada uma amostra composta de solo de cada tratamento e realizada uma análise físico-química, utilizando o método US-EPA 3051, com leitura no ICP-AES (EPA 6010c), para verificar os teores de Pb disponíveis.

Mudas de *Inga fagifolia* e *Inga uruguensis* com 6 meses, adquiridas comercialmente pelo viveiro Flora Londrina – Londrina/PR, foram transplantadas para o solo estabilizado, recebendo irrigação automática, 3 vezes ao dia, com duração de 5 minutos cada, e, ao final de 8 meses, foi realizada a coleta das plantas e uma nova análise físico-química (US-EPA 3051) foi realizada, para quantificar o chumbo no solo.

As plantas coletadas foram separadas em folhas, caule e raízes, sendo lavadas em água destilada e secas com papel toalha. Posteriormente, os tecidos foram acondicionados em sacos de papel e postos para secar em estufa de circulação fechada a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ por 72 horas. Após secos, foram pesados para obtenção da massa seca total (MST) (g), massa da parte aérea (MSPA) (g) e massa seca da raiz (MSR) (g).

O experimento conteve 6 tratamentos (controle e as doses de Pb), com 5 repetições, totalizando 30 indivíduos por espécie.

2.1.3 Parâmetros de crescimento

Assim que as mudas de *I. fagifolia* e *I. uruguensis* foram transplantadas foi aferida a primeira medida de comprimento das plantas (C1) (cm), as medidas C2 e C3 (cm) foram tiradas após 3 e 6 meses, respectivamente, e a medida C4 (cm) ocorreu após 8 meses de cultivo, no dia em que o experimento foi desmontado e as plantas coletadas.

Juntamente com a última medida de comprimento da parte aérea das plantas (C4), também foi medido o comprimento radicular (cm) das mesmas.

2.1.4 Quantificação de chumbo nos tecidos

Após a obtenção da massa seca, os tecidos foram triturados em moinho de bola para preparo das amostras para quantificação de chumbo por espectroscopia de emissão óptica com plasma induzido (ICP-OES). Esta análise foi terceirizada, sendo realizada no Laboratório de Fertilizantes e Resíduos no Instituto Agrônomo de Campinas - IAC.

2.1.5 Determinação de teor do metal e potencial fitorremediador

Com os dados de massa e quantidade acumulada de Pb, foram realizados os cálculos para determinação do potencial fitorremediador: Índice de Tolerância (IT), Índice de Translocação (IT%) de acordo com Rahman, *et al.*, (2013) e fator de transferência (FT) de acordo com Lubben e Sauerback (1991).

$$\frac{BM_{tratamentos}}{BM_{controle}}$$

$$\% = \frac{[MP]_{PA}}{[MP]_{PA+R}} \times 100$$

$$FT_{S-P} = \frac{[MP]_{PLANTA}}{[MP]_{SOLUÇÃO}}$$

Em que BM = biomassa, PA = parte aérea, R = raízes e MP = metais pesados.

2.1.6 Análise estatística

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, em casa de vegetação, com irrigação controlada. Para cada uma das seis concentrações, foram utilizadas cinco repetições biológicas compostas por um indivíduo em cada unidade

experimental, totalizando 30 indivíduos por espécie. Por meio do software R (R Core Team, 2019), os dados foram submetidos a análise de variância e teste de Tukey, a 5% de probabilidade, a fim de avaliar possíveis diferenças entre os tratamentos.

2.2 Resultados

As tabelas 1 e 2 apresentam o comprimento da parte aérea (C1, C2, C3 e C4), aferidas em 4 diferentes meses, o comprimento radicular (CR), a massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR) e massa total (MST) das plantas das espécies *I. uruguensis* e *I. fagifolia*, respectivamente. Pode-se observar que o crescimento da parte aérea foi contínuo nas duas espécies. Em *I. uruguensis* (tabela 1) o CR apresentou diferença significativa, sendo o controle e o tratamento 500 mg.dm⁻³ os com maior comprimento radicular, apresentando 76,93 e 73,17cm, respectivamente. Para essa espécie, as diferentes doses de Pb também influenciaram a massa seca, sendo a MSPA maior nos tratamentos controle e 500 mg.dm⁻³, a MSR maior nos tratamentos 400 mg.dm⁻³ e 500 mg.dm⁻³ e a MST maior no tratamento de 500 mg.dm⁻³. Nas plantas de *I. fagifolia*, a MSPA, a MSR e a MST também foram influenciadas pela presença de Pb, sendo o tratamento controle o com menor massa.

Tabela 1: Primeira medida de comprimento (C1), comprimento após 3 meses (C2), comprimento após 6 meses (C3), comprimento após 8 meses (C4), comprimento radicular (CR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), massa seca total (MST) de *Inga uruguensis* em solo contaminado com Pb.

Tratamentos	C1	C2	C3	C4	CR	MSPA	MSR	MST
mg.dm ⁻³	cm por planta				g por planta			
Controle	31,33 A ± 0,87	47,14 A ± 3,46	58,10 A ± 2,92	61,40 A ± 3,03	76,93 A ± 0,69	8,47 A ± 0,29	3,99 AB ± 0,12	12,31 A ± 0,33
100	29,97 A ± 1,12	43,86 A ± 1,63	53,50 A ± 2,47	57,00 A ± 2,56	51,30 B ± 4,81	5,48 B ± 0,33	2,08 C ± 0,93	7,56 C ± 0,32
200	32,25 A ± 1,92	49,36 A ± 4,91	56,20 A ± 5,30	59,68 A ± 6,05	49,67 B ± 3,41	5,53 B ± 0,22	2,18 C ± 0,89	7,52 C ± 0,12
300	32,01 A ± 0,97	46,78 A ± 2,47	53,08 A ± 3,46	56,44 A ± 4,53	48,72 B ± 4,28	5,77 B ± 0,68	3,18 BC ± 1,42	8,96 BC ± 0,83
400	30,64 A ± 1,48	43,80 A ± 3,56	49,10 A ± 4,28	50,68 A ± 4,74	43,50 B ± 2,88	7,65 AB ± 0,34	5,08 A ± 1,88	11,86 AB ± 0,75
500	29,62 A ± 1,61	49,88 A ± 6,49	58,12 A ± 7,23	60,22 A ± 7,49	73,17 A ± 3,56	8,18 A ± 0,82	4,90 A ± 2,19	13,08 A ± 1,35
Pr>Fc	0,6986 ^{NS}	0,8395 ^{NS}	0,7124 ^{NS}	0,7034 ^{NS}	0,0000*	0,0001*	0,0000*	0,0000*
Média	30,97	46,79	54,68	57,57	57,21	6,85	3,57	10,21
CV (%)	9,98	19,48	18,69	19,52	13,77	16,32	22,27	16,23

*: Significativo a 5% de probabilidade. ^{NS}: Não significativo a 5% de probabilidade. Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV: Coeficiente de Variação. ±: Erro padrão da média.

Tabela 2: Primeira medida de comprimento (C1), comprimento após 3 meses (C2), comprimento após 6 meses (C3), comprimento após 8 meses (C4), comprimento radicular (CR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), massa seca total (MST) de *Inga fagifolia* em solo contaminado com Pb.

Tratamentos	C1	C2	C3	C4	CR	MSPA	MSR	MST
mg.dm ⁻³	cm por planta				g por planta			
Controle	20,26 A ± 2,70	27,02 A ± 3,10	32,22 A ± 3,52	34,88 A ± 4,24	61,96 A ± 5,71	2,63 C ± 0,50	2,02 B ± 0,22	4,65 B ± 0,69
100	21,96 A ± 1,75	31,66 A ± 2,80	36,22 A ± 2,84	37,82 A ± 3,29	77,20 A ± 7,91	3,78 BC ± 0,39	3,61 A ± 0,52	7,38 AB ± 0,82
200	21,70 A ± 1,01	28,30 A ± 1,85	33,08 A ± 2,63	34,12 A ± 2,51	69,50 A ± 10,27	5,01 AB ± 0,32	3,63 A ± 0,11	8,64 A ± 0,36
300	18,04 A ± 1,42	28,00 A ± 2,14	32,80 A ± 2,63	34,24 A ± 2,55	81,70 A ± 9,90	5,41 AB ± 0,43	3,25 AB ± 0,42	8,65 A ± 0,78
400	22,53 A ± 1,94	30,70 A ± 1,99	34,46 A ± 2,68	35,68 A ± 2,63	98,80 A ± 12,16	5,84 A ± 0,24	3,67 A ± 0,70	8,50 A ± 0,82
500	22,14 A ± 0,97	30,58 A ± 1,47	35,08 A ± 2,80	36,02 A ± 3,06	86,30 A ± 5,61	5,31 AB ± 0,38	3,06 AB ± 0,09	8,37 A ± 0,35
Pr>Fc	0,4693 ^{NS}	0,6669 ^{NS}	0,9162 ^{NS}	0,9602 ^{NS}	0,1005 ^{NS}	0,0000*	0,0095*	0,0016*
Média	21,10	29,38	33,98	35,46	79,24	4,66	3,21	7,70
CV (%)	18,42	17,47	18,88	19,60	25,18	18,53	22,16	19,38

*: Significativo a 5% de probabilidade. ^{NS}: Não significativo a 5% de probabilidade. Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV: Coeficiente de Variação. ±: Erro padrão da média.

Nas tabelas 3 e 4 pode-se observar os dados de quantificação de chumbo nos tecidos de *I. uruguensis* e *I. fagifolia*, respectivamente, tais como, quantificação de chumbo nas folhas (QF), quantificação de chumbo no caule (QC) e quantificação de chumbo na raiz (QR), e a quantificação de chumbo no solo antes do cultivo (AC) e após o cultivo (PC). Houve a presença de uma pequena quantidade de chumbo nos tecidos das folhas e do caule, em ambas as espécies. Já nas raízes, o chumbo se mostrou evidente, estando em maior quantidade no tratamento 500 mg.dm⁻³. Havendo um maior acúmulo nos tecidos radiculares nas plantas de *I. uruguensis* do que de *I. fagifolia*. As concentrações de chumbo no solo apresentaram um aumento progressivo de acordo com as doses, evidenciando uma redução após o cultivo das arbóreas.

Tabela 3: Quantificação de chumbo nas folhas (QF), quantificação de chumbo no caule (QC), quantificação de chumbo nas raízes (QR), quantificação de chumbo no solo antes do cultivo (AC) e quantificação de chumbo após o cultivo (PC) de *Inga uruguensis* em solo contaminado com Pb.

Tratamentos	QF	QC	QR	AC	PC
	mg.dm ⁻³		mg.kg ⁻¹		
Controle	< 1,50 A ± 0,00	< 1,50 A ± 0,00	< 1,5 D ± 0,00	< 2,90	< 2,90
100 mg.dm ⁻³	< 1,50 A ± 0,00	< 1,50 A ± 0,00	9,58 D ± 0,39	69,80	65,40
200 mg.dm ⁻³	< 1,50 A ± 0,00	< 1,50 A ± 0,00	44,52 C ± 5,36	139,10	100,00
300 mg.dm ⁻³	< 1,50 A ± 0,00	1,65 A ± 0,09	78,67 B ± 3,62	219,80	176,00
400 mg.dm ⁻³	1,80 A ± 0,18	2,06 A ± 0,32	83,11 B ± 11,30	290,40	172,40
500 mg.dm ⁻³	1,51 A ± 0,24	1,54 A ± 0,04	202,42 A ± 7,72	366,80	222,50
Pr>Fc	0,4586 ^{NS}	0,1569 ^{NS}	0,0000*		
Média	1,55	1,62	69,97	181,47	123,2
CV (%)	13,71	15,89	15,31		

*: Significativo a 5% de probabilidade. ^{NS}: Não significativo a 5% de probabilidade. Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV: Coeficiente de Variação. Limite de quantificação de Pb nos tecidos vegetais: 1,5. Limite de quantificação de Pb no solo: 2,9. ±: Erro padrão da média.

Tabela 4: Quantificação de chumbo nas folhas (QF), quantificação de chumbo no caule (QC), quantificação de chumbo nas raízes (QR), quantificação de chumbo no solo antes do cultivo (AC) e quantificação de chumbo após o cultivo (PC) de *Inga fagifolia* em solo contaminado com Pb.

Tratamentos	QF	QC	QR	AC	PC
mg.dm ⁻³	mg.kg ⁻¹				
Controle	< 1,50 A ± 0,00	< 1,50 B ± 0,00	< 1,50 C ± 0,00	< 2,90	3,40
100 mg.dm ⁻³	< 1,50 A ± 0,00	< 1,50 B ± 0,00	7,03 BC ± 0,33	69,80	69,70
200 mg.dm ⁻³	< 1,50 A ± 0,00	< 1,50 B ± 0,00	14,55 B ± 1,82	139,10	138,60
300 mg.dm ⁻³	< 1,50 A ± 0,00	1,57 B ± 0,07	30,48 A ± 1,47	219,80	197,7
400 mg.dm ⁻³	< 1,50 A ± 0,00	< 1,50 B ± 0,00	27,60 A ± 3,13	290,40	195,8
500 mg.dm ⁻³	< 1,50 A ± 0,00	2,02 A ± 0,09	37,98 A ± 4,63	366,80	200,2
Pr>Fc	0,4582 ^{NS}	0,0000*	0,0000*		
Média	1,50	1,60	19,86	181,47	134,23
CV (%)	0	4,84	21,61		

*: Significativo a 5% de probabilidade. ^{NS}: Não significativo a 5% de probabilidade. Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV: Coeficiente de Variação. Limite de quantificação de Pb nos tecidos vegetais: 1,5. Limite de quantificação de Pb no solo: 2,9. ±: Erro padrão da média.

O índice de tolerância (IT), índice de translocação (IT%) e fator de transferência (FT) são parâmetros que podem indicar o grau de tolerância da planta a um metal, o quanto de metal ela transloca dentro de si e o quanto de metal ela absorve do solo, respectivamente. Todos os tratamentos de *I. uruguensis* e *I. fagifolia* apresentaram IT maior que 0,6, indicando tolerância. Quanto ao IT% houve uma redução de acordo com o aumento das doses de Pb, sendo o tratamento 500mg.dm⁻³ o com menor valor, em ambas as espécies. Para FT, em *I. fagifolia*, com exceção do controle, nenhum tratamento apresentou valor maior que 1, já para *I. uruguensis*, além do controle, os tratamentos 300, 400 e 500 mg.dm⁻³ também apresentaram FT maior que 1.

Tabela 5: Índice de tolerância (IT), índice de translocação (IT%) e fator de transferência de *I. uruguensis* em solo contaminado com Pb.

	IT	IT%	FT
100 mg.dm ⁻³	0,66 ± 0,05	43,45 A ± 2,41	0,49 B ± 0,01
200 mg.dm ⁻³	0,94 ± 0,27	15,53 B ± 2,38	0,76 B ± 0,06
300 mg.dm ⁻³	0,79 ± 0,11	6,74 C ± 0,78	1,39 A ± 0,05
400 mg.dm ⁻³	0,93 ± 0,11	6,93 C ± 0,57	1,56 A ± 0,04
500 mg.dm ⁻³	1,15 ± 0,62	2,93 C ± 0,44	1,62 A ± 0,28
Pr>Fc		0,0000*	0,0000*
Média	0,89	15,24	1,08
CV (%)		14,72	25,57

*: Significativo a 5% de probabilidade. ^{NS}: Não significativo a 5% de probabilidade. Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV: Coeficiente de Variação. ±: Erro padrão da média.

Tabela 6: Índice de tolerância (IT), índice de translocação (IT%) e fator de transferência de *I. fagifolia* em solo contaminado com Pb.

	IT	IT%	FT
100 mg.dm ⁻³	1,90 ± 0,59	35,13 A ± 1,76	0,53 A ± 0,06
200 mg.dm ⁻³	2,08 ± 0,72	23,52 B ± 2,80	0,48 A ± 0,01
300 mg.dm ⁻³	1,82 ± 0,49	13,73 C ± 1,07	0,66 A ± 0,10
400 mg.dm ⁻³	1,57 ± 0,48	15,00 C ± 1,37	0,34 A ± 0,03
500 mg.dm ⁻³	1,70 ± 0,41	11,13 C ± 0,98	0,32 A ± 0,01
Pr>Fc		0,0000*	0,1884 ^{NS}
Média	1,81	19,70	0,47
CV (%)		22,39	27,38

*: Significativo a 5% de probabilidade. ^{NS}: Não significativo a 5% de probabilidade. Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV: Coeficiente de Variação. ±: Erro padrão da média.

2.3 Discussão

A inibição do crescimento é um dos principais efeitos que o chumbo pode provocar nas plantas, tanto na parte aérea quanto nas raízes (LIU *et al.*, 2008; GUPTA *et al.*, 2013; ISLAM *et al.*, 2007; KOPITTKÉ *et al.*, 2007), podendo ser atribuído a

alterações na fotossíntese (ISLAM *et al.* 2008) e distúrbios metabólicos (KOPITTKÉ *et al.*, 2007). Plântulas de tomate apresentaram redução no crescimento da parte aérea e das raízes, quando expostas à diferentes doses de acetato de Pb (MORAES, 2011). Da mesma forma, plantas de *Canavalia ensiformes* apresentaram diminuição no crescimento da parte aérea conforme as doses de acetato de Pb aumentaram (ROMEIRO *et al.*, 2007). Em ambas as espécies estudadas pôde-se observar que o crescimento da parte aérea não foi afetado, indicando que as mesmas apresentam crescimento constante mesmo em altas concentrações de Pb. Quanto ao crescimento radicular, em *I. uruguensis* foi observado um efeito oposto ao da literatura, uma vez que as plantas expostas a maior dose de Pb, assim como o tratamento controle, tiveram o maior crescimento das raízes.

Boffe *et al.* (2016), relataram que todos os parâmetros de massa seca (raiz, parte aérea e total) de *Helianthus annuus* L. foram influenciados negativamente pela contaminação com Pb. Apesar de a redução da massa seca (MS) ser um dos efeitos provocados pelo Pb, no presente estudo pôde-se observar um aumento dessa variável nas plantas que foram expostas ao metal. O aumento de massa seca também foi observado por Cheng *et al.* (2015) ao estudar fitorremediação de chumbo utilizando plantas de milho. Para Esringü *et al.* (2014) a produção de biomassa desempenha um papel importante na remoção/remediação de metais pesados no solo, quanto maior a biomassa, maior quantidade de metal a planta pode absorver. A baixa produção de massa seca e alta absorção de metal confere às plantas o título de hiperacumuladoras (MARQUES *et al.*, 2009), já a produção de grandes quantidades de massa seca e menor acúmulo de metal em seus tecidos, caracteriza as plantas como acumuladoras (TAVARES *et al.*, 2013).

De acordo com Kabata-Pendias (2015), a forma de absorção do Pb pelas plantas é passiva, ocorrendo principalmente pelos pêlos radiculares e sendo armazenada nas paredes celulares da raiz em um grau considerável. Para a maioria das espécies, cerca de 95% do Pb absorvido fica acumulado nas raízes e uma pequena quantidade é translocada para a parte aérea (POURRUT *et al.*, 2011). Por possuírem células jovens, com parede celular fina, que facilitam a absorção, as concentrações mais altas de Pb são encontradas nos ápices das raízes (SEREGIN *et al.*, 2004). Somado a isso, é nessa região onde o pH rizodérmico é mais baixo, aumentando a solubilidade de Pb na solução do solo (POURRUT *et al.*, 2011). Para *I. uruguensis* e *I. fagifolia* foi observada

a mesma tendência, uma vez que o teor de Pb nos tecidos mostrou-se mais elevado nas raízes do que nas folhas e caule, indicando que essas espécies acumulam mais Pb nos tecidos radiculares e translocam baixa quantidade desse contaminante para a parte aérea, colocando essas espécies como uma fitoestabilizadoras em potencial. Segundo Esringü *et al.* (2014), plantas hiperacumuladoras tendem a absorver e translocar o metal para a parte aérea, já plantas tolerantes tendem a acumular a maior parte do metal nas raízes, restringindo sua transferência para a parte aérea.

O Pb é um metal que apresenta baixa solubilidade no solo, com exceção de algumas formas, tais como, citrato e acetato (BOSSO; ENZWEILER 2008). Os dados analisados sugerem que houve a lixiviação de uma grande parcela de Pb, que pode ter sido causada pela maior solubilidade do acetato de chumbo, provocando uma baixa absorção do metal pelas espécies vegetais estudadas.

Estudos sobre fitorremediação de metais pesados mostram que quanto maior a CTC, menor é a mobilidade desses metais no perfil do solo (TAVARES *et al.*, 2013). No presente experimento, o solo utilizado apresentou alta CTC, o que pode ter influenciado na remoção de Pb por *I. fagifolia* e *I. uruguensis*. Em contrapartida, em solos com baixo pH há um aumento na disponibilidade de Pb. Apesar da alta CTC, o solo usado se mostrou com pH de 4,4, essa característica pode ter auxiliado na disponibilidade de Pb às plantas, justificando a absorção desse metal, em especial por *Inga uruguensis*, indicando maior capacidade de remoção dessa espécie.

O índice de tolerância (IT) de plantas a metais pesados estabelece que: a) 0,8 a 1,0, a planta é classificada como altamente tolerante; b) 0,6 a 0,8, a planta é classificada como tolerante, c) 0,4 a 0,6 a planta é classificada como moderadamente tolerante, d) 0,2 a 0,4 a planta é classificada como sensível e e) 0 a 0,2 a planta é mais sensível ao contaminante (CI *et al.*, 2010). Em todos os tratamentos *I. uruguensis* e *I. fagifolia* apresentaram IT maior que 0,6, mostrando tolerância das espécies ao Pb.

O índice de translocação (IT%) ajuda a expressar a translocação do Pb no interior da planta (ARSHAD *et al.*, 2008). Para ambas as espécies, conforme as doses de Pb aumentaram, o IT% diminuiu, indicando que quanto maior a quantidade de chumbo no solo, maior é a quantidade desse metal sendo acumulado nas raízes.

O fator de transferência (FT) indica a capacidade da planta em translocar ou transferir metais do solo para seus tecidos (KABATA-PENDIAS; PENDIAS 2001). De

forma geral, um elevado FT mostra uma reduzida retenção dos contaminantes no solo e uma maior capacidade de absorção de metais pela planta estudada (KACHENKO; SING, 2006). Em *I. uruguensis* os tratamentos 300, 400 e 500 mg.dm⁻³, apresentaram FT superior a 1, indicando que sob maiores doses de Pb, essa espécie possui maior potencial de remoção nas condições estudadas. Já *I. fagifolia*, em todos os tratamentos FT foi menor que 1, mostrando que sob as doses de Pb aplicadas, houve um reduzido potencial de remoção desse metal.

2.4 Conclusão

Apesar da alta toxicidade de chumbo condicionada para as espécies *Inga uruguensis* e *Inga fagifolia*, essas duas leguminosas arbóreas quando expostas as diferentes doses não apresentaram redução no crescimento, nem na produção de biomassa. Uma pequena fração de chumbo foi removida do solo, mostrando-se mais evidente nos tratamentos com maiores concentrações de metal, e seu acúmulo ocorreu majoritariamente nos tecidos radiculares, havendo baixa translocação para a parte aérea. O índice de tolerância foi superior a 0,6 em ambas as espécies, sendo o FT, fator que indica a capacidade da planta em translocar metal do solo para seus tecidos, maior que 1 nas mudas de *I. uruguensis* expostas às doses de 300, 400 e 500 mg.dm⁻³. As espécies estudadas possuem perfil de fitoestabilizadoras, apresentando tolerância inicial ao chumbo, sendo *Inga uruguensis*, a mais efetiva para sua fitorremediação, em especial nas doses mais elevadas.

REFERÊNCIAS

ARSHAD, M.; SILVESTRE, J.; PINELLI, E.; KALLERHOFF, J.; KAEMMERER, M.; TARIGO, A.; SHAHID, M.; GUIRESSE, M.; PRADERE, P.; DUMAT, C. A field study of lead phytoextraction by various scented Pelargonium cultivars. **Chemosphere**, Oxford, v. 71, n. 11, p. 2187–2192, 2008.

ATSDR - AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. **CERCLA priority list of hazardous substances**. Atlanta, GA: U.S Department of Public Health and Human Services, Public Health Service, 2017.

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

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO - CETESB. **Valores orientadores para solos e águas subterrâneas no estado de São Paulo**. São Paulo: Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 2016. Disponível em <https://www.cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/2014/12/DD-256-2016-E-ValoresOrientadores-Dioxinas-e-Furanos-2016-Intranet.pdf>. Acesso em: 02 abr. 2022.

CHENG, S.; HUANG, C. Y.; LIN, Y.; LIN, S. C.; CHEN, K. L. Phytoremediation of lead using corn in contaminated agricultural land—An in situ study and benefit assessment. **Ecotox. And Environ. Safety**, Philadelphia, v. 111, p. 72-77, 2015.

CI, D.; JIANG, D.; DAI, T.; JING, Q.; CAO, W. Variation in Cadmium Tolerance and Accumulation and Their Relationship in Wheat Recombinant Inbred Lines at Seedling Stage. **Biolog. Trace Element Research**, Heidelberg, v. 142, n. 3, p. 807–818, 2010.

CRISTALDI, A.; CONTI, G.O.; JHO, E. H.; ZUCCARELLO, P.; GRASSO, A.; COPAT, C.; FERRANTE, M. Phytoremediation of contaminated soils by heavy metals and PAHs. A brief review. **Environ. Technol. & Innov.**, Amsterdam, v. 8, p. 309–326, 2017.

DUARTE, R. P. S.; PASQUAL, A. Avaliação do cádmio (Cd), chumbo (Pb), níquel (Ni) e zinco (Zn) em solos, plantas e cabelos humanos. **Energ. na Agric.**, Botucatu. v. 15, n. 1, p. 46-58, 2000.

ESRINGÜ, A.; TURAN, M.; GÜNEŞ, A.; KARAMAN, M. R. Roles of *Bacillus megaterium* in Remediation of Boron, Lead, and Cadmium from Contaminated Soil. **Commun. Soil Sci. Plant Anal.**, New York, v. 45, p. 1741-1759, 2014. DOI: 10.1080/00103624.2013.875194.

GRATÃO, P.L.; PRASAD, M. N. V.; CARDOSO, P. F.; LEAD, P. J.; AZEVEDO, R. A. A. Phytoremediation: green technology for the clean up of toxic metals in the environmental. **Brazilian journal of plant physiology**, Campinas, v. 17, n. 1, p. 53-64, 2005. DOI: 10.1590/S1677-04202005000100005.

GRIGOLETTO, T. L. B. **Chumbo na água de consumo de Ribeirão Preto (SP): fatores químicos, físicos e possíveis correlações com a contaminação de crianças**. 2011. 83 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

GUPTA, D. K.; HUANG, H. G.; CORPAS, F. J. Lead tolerance in plants: strategies for phytoremediation. **Environmental Science and Pollution Research**, Heidelberg, v. 20, n. 4, p. 2150–2161, 2013. DOI:10.1007/s11356-013-1485-4, 2013.

ISLAM, E.; YANG, X.; LI, T.; LIU, D.; JIN, X.; MENG, F. Effect of Pb toxicity on root morphology, physiology and ultrastructure in the two ecotypes of *Elsholtzia argyi*. **J Hazard Mater**, Amsterdam, v. 147, n. 3, p. 806–816, 2007.

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

KABATA-PENDIAS, A.; SZTEKE, B. **Trace elements in abiotic and biotic environments**. Boca Raton: CRC Press, 2015. 425 p.

KACHENKO, A. G.; SING, B. WATER. Heavy Metals Contamination in Vegetables Grown in Urban and Metal Smelter Contaminated Sites in Australia. **Air. Soil. Pollut.**, v. 169, n. 1, p. 101-123, 2006.

KOPITTKE, P. M.; ASHER, C. J.; KOPITTKE, R. A.; MENZIES, N. W. Toxic effects of Pb^{2+} on growth of cowpea (*Vigna unguiculata*). **Environ Pollut**, Oxford, v. 150, n. 2, p. 280–287, 2007.

KOPITTKE, P. M.; ASHER, C. J.; KOPITTKE, R. A.; MENZIES, N. W. Prediction of Pb speciation in concentrated and dilute nutrient solutions. **Environ Pollut**, Oxford, v. 153, n. 3, p. 548–554, 2008.

KUMAR, J. I. N.; OOMMEN, C. Removal of heavy metals by biosorption using freshwater alga *Spirogyra hyalina*. **J. Environ. Biol.**, Lucknow, v. 33, p. 27-31, 2012.

LAMEGO, F. P.; VIDAL, A. R. Fitorremediação: plantas como agentes de despoluição? Pesticidas: R. **Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, Curitiba. v. 17, p.9-18. doi:10.5380/pes.v17i0.10662, 2007.

LIU, D.; LI, T.; JIN, X.; YANG, X.; ISLAM, E.; MAHMOOD, Q. Lead induced changes in the growth and antioxidant metabolism of the lead accumulating and non-accumulating ecotypes of *Sedum alfredii*. **J Integr Plant Biol**, Richmond, v. 50, n. 2, p. 129–140, 2008.

LUBBEN, S.; SAUERBECK, D. The uptake and distribution of heavy-metals by spring wheat. **Water Air and Soil Pollut**, Dordrecht, v.57, n.8, p.239-247, 1991.

Marques, L. F. **Fitoextração de chumbo por girassol, vetiver, trigo mourisco, jureminha e mamona em áreas contaminadas**. 2009. 52 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2009.

MARTINS, J.; FIGUEIREDO, B. R. Testes de mobilidade de chumbo e arsênio em solo contaminado em Apiaí (SP). **Geochimica Brasiliensis**, [s. l.], p. 189-200, 2014. DOI: 10.5327/Z0102-9800201400020007.

MORAES, C. L. **Alterações bioquímicas, fisiológicas e ultra estruturais em sementes e plantas de tomate expostas ao chumbo**. 2011. 70 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2011.

PILON-SMITS, E. Phytoremediation. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 56, p. 15-39. DOI: 10.1146/annurev.arplant.56.032604.144214, 2005.

POURRUT, B.; SHAHID, M.; DUMAT, C.; WINTERTON, P; PINELLI, E. Lead Uptake, toxicity, and detoxification in plants. **Reviews of Environ Contamin and Toxicol**, United states, v. 213, p. 113-136, 2011.

PUNAMIYA, P.; DATTA, R.; SARKAR, D.; BARBER, S.; PATEL, M.; DAS, P. Symbiotic role of *glomus mosseae* in phytoextraction of lead in vetiver grass

[*Chrysopogon zizanioides* (L.)]. **J Hazard Mater**, Amsterdam, v. 177, n. 1–3, p. 465–474, 2010.

RAHMAN, M. M.; AZIRUN, S. M.; BOYCE, N. A. Enhanced Accumulation of Copper and Lead in Amaranth (*Amaranthus paniculatus*), Indian Mustard (*Brassica juncea*) and Sunflower (*Helianthus annuus*). **PLoS One**, San Francisco, v. 8, p. e 62941, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0062941.

RAIJ, B. V.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; GUAGGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronômico, 2001. p. 285.

RIBEIRO, E. S.; PEREIRA, M. P.; CASTRO, E. M.; BARONI, G. D. R.; CORRÊA, F. F.; PEREIRA, F. J. Relações da anatomia radicular na absorção, no acúmulo e na tolerância ao chumbo em *Echinodorus grandiflorus*. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 19, n. 6, p. 605-612, 2015.

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

SEREGIN, I. V.; SHPIGUN, L. K.; IVANOV, V. B. Distribution and toxic effects of cadmium and lead on maize roots. **Russ J Plant Physiol**, Moscow, v. 51, n. 4, p. 525–533, 2004.

SILVA, P. R. C. **Avaliação da fito-e genotoxicidade do chumbo em *Lactuca sativa* L.** 2014. 180 f. Dissertação (Mestrado em Genética Molecular Comparativa e Tecnológica) - Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, 2014.

SOUZA, E. P.; SILVA, I. F.; FERREIRA, L. E. Mecanismos de tolerância a estresses por metais pesados em plantas. **Rev Brasil de Agroc**, [s. l.], v. 17, n. 2-4, p. 167-173, 2017.

SOUZA, L. A.; CAMARGOS, L S.; CARVALHO, M. E. A. Toxic metal phytoremediation using high biomass non-hyperaccumulator crops: New possibilities for bioenergy resources. **Phytoremediation: Methods, Manag and Assess**. [S. l.: s. n.], 2018. Cap. 1.

TAVARES, S. R. L.; OLIVEIRA, S. A.; SALGADO, C. M. Avaliação de espécies vegetais na fitorremediação de solos contaminados por metais pesados. **Hollos**, [s. l.], v.5, p. 80-97, 2013.

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

3 CAPÍTULO II: TROCAS GASOSAS E PIGMENTOS FOTOSSINTETIZANTES DE *Inga uruguensis* E *Inga fagifolia* CULTIVADAS EM SOLO CONTAMINADO POR Pb

3.1 Introdução

Os metais pesados (MP's) são elementos de ocorrência natural no ambiente, porém sua concentração vem aumentando devido a diferentes práticas antrópicas, tais como atividades industriais, agrícolas (FACCHINELLI *et al.*, 2001), mineração, lodo de esgoto e compostos orgânicos provenientes da reciclagem do lixo urbano (MORAES, 2011). Independente da sua origem, a maioria dos metais tem efeito cumulativo no ambiente, podendo ser transferidos para o tecido vegetal, sendo dessa forma, introduzidos na cadeia trófica alimentar, contaminando-a, além de também causarem grande contaminação nas águas superficiais e subterrâneas (GALLARDO-LARA; NOGALES, 1987; HUE *et al.*, 1994). Essas características colocam os MP's como um dos maiores problemas em áreas impactadas, uma vez que metais poluentes não são degradáveis e têm a capacidade de se bioacumularem nos organismos.

O chumbo (Pb) é um dos metais poluentes que mais afetam as plantas (SHAHID *et al.*, 2011). Em contato com o tecido vegetal provoca disfunções bioquímicas, morfológicas e fisiológicas (SHAHID *et al.*, 2011), podendo prejudicar o crescimento de plantas, inibir o crescimento das raízes (NAS; ALI, 2018), reduzir a transpiração, o teor de água e o tamanho dos estômatos (BRUNET *et al.*, 2009; WERYSZKO-CHMIELEWSKA; CHWIL, 2005). Além disso, o Pb reduz o teor de clorofila e carotenoide (KOSOBROUKHOV *et al.*, 2004, GOPAL; RIZVI, 2008), provoca danos no fotossistema II (QUFEI; FASHUI, 2009), e afeta a fotossíntese, podendo levar o vegetal a morte (TANYOLAC *et al.*, 2007). Em áreas agricultáveis, a presença de Pb pode impelir à diminuição do rendimento das culturas, e dependendo da sua concentração, provocar a contaminação dos vegetais, inviabilizando seu consumo (ANDRADE; SILVEIRA, 2004).

Visando o grande impacto ambiental e econômico que a contaminação por metais pesados pode provocar, a busca para minimizar esse problema, se torna necessária. A fitorremediação é uma técnica sustentável, de fácil aplicação e economicamente viável, que vem chamando a atenção (WENZEL, 2009; ZALEWSKA; NOGALSKA, 2014).

Ela se baseia na utilização de plantas para remover ou imobilizar um contaminante no solo, reduzindo sua concentração a níveis inofensivos para o meio (ACCIOLY; SIQUEIRA, 2000; MONQUEIRO *et al.*, 2013).

As espécies arbóreas apresentam crescimento rápido, sistema radicular profundo e alta produção de biomassa (SANTOS *et al.*, 2018). Somado a isso, leguminosas arbóreas possuem um importante potencial de associação com microrganismos fixadores de nitrogênio, promovendo um aumento da atividade microbiana do solo e da disponibilidade de nutrientes, criando condições favoráveis a sucessão ecológica e auxiliando a recuperação de áreas degradadas (CAIRES *et al.*, 2011; MOREIRA, 2014).

Inga uruguensis e *Inga fagifolia* são duas leguminosas arbóreas, nativas no Cerrado brasileiro, que apresentaram tolerância inicial ao Pb (FRACHIA *et al.*, *in press*). Sendo assim, frente as disfunções bioquímicas e fisiológicas que esse metal pode causar nos vegetais, o objetivo desse trabalho foi verificar, através da avaliação das trocas gasosas e tores de pigmentos fotossintetizantes, os efeitos das doses crescentes de Pb nos parâmetros fotossintéticos em mudas de *I. uruguensis* e *I. fagifolia*.

3.2 Material e métodos

3.2.1 Solo para o experimento

O solo utilizado foi do tipo latossolo vermelho distrófico, proveniente do bioma Cerrado, coletado na área pertencente à Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da UNESP de Ilha Solteira, localizada no município de Selvíria-MS-BR (20°20'35''S e 51°24'04''W, com altitude de 358m asl), misturado com areia, em uma proporção 1:1. As condições finais do solo, antes da implantação do experimento, era de acidez e baixa saturação por bases (pH 4,4 e V% 16), soma de bases SB 16,4 mmolc/dm³, Ca²⁺ (7 mmol c/ dm³), K⁺ e Mg²⁺ (2,4 e 7 mmolc/dm³), acidez potencial (H⁺Al) de 88 mmol c/dm³, com 28 g/dm³ de matéria orgânica (MO), e boa capacidade de troca catiônica (CTC) 104,4 mmolc/dm³. A análise de micronutrientes (RAIJ *et al.* 2001) mostra que o solo tem alta concentração de Mn e Fe (32,8 e 32 mg/dm³), concentração alta de Cu e Zn (2,5 e 1,5 mg/dm³), e média concentração de B (0,39 mg/dm³). A análise

granulométrica mostra que o solo é composto por 426 g/kg de argila, 502 g/kg de areia total e 72 g/kg de silte.

Posteriormente, um volume de 2dm³ de solo foi acondicionado em sacos plásticos com capacidade de 2 litros, para que, então, o procedimento de contaminação artificial fosse realizado.

3.2.2 Contaminação do solo e instalação do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação pertencente ao Laboratório de Fisiologia do Metabolismo Vegetal (LFMV) da UNESP campus Ilha Solteira-SP-BR, do dia 04/08/2019 até 04/04/2020.

Para a contaminação artificial do solo (2 dm³ de solo), houve a diluição de acetato de chumbo (CH₃COO)₂ Pb, que possui maior solubilidade (BOSSO e ENZWEILER 2008), em 300 ml de água, formando as doses de 100, 200, 300, 400 e 500 mg Pb.dm⁻³. De acordo com a CETESB (2016), para Pb, o valor de referência é 17 mg.dm⁻³ e o valor de prevenção é 72 mg.dm⁻³. Para área agrícola e residencial, os valores 150 mg.dm⁻³ e 240 mg.dm⁻³, respectivamente, são considerados altos e necessitam de intervenção. O volume de 2 dm³ de solo foi acondicionado em sacos plásticos transparentes, o qual foi identificado pelo número de tratamento e repetição, correspondente às unidades experimentais. As soluções descritas acima foram adicionadas a cada unidade experimental, em uma quantidade de 20 ml. Ao controle foi adicionado 20 ml de água destilada. Em seguida, o solo foi homogeneizado manualmente, permanecendo incubado por 30 dias em casa de vegetação, sem rega e sem exposição ao sol, para estabilização do metal ao solo. Após o período de incubação do solo, mudas de *Inga fagifolia* e *Inga uruguensis*, com 6 meses, adquiridas comercialmente pelo viveiro Flora Londrina – Londrina/PR, foram transplantadas para o solo, permanecendo por um período de 8 meses, do transplante até coleta, recebendo irrigação automática, 3 vezes ao dia, com duração de 5 minutos cada. O experimento teve 6 tratamentos (controle e 5 doses de Pb), com 5 repetições, totalizando 30 indivíduos por espécie.

3.2.3 Avaliação das trocas gasosas

Para determinação da capacidade fotossintética dessas plantas, foram realizadas medidas das trocas gasosas, após 4 meses (AQ) e após 6 meses (AS) de exposição em solo contaminado com Pb, a fim de identificar possíveis alterações em resposta à exposição ao metal, utilizando um analisador portátil de trocas gasosas CIRAS-3 (Portable Photosynthesis System - PP Systems), com radiação ambiente. As medidas foram realizadas em folhas totalmente desenvolvidas e aparentemente saudáveis, na região da 2ª ou 3ª folha abaixo do meristema apical, entre 09h00 e 12h00 da manhã, para todos os tratamentos.

Os seguintes parâmetros foram analisados: Transpiração (E , mol H₂O m⁻² s⁻¹); taxa fotossintética (A , μmol CO₂ m⁻² s⁻¹); eficiência do uso da água (EUA= A/E); concentração interna de CO₂ (C_i , μmol mol⁻¹); concentração externa de CO₂ (C_a , μmol mol⁻¹); razão entre as concentrações interna e externa de CO₂ (C_i/C_a) e condutância estomática (G_s , mol H₂O m⁻² s⁻¹).

3.2.4 Determinação do teor de clorofilas e carotenoides

Foram cortadas tiras finas (1mm) de folha até obter 50mg, o material foi colocado em tubo de ensaio com 7ml DMSO. Após, ficaram em banho-maria a 65°C por 30min, resfriando no escuro, para posterior leitura em espectrofotômetro (HISCOX; ISRAELSTAM 1979).

A concentração de clorofilas e carotenoides foi calculada seguindo as equações propostas por Arnon (1949) (Clorofilas) e Wellburn (1994) (Carotenoides), conforme descrito abaixo:

Equações propostas por Arnon (1949):

$$C_a = (12,70 \times A_{663}) - (2,69 \times A_{645})$$

$$C_b = (22,90 \times A_{645}) - (4,68 \times A_{663})$$

$$C_a + C_b = (20,20 \times A_{645}) + (8,02 \times A_{663})$$

Equações propostas por Wellburn (1994):

$$\text{CarotenoidesTotais} = \frac{(1000A_{470} - 1,29Chla - 53,78Chlb)}{220}$$

3.2.5 Determinação do teor total de compostos fenólicos

Foi realizada a maceração das folhas de acordo com Bieleski e Turner (1966), após, 200 µL da amostra foram adicionados a 1mL de reagente 0,25 Folin – Ciocalteu. Depois de 4 min, 800 µL de solução saturada de carbonato de sódio (cerca de 75g/L) foram adicionados. Após 2 horas em temperatura ambiente, a absorvância da solução foi medida a 760nm. O teor total de fenólicos foi expresso em miligramas de equivalente em ácido gálico (mg GAE g⁻¹).

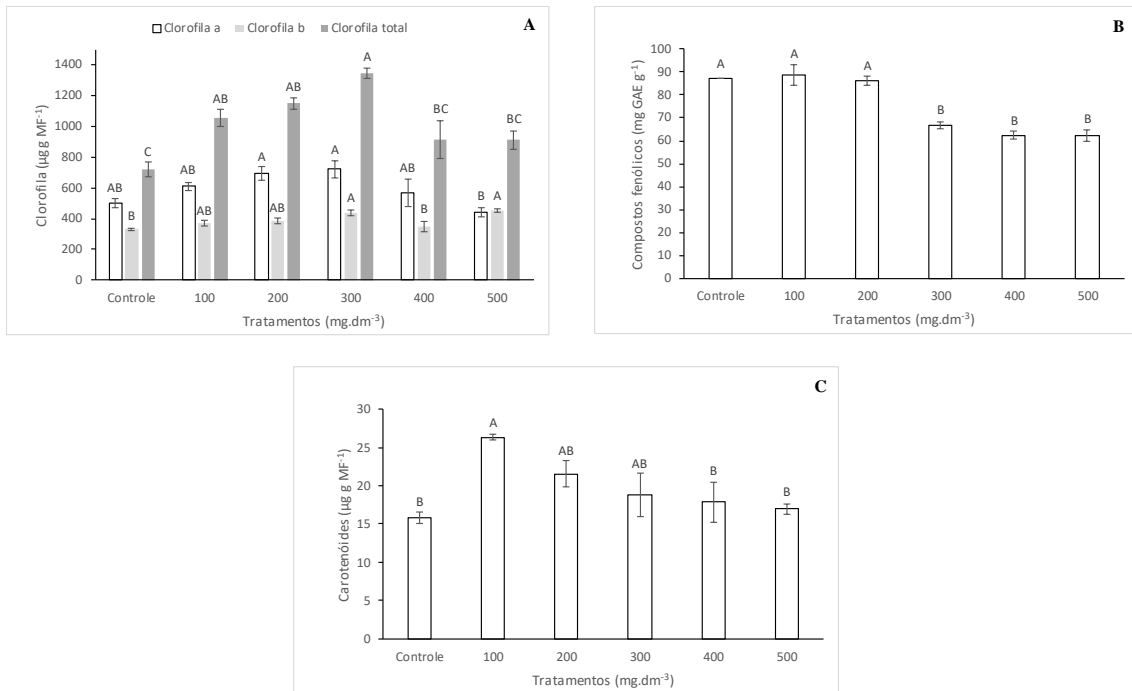
3.2.6 Análise estatística

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, contendo 6 tratamentos e 5 repetições biológicas compostas por 1 indivíduo em cada unidade experimental, totalizando 30 indivíduos por espécie. Por meio do software R (R Core Team, 2019), os dados foram submetidos a análise de variância, e teste de Tukey a 5% de probabilidade, a fim de avaliar as diferenças entre os tratamentos.

3.3 Resultados

Como observado na Fig. 1A, houve uma redução na concentração de clorofila *a* em *Inga uruguensis*, quando as plantas foram expostas à maior dose de chumbo. Para clorofila *b* (Fig. 1A) houve um aumento nas plantas dos tratamentos 300 e 500 mg.dm⁻³, já clorofila total (Fig. 1A) apresentou menor concentração nas plantas do tratamento controle. A concentração de compostos fenólicos (Fig. 1B), assim como a de clorofila *a*, também reduziu em exposição as maiores doses de Pb. Já a concentração de carotenoides (Fig. 1C), mostrou seu pico nas plantas do tratamento 100 mg.dm⁻³.

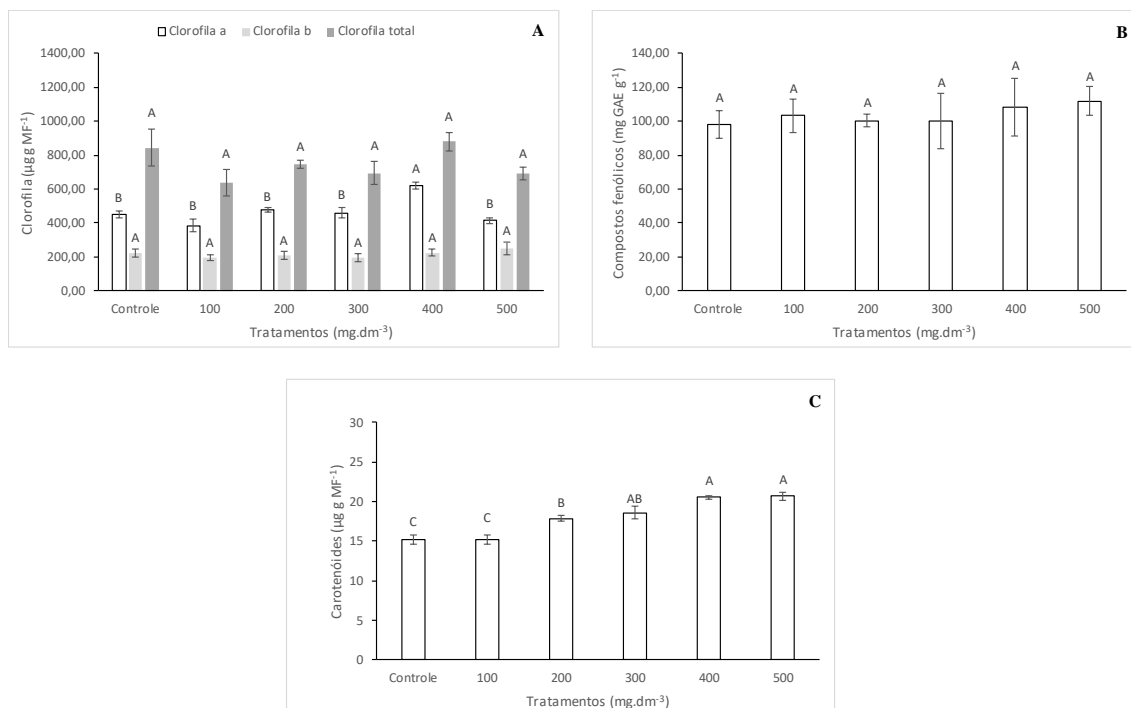
Figura 1: Concentração de clorofila (A), compostos fenólicos (B) e carotenoides (C) de mudas de *Inga uruguensis* em solo contaminado com Pb.



As barras representam as médias \pm erro padrão. As médias seguidas pelas mesmas letras não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de significância. Fonte: Da autora (2022).

A concentração de clorofila *a* em mudas de *Inga fagifolia* (Fig. 2A), apresentou um aumento nas plantas do tratamento de 400 mg.dm⁻³. Já a concentração de clorofila *b* e total (Fig. 2A) não diferiram significativamente entre os tratamentos. Para a concentração de compostos fenólicos (Fig. 2B), não foi observada diferença significativa, já a concentração de carotenoides (Fig. 2C), teve um aumento progressivo de acordo com as doses de Pb.

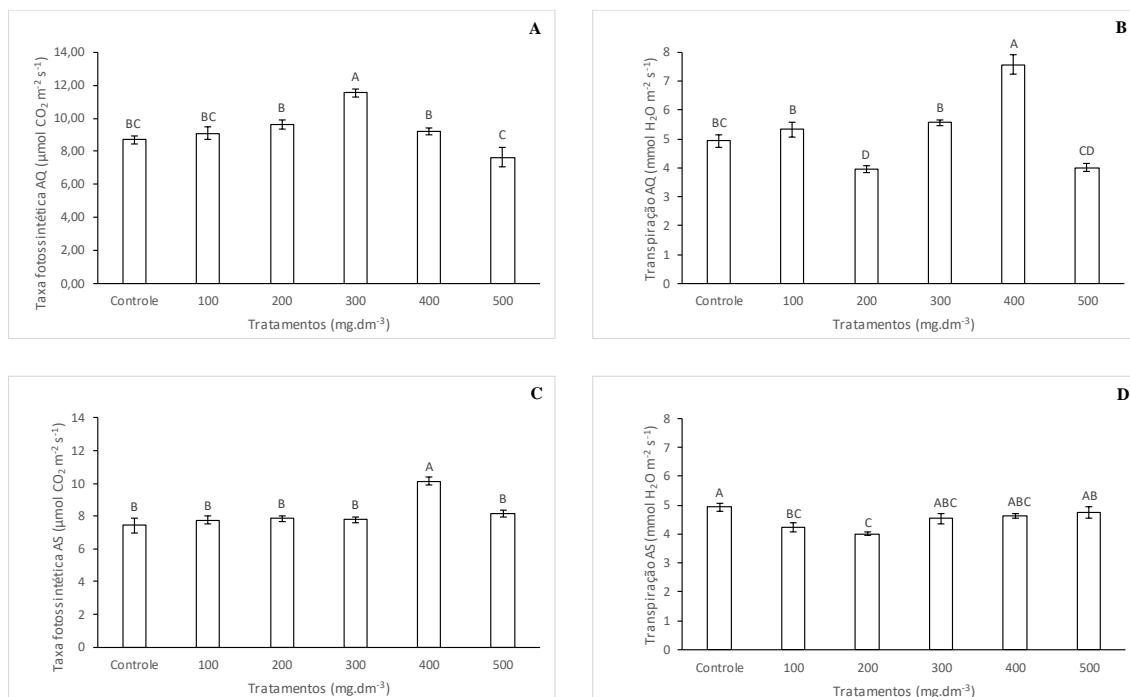
Figura 2: Concentração de clorofila (A), compostos fenólicos (B) e carotenóides (C) de mudas de *Inga fagifolia* em solo contaminado com Pb.



As barras representam as médias \pm erro padrão. As médias seguidas pelas mesmas letras não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de significância. Fonte: Da autora (2022).

A taxa fotossintética de *I. uruguensis* após 4 meses de exposição ao Pb (Fig. 3A) foi menor nas plantas expostas a maior dose de metal. Após 6 meses de exposição (Fig. 3C), observa-se que essa taxa reduziu nas plantas de todos os tratamentos, exceto nos tratamentos de 400 e 500 mg.dm⁻³. Já para transpiração, após 4 meses de exposição (Fig. 3B), foi observado maior valor nas plantas do tratamento de 400 mg.dm⁻³, enquanto após 6 meses de exposição (Fig. 3D), todas as plantas apresentaram redução, exceto as plantas do tratamento controle, que mantiveram o mesmo valor e as plantas expostas ao tratamento 500 mg.dm⁻³, que tiveram seu valor aumentado.

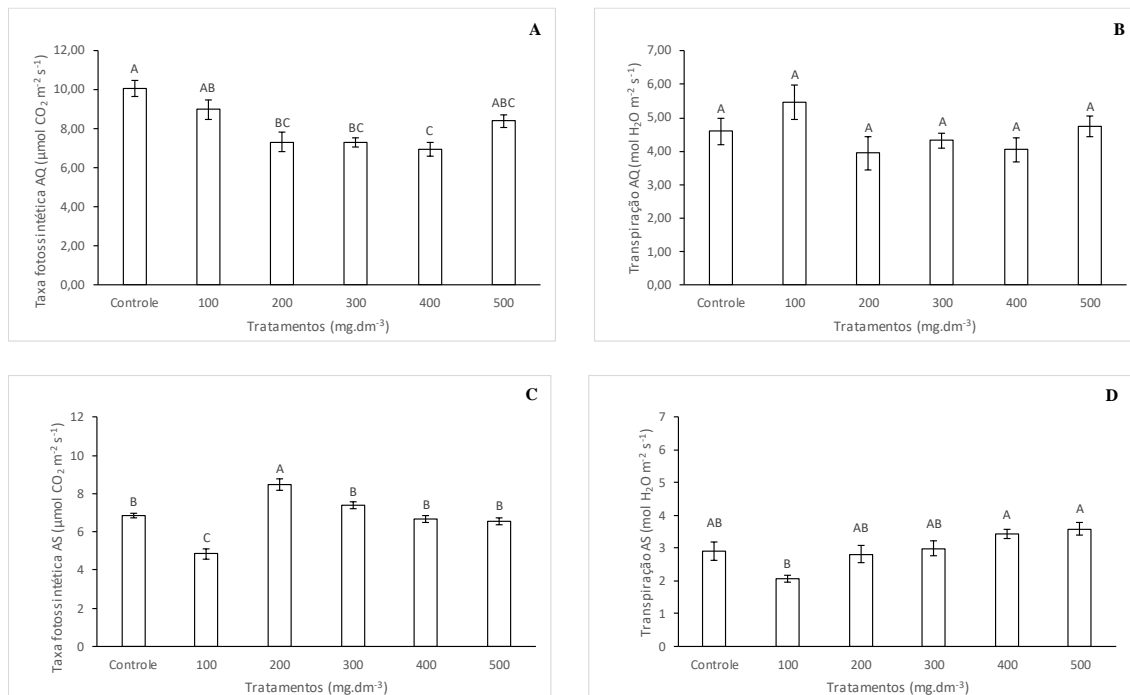
Figura 3: Taxa fotossintética após 4 meses (A), transpiração após 4 meses (B), taxa fotossintética após 6 meses (C) e transpiração após 6 meses (D), de exposição de mudas de *Inga uruguensis* em solo contaminado com Pb.



As barras representam as médias \pm erro padrão. As médias seguidas pelas mesmas letras não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de significância. Fonte: Da autora (2022).

A taxa fotossintética de *I. fagifolia* após 4 meses de exposição ao Pb (Fig. 4A) apresentou seu pico nas plantas do tratamento controle. Já a taxa fotossintética após 6 meses de exposição (Fig. 4C) mostrou uma queda nas plantas dos tratamentos controle e 100 mg.dm⁻³, sendo mais elevada nas plantas do tratamento de 200 mg.dm⁻³. A transpiração após 4 meses de exposição ao metal (Fig. 4B) não apresentou diferença entre os tratamentos, enquanto a transpiração após 6 meses de exposição (Fig. 4D), foi maior nas plantas dos tratamentos 400 e 500 mg.dm⁻³, apresentando uma redução em todos os tratamentos.

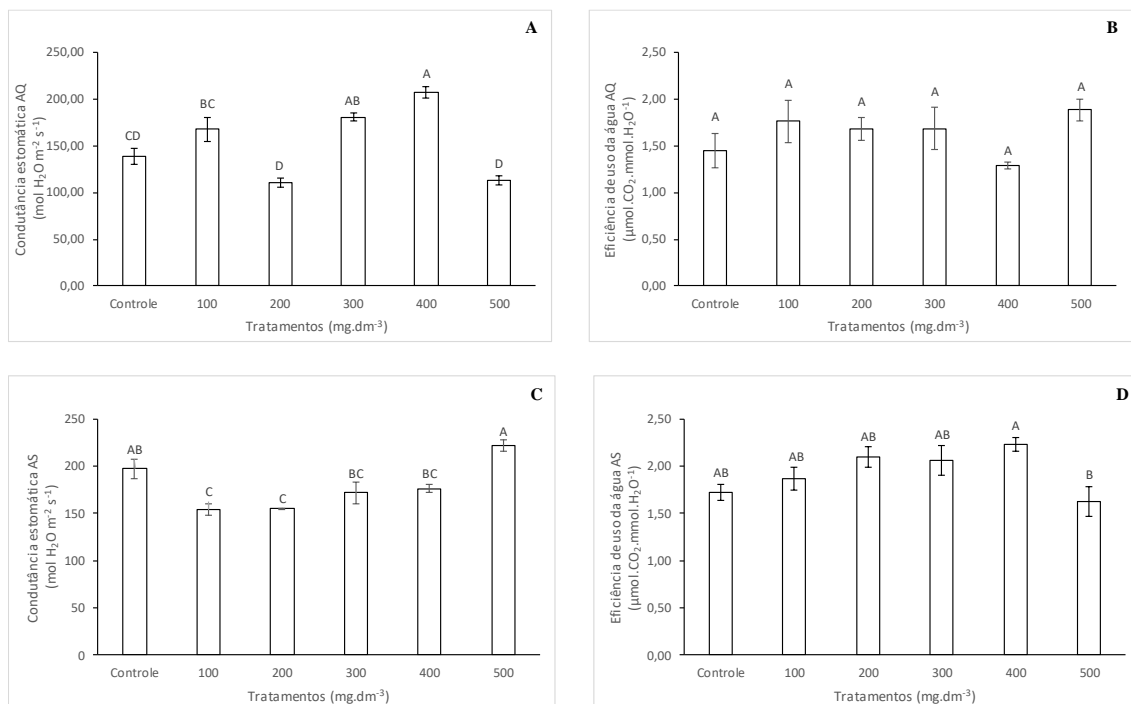
Figura 4: Taxa fotossintética após 4 meses (A), transpiração após 4 meses (B), taxa fotossintética após 6 meses (C) e transpiração após 6 meses (D) de exposição de mudas de *Inga fagifolia* em solo contaminado com Pb.



As barras representam as médias \pm erro padrão. As médias seguidas pelas mesmas letras não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de significância. Fonte: Da autora (2022).

Na Figura 5A observa-se que no período de 4 meses de exposição, houve um aumento da condutância estomática em plantas da espécie *I. uruguensis* cultivadas no tratamento 400 mg.dm⁻³, após os 6 meses de exposição (Fig. 5C), esse valor passou a ser maior no tratamento com dose mais elevada de Pb. A eficiência de uso de água (EUA) não apresentou diferença entre os tratamentos durante o período de 4 meses de exposição (Fig. 5B), porém, após 6 meses de exposição (Fig. 5D), observou-se um aumento nas plantas de todos os tratamentos, exceto nas plantas do tratamento de 500 mg.dm⁻³, que reduziu (Figura 14).

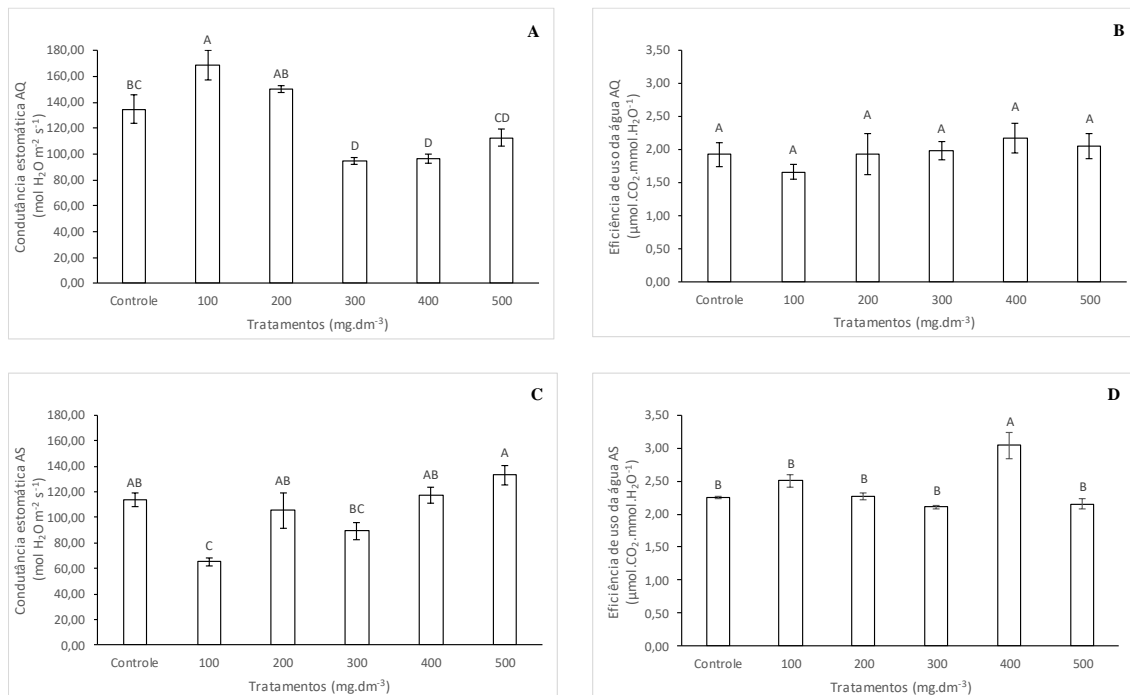
Figura 5: Condutância estomática após 4 meses (A), eficiência de uso da água após 4 meses (B), condutância estomática após 6 meses (C) e eficiência de uso da água após 6 meses (D), de exposição de mudas de *Inga uruguensis* em solo contaminado com Pb.



As barras representam as médias \pm erro padrão. As médias seguidas pelas mesmas letras não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de significância. Fonte: Da autora (2022).

As plantas da espécie *I. fagifolia*, após 4 meses de exposição (Fig. 6A), apresentaram maior condutância estomática no tratamento de 100 mg.dm⁻³, enquanto após 6 meses (Fig. 6C) esse valor sofreu uma redução nas plantas de todos os tratamentos, exceto nas cultivadas com maior dose de Pb, sendo as plantas do tratamento 500 mg.dm⁻³ as com maior valor. A eficiência de uso da água após 4 meses (Fig. 6B), apresentou um padrão semelhante ao da espécie *I. uruguensis*, não mostrando diferença entre os tratamentos, porém, após 6 meses (Fig. 6D), foi possível observar um aumento na EUA das plantas de todos os tratamentos, sendo tratamento de 400 mg.dm⁻³ o mais elevado.

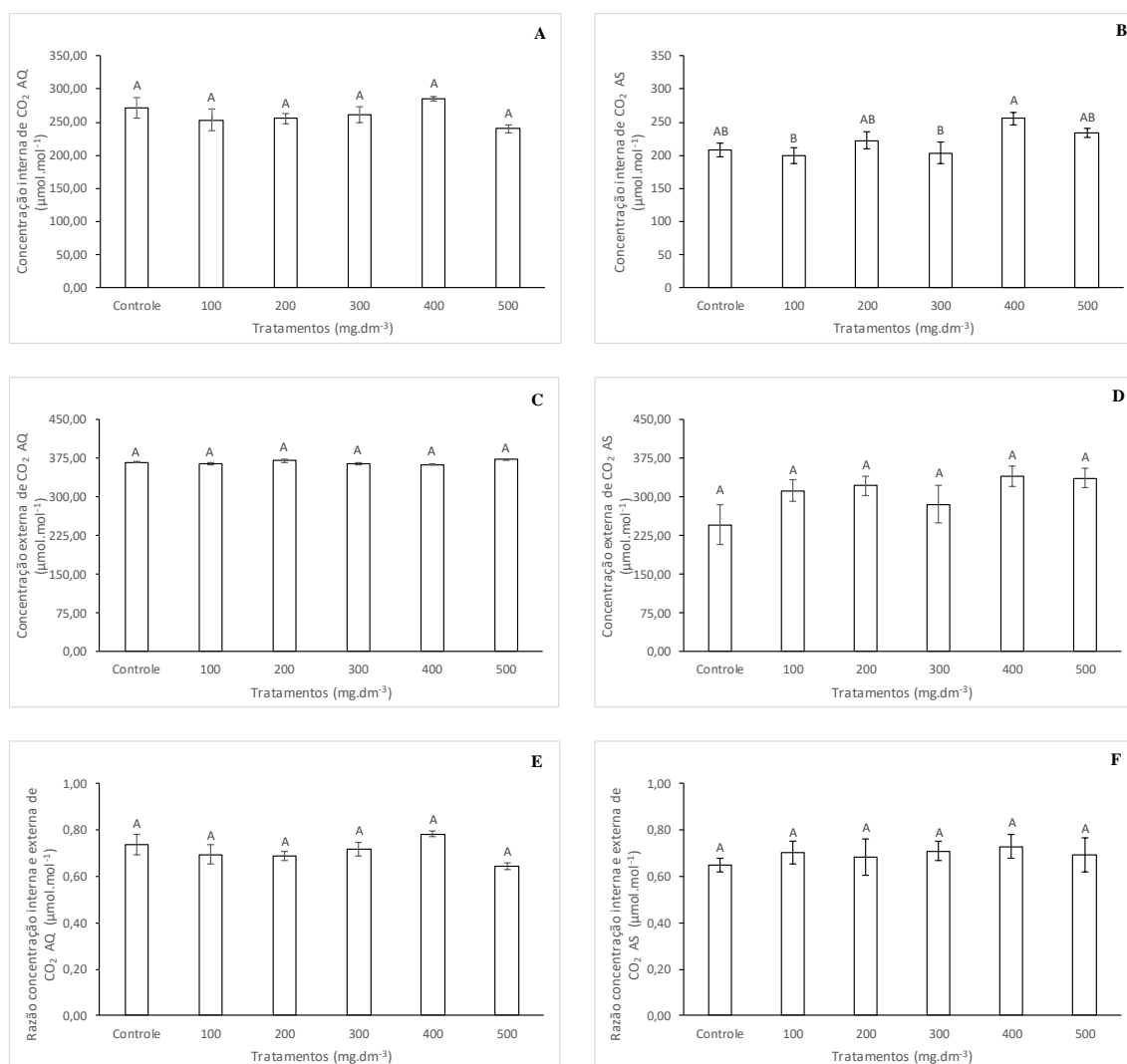
Figura 6: Condutância estomática após 4 meses (A), eficiência de uso da água após 4 meses (B), condutância estomática após 6 meses (C) e eficiência de uso da água após 6 meses (D), de exposição de mudas de *Inga fagifolia* em solo contaminado com Pb.



As barras representam as médias \pm erro padrão. As médias seguidas pelas mesmas letras não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de significância. Fonte: Da autora (2022).

Em *Inga uruguensis* a concentração interna de CO₂ após o período de 4 meses (Fig. 7A), não apresentou diferença significativa entre os tratamentos, enquanto após 6 meses, pôde-se observar uma redução nos valores em todos os tratamentos, sendo o tratamento 400 mg.dm⁻³, o com maior concentração. A concentração externa de CO₂ mostrou o mesmo padrão tanto após 4 meses, quanto após 6 meses de exposição, não apresentando diferença significativa entre os tratamentos em ambas as medidas. O mesmo foi observado para a variável razão da concentração interna e externa de CO₂.

Figura 7: Concentração interna de CO₂ após 4 meses (A), concentração interna de CO₂ após 6 meses (B), concentração externa de CO₂ após 4 meses (C), concentração externa de CO₂ após 6 meses (D), razão entre a concentração interna e externa de CO₂ após 4 meses (E) e razão entre a concentração interna e externa de CO₂ após 6 meses (F) de exposição de mudas de *Inga uruguensis* em solo contaminado com Pb.

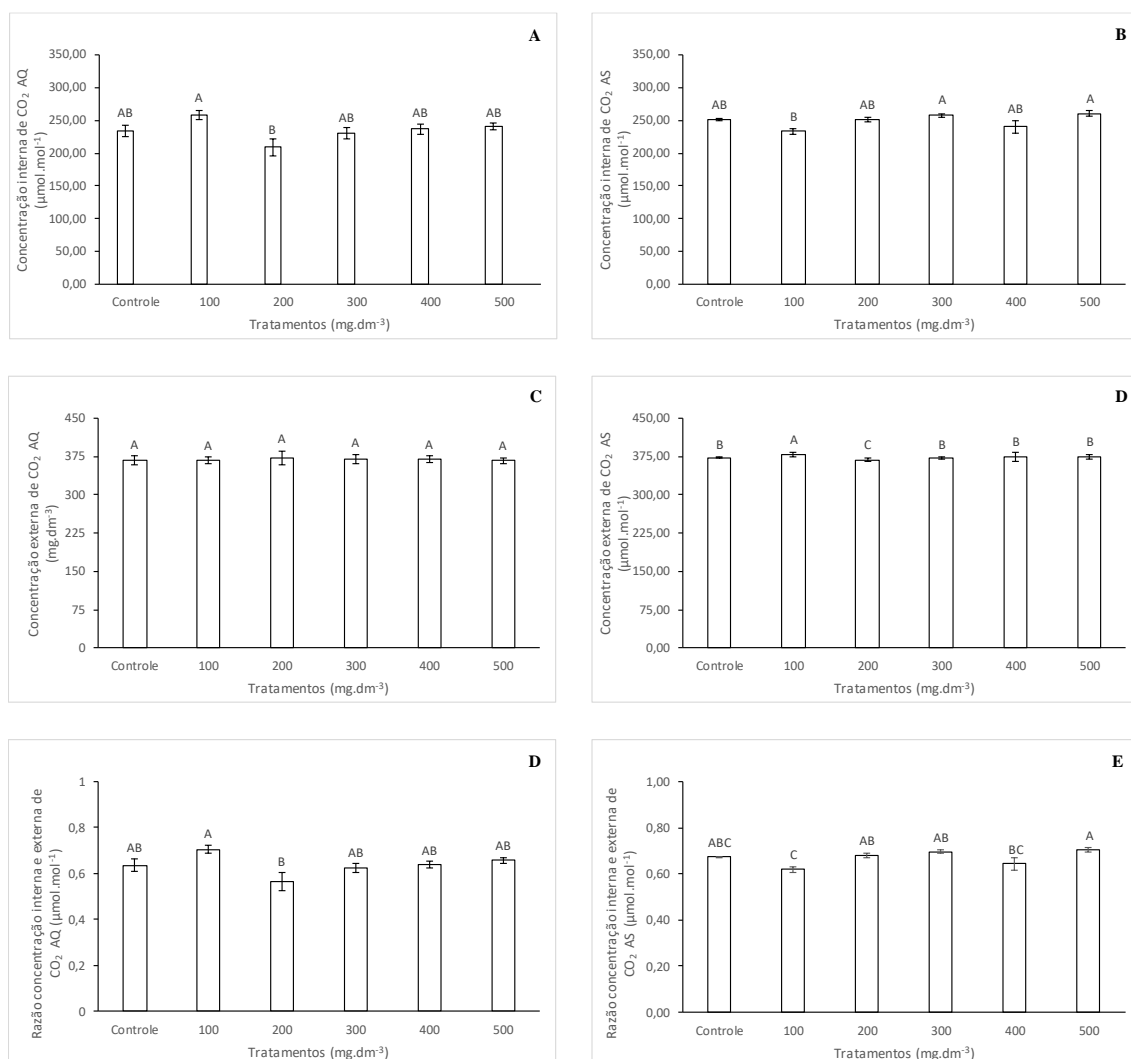


As barras representam as médias \pm erro padrão. As médias seguidas pelas mesmas letras não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de significância. Fonte: Da autora (2022).

A concentração interna de CO₂ das plantas de *I. fagifolia* foi influenciada pelas doses de Pb tanto após 4 meses de exposição (Fig. 8A), quanto após 6 meses (Fig. 8B), não apresentando grandes variações entre os dois períodos de tempo. O mesmo ocorreu com a concentração externa de CO₂ desses vegetais após o período de 6 meses (Fig.

8D), e com a razão entre a concentração interna e externa de CO₂ em ambos os tempos (Fig. 8E e 8F).

Figura 8: Concentração interna de CO₂ após 4 meses (A), concentração interna de CO₂ após 6 meses (B), concentração externa de CO₂ após 4 meses (C), concentração externa de CO₂ após 6 meses (D), razão entre a concentração interna e externa de CO₂ após 4 meses (E) e razão entre a concentração interna e externa de CO₂ após 6 meses (F) de exposição de mudas de *Inga fagifolia* em solo contaminado com Pb.



As barras representam as médias \pm erro padrão. As médias seguidas pelas mesmas letras não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de significância. Fonte: Da autora (2022).

3.4 Discussão

A presença de metais pesados pode provocar redução no conteúdo de pigmentos fotossintetizantes o que, tende a afetar a fotossíntese (TANYOLAC *et al.*, 2007). Além de provocarem danos à membrana dos tilacóides, metais tóxicos tais como o chumbo, substituem o magnésio central presente na molécula de clorofila provocando declínio no teor desses pigmentos (PRASAD, 1998). Devido à redução na atividade de enzimas envolvidas na síntese de clorofila, a toxicidade por Pb pode inibi-la (MORSCH *et al.*, 2002), aliado a isso, soma-se o fato de que o Pb interfere na absorção de elementos essenciais como Fe e Mg, reduzindo a síntese de clorofila (NAS e ALI, 2018), sendo a clorofila *b* mais afetada do que a clorofila *a* (VODNIK *et al.*, 1999). Outros pigmentos prejudicados pelo Pb são os carotenoides, pigmentos acessórios que evitam prejuízos no fotossistema II, ao protegerem as clorofilas de danos foto-oxidativos (MIDDLETON e TERAMURA, 1993). Moraes (2011), ao estudar os efeitos do acetato de chumbo em plantas de tomate, observou uma redução drástica nos teores de clorofilas e carotenoides. A redução no teor de clorofila também foi observada por Ekmekçi (2009) em plantas de milho (*Zea mays* L.). O teor de clorofila *a* nas mudas da espécie *I. uruguensis*, corroborou com os dados encontrados na literatura, mostrando uma redução quando exposta ao tratamento de 500 mg.dm⁻³. Com relação aos carotenoides, pode-se notar que *I. fagifolia* apresentou um aumento progressivo na síntese desse pigmento, conforme aumentaram as concentrações de Pb no solo. De acordo com Singh *et al.* (2006), de forma geral, o aumento nos teores de carotenoides nas plantas, está relacionado com o aumento da tolerância ao estresse oxidativo.

Os compostos fenólicos estão entre os principais antioxidantes vegetais, juntamente com os carotenoides e as vitaminas C e E, desempenhando um importante papel na proteção celular devido a sua capacidade de sequestrar ou inibir espécies reativas de oxigênio (ERO) e quelar metais pesados por hidroxila (-OH) e ácido carboxílico (-COOH), podendo ser um mecanismo de defesa ao estresse causado por metais tóxicos (ALI *et al.* 2017; ALI; JAIN 2004; SYTAR *et al.* 2013). Chen *et al.* (2019) ao estudar o metabolismo fenólico de *Kandelia obovata* sob estresse de Cd e Zn constatou um aumento nos compostos fenólicos. Em *I. uruguensis* foi observado o efeito contrário, uma vez que a taxa de compostos fenólicos reduziu conforme as concentrações de Pb aumentaram.

A redução na produtividade vegetal pode estar relacionada à redução na atividade fotossintética, sendo assim, a verificação das trocas gasosas é uma ferramenta importante na determinação da adaptação das plantas a certos ambientes de cultivo (PEIXOTO *et al.*, 2002; PAIVA *et al.*, 2005). Em plantas C3, o Pb pode afetar a atividade da enzima RuBisCO (ASSCHE e CLIJSTERS 1990), restringir a síntese de clorofila, plastoquinona e carotenoides, e inibir a atividade de enzimas do ciclo de Calvin (STEFANOV *et al.*, 1995), causando uma redução na taxa fotossintética (POURRUT *et al.* 2011) e conseqüentemente provocando um aumento na concentração de CO₂ interno (ASSCHE; CLIJSTERS, 1990). A espécie *Schizolobium amazonicum*, quando submetida a exposição ao cádmio, teve sua taxa fotossintética diminuída a medida que as doses do metal aumentavam (SANTOS, 2018). Em *I. uruguensis* e em *I. fagifolia*, a redução fotossintética foi observada após o período de 4 meses de exposição, apresentando maior taxa nas plantas do controle e menor taxa nas plantas do tratamento 500 mg.dm⁻³, respectivamente. Após 6 meses, em *I. uruguensis* houve uma redução na taxa fotossintética das plantas de todos os tratamentos, exceto nas plantas dos tratamentos 400 e 500 mg.dm⁻³, enquanto em *I. fagifolia* houve uma redução na taxa do controle, contrariando os dados obtidos na literatura.

Kastori *et al.* (2008) ao estudarem as conseqüências da exposição de *Helianthus annuus* L ao Pb, revelaram que altas concentrações de metal provocaram redução na taxa de transpiração. Esse mesmo resultado foi obtido por Kosobrukhov *et al.* (2004), onde a presença de Pb (500 e 2000 mg.kg⁻¹ Pb) reduziu as taxas de transpiração em *Plantago major*. O Pb também pode promover a síntese de ácido absícico (ABA), fitohormônio que induz o fechamento estomático, resultando em uma diminuição da transpiração (ROELFSEMA e HEDRICH 2005; ATICI *et al.* 2005). Em *I. fagifolia* a taxa de transpiração aumentou nas plantas expostas às doses de 400 e 500 mg.dm⁻³, após 6 meses de exposição, diferentemente dos dados encontrados na literatura. Em *I. uruguensis*, apesar do controle apresentar maior taxa de transpiração após 6 meses, ao comparar essa medida com a tirada em 4 meses de exposição, observou-se uma redução da transpiração nas plantas de todos os tratamentos, exceto nas do tratamento 500 mg.dm⁻³.

De forma geral, plantas quando submetidas a algum tipo de estresse tendem a reduzir a condutância estomática e a transpiração e aumentar a eficiência de uso da água (DALASTRA *et al.*, 2014). Quando expostas ao Pb, podem ter uma redução na

plasticidade da parede celular, fazendo as células guarda perderem pressão de turgor e os estômatos fecharem (PINHO; LADEIRO, 2012). Em um estudo com dois genótipos de *Zea mays*, Sajid (2011) concluiu que a taxa fotossintética e eficiência de uso da água (EUA) mostraram redução significativa após a aplicação de Pb (0.01, 0.1, e 1.0 mg.L⁻¹ de PbSO₄), enquanto a taxa de transpiração, a razão Ci/Ca e a condutância estomática aumentaram. Alsokari e Aldesuquy (2011) constataram que em altas concentrações de metais pesados, incluindo Pb, houve uma redução no conteúdo relativo de água e da eficiência do uso da água (EUA) em plantas de trigo. No presente estudo não foram observadas diferenças de EUA entre os tratamentos nos primeiros 4 meses de cultivo, porém, após 6 meses, *I. uruguensis* apresentou uma redução de EUA nas mudas expostas ao tratamento 500 mg.dm⁻³, e *I. fagifolia* apresentou um aumento nas mudas expostas ao tratamento de 400 mg.dm⁻³.

Segundo Daley *et al.* (1989) a redução da condutância estomática (Gs) pode limitar a taxa de retenção de CO₂ e devido ao seu consumo pela atividade fotossintética, diminuir a concentração interna de CO₂ (Ci) nas plantas. Ambas as arbóreas estudadas mostraram um aumento da Gs, não apresentando redução da Ci. De forma geral, em condições adequadas de luz e ausência de estresse, altas concentrações de Ci mantém a taxa fotossintética elevada, enquanto em concentrações de Ci muito baixas a fotossíntese é limitada (DALASTRA *et al.*, 2014). De acordo com Taiz e Zeiger (2006), a produtividade de uma planta pode ser analisada como o produto da energia solar interceptada e do CO₂ fixado durante um período, explicitando a importância de analisar Ci.

3.5 Conclusão

Mesmo sendo um dos principais danos provocados no organismo vegetal, as crescentes doses de chumbo não prejudicaram a síntese de clorofila, com exceção da clorofila *a* de mudas de *Inga uruguensis* expostas ao tratamento 500 mg.dm⁻³. Ainda sobre pigmentos fotossintetizantes, em mudas de *Inga fagifolia* os carotenoides apresentaram um aumento progressivo, de acordo com a dose de chumbo em que estavam expostas, podendo indicar uma resposta frente ao estresse oxidativo provocado pela presença de metal em seus tecidos. Em *I. uruguensis* foi observada uma redução na

síntese de compostos fenólicos e na eficiência de uso da água. A condutância estomática quando analisada após o período de 6 meses, apresentou uma resposta semelhante nas mudas de ambas as espécies, aumentando quando expostas à maior dose de chumbo. Em consequência, as arbóreas não apresentaram redução na concentração interna de CO₂. Pode-se concluir que os parâmetros fotossintéticos sofrem alterações nos seus componentes, especialmente sob ação de maiores doses de chumbo e dentre as duas espécies estudadas nesse experimento, *I. fagifolia* foi a menos afetada.

REFERÊNCIAS

- ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. *In*: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V. V. H.; SCHAEFER, C. E. G. R. **Tópicos em Ciência do Solo**. Viçosa-MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. v. 1. p. 299-352, 2000.
- ALI, I.; ALOTHMAN, Z. A.; ALWARTHAN, A. Uptake of propranolol on ionic liquid iron nanocomposite adsorbent: kinetic, thermodynamics and mechanism of adsorption. **J. Mol. Liq.**, Amsterdam, v. 236, p. 205 – 213, 2017.
- ALI, I.; JAIN, C. K. Advances in arsenic speciation techniques. **Int. J. Environ. Anal. Chem.**, Abingdon, v. 84, p. 947-964, 2004.
- ALSOKARI, S. S.; ALDESUQUY, H. S. Synergistic Effect of Polyamines and Waste Water on Leaf Turgidity, Heavy Metals Accumulation in Relation to Grain Yield. **Journal of Applied Sciences Research**, Jordan, v. 7, n. 3, p. 376-384, 2011.
- ANDRADE, S. A. L.; ABREU, C. A.; DE ABREU, M. F.; SILVEIRA, A.P.D. Influence of lead additions on arbuscular mycorrhiza and Rhizobium symbioses under soybean plants. **Appl. Soil Ecol.**, Amsterdam, v. 26, p. 123-131, 2004.
- ASSCHE, F.; CLIJSTERS, H. Effects of metals on enzyme activity in plants. **Plant Cell Environ.**, Chichester, v. 13, p. 195–206, 1990.
- ATICI, O.; AGAR, G.; BATTAL, P. Changes in phytohormone contents in chickpea seeds germinating under lead or zinc stress. **Biol. Plant.**, Prague, v. 49, p. 215–222, 2005.
- BIELESKI, R. L.; TURNER, N. A. Separation and estimation of amino acids in crude plant extracts by thin-layer electrophoresis and chromatography. **Analytical Biochemistry**, Philadelphia, v. 17, p. 278-293, 1966.
- BOSSO, S.T.; ENZWELLER, J. Ensaios para determinar a (bio)disponibilidade de chumbo em solos contaminados: revisão. **Quim. Nova**, São Paulo, v. 31, n. 2, 394-400, 2008.

BRUNET, J. L.; VARRAULT, G.; ZUILY-FODIL, Y.; REPELLIN, A. Accumulation of lead in the roots of grass pea (*Lathyrus sativus* L.) plants triggers systemic variation in gene expression in the shoots. **Chemosphere**, Oxford, v. 77, p. 1113-1120, 2009.

CAIRES, S. M.; FONTES, M. P. F.; FERNANDES, J. C. L.; FONTES, R. L. F. Desenvolvimento de mudas de cedro-rosa em solo contaminado com cobre: tolerância e potencial para fins de fitoestabilização do solo. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v.35, n.6, p.1181-1188, 2011.

CETESB. **Valores orientadores para solos e águas subterrâneas no estado de São Paulo**. São Paulo: Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 2016. Disponível em: <https://www.cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/2014/12/DD-256-2016-E-ValoresOrientadores-Dioxinas-e-Furanos-2016-Intranet.pdf>. Acesso em: 02 abr. 2022.

CHEN, S.; WANG, Q.; LU, H.; LI, J.; YANG, D.; LIU, J.; YAN, C. Phenolic metabolism and related heavy metal tolerance mechanism in *Kandelia Obovata* under Cd and Zn stress. **Ecotox. and Environ. Safety**, Philadelphia, v. 169, p. 134-143, 2019.

DALASTRA, G. M.; ECHER, M. M.; GUIMARÃES, V. F.; HACHMANN, T. L.; INAGAKI, A. M. Trocas gasosas e produtividade de três cultivares de meloeiro conduzidas com um e dois frutos por planta. **Bragantia**, Campinas, v. 73, n. 4, p.365-371, 2014.

DALEY, P.F.; RASCHKE, K.; BALL, J.Y.; BERRY, J.A. Topography of photosynthetic activity of leaves obtained from video images of chlorophyll fluorescence. **Plant Physiology**, Rockville, v. 90, p. 1233-1238, 1989. DOI: <http://dx.doi.org/10.1104/pp.90.4.1233>.

EKMEKC, I.Y.; TANYOLAC, D.; AYHAN, B. A crop tolerating oxidative stress induced by excess lead: maize. **Acta Physiologiae Plantarum**, Heidelberg, v. 31, p. 319-330, 2009.

FACCHINELLI, A.; SACCHI, E.; MALLIN L. Multivariate statistical and GIS-based approach to identify heavy metal sources in soils. **Environmental Pollution**, Oxford, v. 114, n. 3, p. 313-324, 2001. DOI: 10.1016/s0269-7491(00)00243-8.

GALLARDO, L.F.; NOGALES, R. Effect of the application of town refuse compost on the soil plant system: a review. **Biological wasters**, [s. l.], v. 19, p. 35-62, 1987.

GOPAL, R.; RIZVI, A. H. Excess lead alters growth, metabolism and translocation of certain nutrients in radish. **Chemosphere**, Oxford, v. 70, 1539-1544, 2008.

HISCOX, J.D.; ISRAELSTAM, G.F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 57, p. 1332-1334, 1979.

HUE, N.V.; RANJITA, S.A. Sewage sludges in Hawaii: chemical composition and reactions with soils and plants. **Water, Air and Soil Pollution**, Dordrecht, v. 72, p. 265-283, 1994.

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

- KASTORI, R.; PETROVIC, M.; PETROVIC, N. Effect of excess lead, cadmium, copper, and zinc on water relations in sunflower. **J. Plant Nutr.** New York, v. 15, p. 2427–2439, 2008.
- KOSOBROUKHOV, A.; KNYAZEVA, I.; MUDRIK, V. *Plantago major* plants responses to increase content of lead in soil: growth and photosynthesis. **Plant Growth Regul.**, Dordrecht, v. 42, p. 145-151, 2004.
- MIDDLETON, E.M.; TERAMURA, A.H. The role of flavonol glycosides and carotenoids in protecting soybean from UV-B damage. **Plant Physiology**, Rockville, v.103, p.741-752, 1993.
- MONQUERO, P. A., CÔRREA, M. C., BARBOSA, L. N., GUTIERREZ, A., ORZARI, I.; HIRATA, A. C. S. Seleção de espécies de adubos verdes visando à fitorremediação de Diclosulam. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 31, n.1, p. 127-135, 2013. DOI: doi.org/10.1590/S0100-83582013000100014.
- MORAES, C. L. **Alterações bioquímicas, fisiológicas e ultra estruturais em sementes e plantas de tomate expostas ao chumbo**. 2011. 70 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2011.
- MOREIRA, V.; JUSTINO, G. C.; CAMARGOS, L. S.; AGUIAR, L. F. Características adaptativas da associação simbiótica e da fixação biológica do nitrogênio molecular em plantas jovens de *Lonchocarpus muehlbergianus* Hassl., uma leguminosa arbórea nativa do Cerrado, **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 65, n.2, p. 517-525, 2014.
- MORSCH, V.M.; SCHETINGER, M.R.C.; MARTINS, A.F.; ROCHA, J.B.T. Effects of cadmium, lead, mercury and zinc on δ -aminolevulinic acid dehydratase activity from radish leaves. **Biology Plant**, [s. l.], v. 45, p. 85-89, 2002.
- NAS, F. S.; ALI, M. The effect of lead on plants in terms of growing and biochemical parameters: a review. **MOJ Eco Environ Sci**, [s. l.], v. 3, n. 4, p. 265-268, 2018. DOI: 10.15406/mojes.2018.03.00098.
- PAIVA, A.S.; FERNANDES, E.J.; RODRIGUES, T.J.D.; TURCO, J.R.P. Condutância estomática em folhas de feijoeiro submetido a diferentes regimes de irrigação. **Engenharia Agrícola**, Campina Grande, v. 25, p.161- 169, 2005.
- PEIXOTO, P.H.P.; MATTA, F.M.; CAMBRAIA, J. Responses of the photosynthetic apparatus to aluminum stress in two sorghum cultivars. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 25, p. 821-832, 2002.
- PINHO, S.; LADEIRO, B. Phytotoxicity by lead as heavy metal focus on oxidative stress. **J. Bot.**, [s. l.], Le 145, 596–605, 2012.
- PRASAD, M. N. V. Metal-biomolecule complex in plants: Occurrence, function and applications. **Analysis**, Oxford, v. 26, p. 25-27, 1998.
- POURRUT, B.; SHAHID, M.; DUMAT, C.; WINTERTON, P.; PINELLI, E. Lead Uptake, toxicity, and detoxification in plants. **Reviews of Environ Contamin and Toxicol**, New York, v. 213, p. 113-136, 2011.

QUFEI, L.; FASHUI, H.. Effects of Pb²⁺ on the structure and function of photosystem II of *Spirodela polyrrhiza*. **Biol. Trace Elem. Res.**, Heidelberg, v. 129, p. 251-260, 2009.

R Core Team (2019) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Viena, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.

RAIJ, B. V.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; GUAGGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2001. p. 285.

ROELFSEMA, M. R. G.; HEDRICH, R. In the light of stomatal opening: new insights into 'the Watergate'. **New Phytol**, Chichester, v. 167, n. 3, p. 665–691, 2005.

SAJID, M.; AHMAD, A.; ASHRAF, M.; TABASSAM, Q.; HUSSAIN, M.; FIRDOUS, H. Lead (Pb)-Induced Regulation of Growth, Photosynthesis, and Mineral Nutrition in Maize (*Zea mays* L.) Plants at Early Growth Stages. **Biological Trace Element Research**, v 144, p. 1229–1239, 2011.

SANTOS, G. A. **Trocas Gasosas, Crescimento e Comportamento Bioquímico em Plantas Jovens de Paricá (*Schizolobium Amazonicum* Huber ex Ducke) em Diferentes Concentrações de Cádmio**. 2018. 70 f. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2018.

SANTOS, N. M. C.; COSTA, V. A. M.; ARAÚJO, F. V.; ALENCAR, B. T. B.; RIBEIRO, V. H. V.; OKUMURA, F.; SIMEONE, M. L. F.; SANTOS, J. B. Phytoremediation of Brazilian tree species in soils contaminated by herbicides. **Environmental Science and Pollution Research**, Heidelberg, v. 25, p. 27561–27568, 2018.

SINGH, S.; EAPEN, S.; D'SOUZA, S. F. Cadmium accumulation and its influence on lipid peroxidation and antioxidative system in an aquatic plant, *Bacopa monnieri* L. **Chemosphere**, Oxford, v. 62, n. 2, p. 233-241, 2006.

SHAHID, M.; PINELLI, E.; POURRU, T. B.; SILVESTRE, J.; DUMAT, C. Lead-induced genotoxicity to *Vicia faba* L. roots in relation with metal cell uptake and initial speciation. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, Philadelphia, v. 74, p. 78-84, 2011.

STEFANOV, K.; SEIZOVA, K.; POPOVA, I.; PETKOV, V.; KIMENOV, G.; POPOV, S. Effects of lead ions on the phospholipid composition in leaves of *Zea mays* and *Phaseolus vulgaris*. **Journal of Plant Physiology**, Muenchen, v. 147, n. 2, p. 243–246, 1995.

SYTAR, O.; KUMAR, A.; LATOWSKI, D.; KUCZYNSKA, P.; PRASAD, M. N. V. Heavy metal-induced oxidative damage, defense reactions, and detoxification mechanisms in plants. **Acta Physiol. Plant.**, Heidelberg, v. 35, p. 985-999, 2013.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, p.174-219, 2006.

TANYOLAC, D.; EKMEKCI, Y.; ÜNALAN, S. Changes in photochemical and antioxidant enzyme activities in maize (*Zea mays* L.) leaves exposed to excess copper. **Chemosphere**, Oxford, v. 67, p. 89–98, 2007.

VODNIK, D.; JENTSCHKE, G.; FRITZ, E.; GOGOLA, N.; GODBOLD, D. L. Root-applied cytokinin reduces lead uptake and affects its distribution in Norway spruce seedlings. **Physiology of Plant**., Rockville, v. 106, p. 75, 1999.

WELLBURN, A. R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal Plant Physiology**, [s. l.], v. 144, p. 307-313, 1994.

WENZEL, W. W. Rhizosphere processes and management in plant-assisted bioremediation (phytoremediation) of soils. **Plant and Soil**., The Hague, v. 321, n. 1, p. 385–408, 2009. DOI: 10.1007/s11104-008-9686-1.

WERYSZKO-CHMIELEWSKA, E.; CHWIL, M. Lead-induced histological and ultra-structural changes in the leaves of soybean (*Glycine max* (L.) Merr). **Soil Sci. Plant Nutr.**, Tokyo, v. 51, p. 203-212, 2005.

ZALEWSKA, M.; NOGALSKA, A. Phytoextraction potential of sunflower and white mustard plants in zinc-contaminated soil. **Chilean Journal of Agricultural Research**., Chillán, v. 74, n.4, p. 485-489, 2014. DOI: 10.4067/S0718-58392014000400016.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A contaminação por metais pesados é uma preocupação crescente, que vem ganhando mais atenção. O chumbo é um metal altamente tóxico, tido como o principal contaminante do solo, mas ainda assim possui vasta utilização. Sua presença no ambiente, dependendo da concentração, pode inviabilizar áreas e provocar a morte da cobertura vegetal, com consequente erosão e lixiviação do solo, gerando grande impacto social, ambiental e econômico.

A fitorremediação, técnica que se baseia na utilização de plantas para conter ou remover contaminantes do solo, vem demonstrando resultados positivos na recuperação de áreas contaminadas. Leguminosas arbóreas apresentam crescimento rápido e alta produção de biomassa, mostrando promissora utilização nesse processo.

Inga uruguensis e *Inga fagifolia* são duas leguminosas arbóreas nativas, que apresentaram tolerância inicial quando expostas ao chumbo. Ambas as espécies absorveram o metal, retendo-o majoritariamente em suas raízes, conferindo-lhes assim, o perfil de fitoestabilizadoras. Algumas alterações foram observadas nos parâmetros

fotossintéticos, em especial na espécie *Inga uruguensis*, muito provavelmente pelo fato de essa espécie ter se mostrado mais eficiente na remoção de chumbo, acumulando maior quantidade desse metal em seus tecidos. Ainda assim, não houve danos no crescimento dessas mudas e a concentração interna de CO₂ também não foi afetada.

Estudos sobre a utilização de arbóreas nativas, bem como de *Inga uruguensis* e *Inga fagifolia*, na técnica de fitorremediação apresentam lacunas a serem preenchidas, motivando a ampliação de trabalhos que tragam mais informações e expandam os conhecimentos nessa área. O presente estudo trouxe uma perspectiva inicial do comportamento dessas espécies quando expostas a solo contaminado por chumbo, abrindo caminhos para que novas pesquisas sejam feitas. A realização de estudos posteriores que evidenciem a dinâmica de *Inga uruguensis* e *Inga fagifolia* em exposição por um maior período de tempo ao metal citado, se faz necessária para reforçar o potencial fitorremediador das referidas espécies e seu papel na recuperação de áreas contaminadas.