

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROBIOLOGIA**

Victória Martini Sasso

**POTENCIAL FITORREMEIADOR PARA CROMO DE *Handroanthus
chrysotrichus* (Mart. ex DC.) Mattos E *Handroanthus heptaphyllus* (Vell.)
Mattos**

Santa Maria, RS.
2020

Victória Martini Sasso

**POTENCIAL FITORREMEIADOR PARA CROMO DE *Handroanthus chrysotrichus*
(Mart. ex DC.) Mattos E *Handroanthus heptaphyllus* (Vell.) Mattos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção de grau de **Mestre em Agrobiologia**

Orientador: Prof^a Dr^a Luciane Almeri Tabaldi

Santa Maria, RS
2020

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Sasso, Victória

POTENCIAL FITORREMEIADOR PARA CROMO DE *Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC.) Mattos E *Handroanthus heptaphyllus* (Vell.) Mattos / Victória Sasso.- 2020.
66 p.; 30 cm

Orientadora: Luciane Almeri Tabaldi
Coorientadora: Camila Peligriontti Tarouco
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, RS, 2020

1. Cromo 2. Toxidez 3. Ipê-roxo 4. Ipê-amarelo 5.
Fitorremediação I. Almeri Tabaldi, Luciane II.
Peligriontti Tarouco, Camila III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFPM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

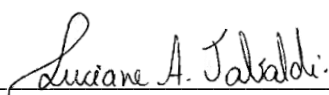
Declaro, VICTÓRIA SASSO, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Victória Martini Sasso

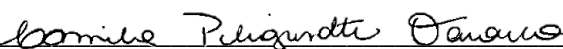
**POTENCIAL FITORREMEIADOR PARA CROMO DE *Handroanthus chrysotrichus*
(Mart. ex DC.) Mattos E *Handroanthus heptaphyllus* (Vell.) Mattos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção de grau de **Mestre em Agrobiologia**

Aprovado em 30 de janeiro de 2020:



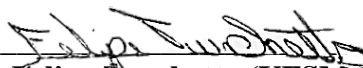
Luciane Almeri Tabaldi, Dra. (UFSM)
(Presidente/Orientadora)



Camila Peligriontti Tarouco, PhD. (UFSM)
Co-orientador



Cleber Witt Saldanha (SEAPDR)



Felipe Turchetto (UFSM-FW)

Santa Maria, RS

2020

DEDICATÓRIA

Dedico este aos que sempre acreditaram em mim. Minha mãe Jucimara, meu pai Paulo, minha irmã Etianne e a minha companheira Olga Teodora. Nutro um amor incondicional por vocês.

AGRADECIMENTOS

Quero iniciar meus agradecimentos, sendo grata a vida e o fato de estar viva, assim como ao universo, planeta Terra e as energias que me ajudaram ao longo desses anos à resistir, persistir e sobreviver aos infortúnios do cotidiano.

Sou extremamente grata a minha família, minha mãe Jucimara, meu pai Paulo e minha irmã Etianne, que sempre primaram pela minha educação, além de me apoiar, ensinar e guiar para o caminho do bem e da coragem. Obrigada pela força, carinho e confiança que depositaram em mim durante minha trajetória, saibam que os amo, admiro e aceito com suas peculiaridades.

Agradeço em especial a minha parceira de vida Olga Teodora, que me ajudou em todos os momentos desse mestrado, todos os experimentos, análises e estudos. Obrigada por fazer parte da minha vida, pelos momentos em que me vi em desespero e em ti encontrei calma e consolo, pela família que juntas construímos e por me ensinar o que é amor todos os dias.

Demonstro também meu reconhecimento a Universidade Federal de Santa Maria, que assim como a mim, concede diariamente a oportunidade de aprendizagem, tanto profissional quanto pessoal, a milhares de pessoas. Estendo também a todos os professores e funcionários da instituição que me ensinaram e contribuíram nessa conquista. Mas especialmente a minha orientadora Luciane Tabaldi, a quem admiro profundamente, que me ensinou muito mais que fisiologia vegetal. Tu és um grande exemplo a ser seguido, sua dedicação, visão, entusiasmo e didática foram elementos essenciais na minha evolução nos últimos oito anos.

Muito obrigada aos colegas de laboratório que me deram assistência, a Camila Tarouco que me orientou e colaborou nesse trabalho, a Gerâne que me ajudou nas aulas. Ao Charles e os jovens IC's Luana, Gabriele e Franco, que me auxiliaram na reta final dos meus experimentos. Mas principalmente agradeço a meus bons amigos Jover e Jéssica, obrigada pelo apoio em todas as etapas dessa conquista, vocês são um grande presente que a pós-graduação me trouxe. Agradeço a Franciele e o Bruno amigos que foram de suma importância nessa caminhada.

O presente trabalho foi realizado com o apoio do Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES -Brasil. Agradeço esta instituição pelo apoio financeiro e, principalmente pelo interesse nesse estudo.

Por fim, meu muito obrigada a todos que de alguma forma colaboraram no desenvolvimento desse trabalho.

Para cultivar a sabedoria, é preciso força interior. Sem crescimento interno, é difícil conquistar a autoconfiança e a coragem necessárias. Sem elas, nossa vida se complica. O impossível torna-se possível com a força de vontade.

(Dalai Lama)

RESUMO

ESTUDO DO POTENCIAL FITORREMEIADOR PARA CROMO DE *Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC.) Mattos e *Handroanthus heptaphyllus* (Vell.) Mattos

O Brasil e o mundo vêm enfrentando problemas sérios de contaminação dos solos na última década. Dentre os numerosos contaminantes estão os metais pesados, estes por sua vez, podem ser ou não essenciais para o desenvolvimento humano e vegetal. Entre os essenciais encontra-se o cromo (Cr) que em concentrações elevadas é causador de sérios problemas a saúde humana. Com parte dos solos utilizados na agricultura contaminados é necessário o conhecimento de técnicas de remediação simples, eficientes e de baixo custo, como a fitorremediação. Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o potencial fitorremediador das espécies *Handroanthus chrysotrichus* (Ipê-amarelo) e *Handroanthus heptaphyllus* (Ipê-roxo) e o efeito do Cr na fisiologia e bioquímica das plantas. Os experimentos foram realizados na casa de vegetação e no Laboratório de Fisiologia Vegetal e Nutrição de Plantas pertencente ao Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), campus de Santa Maria (RS). Parte das sementes de ambas as espécies passaram por teste de germinação *in vitro* sob as condições dos tratamentos de 0, 50, 100, 150 e 200 mg L⁻¹ de Cr⁶⁺, enquanto outras foram germinadas e após crescimento inicial encaminhadas para sistema hidropônico em casa de vegetação e submetidas aos mesmos tratamentos. Após a exposição aos diferentes tratamentos, foi realizada a coleta de amostras e análise das variáveis morfológicas (biomassa fresca e seca, altura de plantas, variáveis biométricas do sistema radicular, área foliar e número de folhas), bioquímicas (enzimas antioxidantes, conteúdo de peróxido de hidrogênio, peroxidação lipídica e pigmentos fotossintéticos) e os parâmetros fotossintéticos. Foram observados sintomas de toxidez nas duas espécies estudadas, principalmente, em concentrações superiores a 100 mg L⁻¹. A germinação de *H. heptaphyllus* foi menos afetada que a de *H. chrysotrichus*, entretanto o Ipê-amarelo apresentou maior tolerância a presença de Cr na área radicular e foliar, no diâmetro médio das raízes, na atividade da enzima peroxidase, na peroxidação lipídica e na presença de H₂O₂ nas raízes, na eficiência do uso da água e na concentração interna de CO₂. É possível afirmar que as duas espécies podem ser utilizadas como bioindicadoras da contaminação por altas concentrações de Cr. Mesmo ativando seus mecanismos de defesa, a superação dos danos causados em concentrações acima de 100 mg L⁻¹ não foi visualizada, contudo sua utilização em projetos de recuperação de áreas contaminadas ainda pode ser sugerida mediante estudos prévios de contaminação da área.

Palavras chaves: Metal Pesado, Fitorremediação, Ipê-roxo, Ipê-amarelo, Toxidez.

ABSTRACT**STUDY OF THE POTENTIAL PHYTOREMEDIATION FOR CHROMIUM OF
Handroanthus chrysotrichus (Mart. ex DC.) Mattos AND *Handroanthus heptaphyllus* (Vell.)
Mattos**

AUTHOR: Victória Martini Sasso
ADVISOR: Luciane Almeri Tabaldi

Brazil and the world have been facing serious soil contamination problems in the last decade. Among the numerous contaminants are heavy metals, which in turn may or may not be essential for human and plants development. Among the elements is chromium (Cr) which in high concentrations causes serious problems to human health. Some of the contaminated soil used in agriculture requires the knowledge of simple, efficient and cost-effective remediation technicians such as phytoremediation. In this context, the objective of the present study was to evaluate the phytoremediation potential of the *Handroanthus chrysotrichus* (yellow Ipe) and *Handroanthus heptaphyllus* (purple Ipe) species and the effect of Cr on plant physiology and biochemistry. The experiments were carried out at the greenhouse and at the Plant Physiology and Plant Nutrition Laboratory belonging to the Department of Biology of the Federal University of Santa Maria (UFSM), Santa Maria campus (RS). Part of the seeds of both species underwent germination test under the conditions of treatments of 0, 50, 100, 150 and 200 mg L⁻¹ of Cr⁶⁺, while others were germinated and after initial growth sent to hydroponic system in greenhouse and submitted to the same treatments. After exposure to the different treatments, samples were collected and analyzed for physiological variables (fresh and dry biomass, plant height, root system biometric variables, leaf area and leaf number), biochemical (antioxidant enzymes, hydrogen peroxide content, lipid peroxidation and photosynthetic pigments) and photosynthetic variables. Toxicity symptoms were observed in the two species studied mainly at levels above 100 mg L⁻¹. The germination of *H. heptaphyllus* was less affected than *H. chrysotrichus*, however, yellow ipe had greater tolerance to the presence of Cr in the root and leaf area, average root diameter, peroxidase enzyme activity, lipid peroxidation and presence of H₂O₂ in the roots, water use efficiency and internal CO₂ concentration. It is possible to register that two species can be used as bioindicators of high temperature contamination Cr. However, even activating their defense motors and overcoming damage caused by damage above 100 mg L⁻¹ has not been visualized, their use in projects of a Recovery of contaminated areas may still be suggested using previous studies of contamination of the area.

Keywords: Heavy Metal, Phytoremediation, Purple ipe, Yellow ipe, Toxicity.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	12
2. OBJETIVOS.....	13
2.1. OBJETIVO GERAL	13
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
3. REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
3.1. CROMO.....	14
3.2. O GÊNERO.....	17
3.2.1. <i>Handroanthus heptaphyllus</i> (Vell.) Mattos	17
3.2.2. <i>Handroanthus chrysotrichus</i> (Mart. ex DC) Mattos	17
3.3. FITORREMEDIÇÃO DE METAIS PESADOS	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
 MANUSCRITO I – COMPORTAMENTO MORFOLOGICO DE MUDAS DE	
<i>Handroanthus heptaphyllus</i> (VELL.) MATTOS E <i>Handroanthus chrysotrichus</i> (MART. EX	
DC) MATTOS EXPOSTAS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CROMO.	
21	
1. INTRODUÇÃO	21
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
2.1. MATERIAL VEGETAL E CONDIÇÕES DE CRESCIMENTO.....	22
2.2. TESTE DE GERMINAÇÃO	24
2.3. VARIÁVEIS DE CRESCIMENTO	24
2.4. BIOMETRIA RADICULAR E FOLIAR.....	24
2.5. QUANTIFICAÇÃO DA BIOMASSA FRESCA E SECA	24
2.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA	25
3. RESULTADOS.....	25
3.1. GERMINAÇÃO DAS SEMENTES DE <i>H. CHRYSOTRICHUS</i> E <i>HANDROANTHUS</i> <i>HEPTAPHYLLUS</i> EXPOSTAS AS CONCENTRAÇÕES DE CROMO	25
3.2. VARIÁVEIS DE CRESCIMENTO EM PLANTAS DE <i>H. CHRYSOTRICHUS</i> E <i>H.</i> <i>HEPTAPHYLLUS</i>	26
3.3. BIOMETRIA DO SISTEMA RADICULAR E FOLIAR	27
3.4. BIOMASSA FRESCA E SECA.....	30

4. DISCUSSÃO	31
5. CONCLUSÕES	34
6. REFERÊNCIAS	34
MANUSCRITO II – COMO O CROMO AFETA A BIOQUIMICA E FOTOSSINTESE DE MUDAS DE <i>H. chrysotrichus</i> e <i>H. heptaphyllus</i>	
1. INTRODUÇÃO	38
2. MATERIAL E MÉTODOS	39
2.1. MATERIAL VEGETAL E CONDIÇÕES DE CRESCIMENTO.....	39
2.2. DETERMINAÇÃO DAS VARIÁVEIS BIOQUÍMICAS	40
2.3. DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FOTOSSINTÉTICOS	41
2.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA	42
3. RESULTADOS	42
3.1. DIAGNOSE VISUAL DE SINTOMAS DE TOXIDAZ	42
3.2. QUANTIFICAÇÃO DAS VARIÁVEIS BIOQUÍMICAS EM <i>H. CHRYSOTRICHUS</i> E <i>H. HEPTAPHYLLUS</i>	45
3.2.1. <i>Pigmentos fotossintéticos</i>	45
3.2.2. <i>Atividade das enzimas antioxidantes</i>	47
3.2.3. <i>Quantificação de peróxido de hidrogênio e a degradação dos lipídios da membrana</i>	49
3.3. QUANTIFICAÇÃO DOS PARÂMETROS FOTOSSINTÉTICOS.....	50
4. DISCUSSÃO	54
5. CONCLUSÕES	57
6. REFERÊNCIAS	57
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	61
6. REFERÊNCIAS	62

1. INTRODUÇÃO GERAL

O mundo contemporâneo vem a alguns anos enfrentando inúmeros dilemas ambientais. Entre esses dilemas está a contaminação por metais pesados, isso devido ao aumento intensivo da industrialização e das atividades agrícolas (CHAOUA et al., 2018; WOODFORD, 2019). Desse modo foram classificados cinquenta e três elementos químicos como metais pesados, que por sua vez, podem ser agrupados em duas classes em relação aos seres humanos, essenciais e não essenciais. Dentre os elementos essenciais está o cromo (Cr), o qual mesmo sendo essencial para a saúde do homem em baixas concentrações é denotado extremamente tóxico, logo tendo seu nível de toxicidade como moderadamente venenoso (GOST, 1983; MUKESH et al., 2008).

O Cr, distinguido como um carcinogênico de classe 1, ocorre naturalmente no solo, além de entrar no meio ambiente através de diversas atividades antropogênicas, como a indústria metalúrgica, aplicação de fertilizantes, descarte inadequado de resíduos sólidos, curtimento de couro e atividades de mineração e fundição (ASHRAF et al., 2017; MOREIRA et al., 2018). Esse metal possui vários estados de oxidação sendo encontrado no solo principalmente em duas formas estáveis, espécies de Cr (III) trivalente e Cr (IV) hexavalente (BECQUER et al., 2003). O Cr foi diversas vezes relatado como tóxico para as plantas, causando inúmeras injúrias e quedas na produtividade de diversas espécies, podendo também causar mudanças anatômicas e ultraestruturais irreversíveis, interferindo inclusive na nutrição mineral (REALE et al., 2016). O Cr presente no ambiente e principalmente no solo, pode ser absorvido e até mesmo acumulado pelas plantas, o que pode acarretar na entrada do elemento direta ou indiretamente em concentrações acima do necessário na cadeia alimentar humana, provocando danos a saúde (GIRI; SINGH, 2017). Em vista disso, é imprescindível o manejo e a exploração de novas tecnologias que permitam a redução da contaminação de Cr nos solos, mitigando os riscos à saúde causada pelo metal.

A fitorremediação é uma das técnicas que utiliza as plantas para auxiliar na remoção ou reparação da contaminação dos solos, através da estabilização dos metais pesados presentes no solo, tornando-os inofensivos. Esse método possui uma abordagem mais ecológica, econômica e sustentável, quando comparado a técnicas convencionais, ganhando assim maior espaço nos projetos de revitalização de áreas contaminadas e/ou degradadas (MAHAR et al., 2016; WANG et al., 2017). No entanto, para que ocorra a fitorremediação não basta apenas a absorção por parte da planta, mas também o armazenamento em grande

quantidade do contaminante nos órgãos da planta. Essa tecnologia pode ser separada em cinco tipos diferentes de remediação, fitoestabilização, fitoestimulação, fitotransformação, fitofiltração e fitoextração (PARMAR; SINGH, 2015). Contudo, para a utilização desses métodos, é estritamente necessário o conhecimento prévio do potencial fitorremediador das espécies. Embora seja uma técnica que tem ganhado atenção nos últimos anos, ainda há poucas espécies arbóreas documentadas com grande potencial fitorremediador, revelando assim a necessidade de mais estudos na área (CAIRES et al., 2011; COURCHESNE et al., 2017; PAJEVIC et al., 2016).

O gênero *Handroanthus* possui como característica a alta facilidade de se adaptar a diversas condições ambientais (MARTINS; LAGO; CÍCERO, 2012; SAMPAIO; POLO; BARBOSA, 2012). Pertencem ao gênero as espécies *Handroanthus heptaphyllus* (VELL.) MATTOS e *Handroanthus chrysotrichus* (MART. ex DC) MATTOS, conhecidas popularmente por Ipê-roxo e Ipê-amarelo, respectivamente, devido à coloração de sua floração. São espécies com grande importância ecológica, econômica e paisagística.

Tais espécies podem ter grande valor na recuperação de áreas contaminadas, uma vez comprovado seu potencial como fitorremediadoras. Por se tratar de espécies arbóreas, onde não teremos o risco de contaminações via cadeia alimentar, e levando em consideração a problemática da contaminação por Cr, este estudo pode contribuir com informações importantes na busca por estratégias de descontaminação de solos.

2. OBJETIVOS

2.1.OBJETIVO GERAL

Determinar o potencial fitorremediador das espécies *Handroanthus chrysotrichus* e *Handroanthus heptaphyllus* e o efeito do Cr na fisiologia e bioquímica das plantas cultivadas *in vitro* e em sistema hidropônico com este metal.

2.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar respostas fisiológicas e bioquímicas em plantas de *H. chrysotrichus* e *H. heptaphyllus* expostas a diferentes concentrações de Cr;

- Determinar se as espécies *H. chrysotrichus* e *H. heptaphyllus* possuem potencial para serem usadas para fitorremediação e se essas características podem estar relacionadas ao gênero.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. CROMO

O cromo (Cr) foi descoberto em 1798 pelo químico francês Vauquelin (BARUTHIO, 1992). Apesar de se encontrar Cr nos solos, este metal não se encontra no seu estado elementar no ambiente. O Cr encontra-se combinado com outros elementos como o oxigênio, ferro e chumbo em forma de óxidos. Apesar do Cr existir em nove estados diferentes de oxidação (Cr^{2-} ao Cr^{6+}), suas formas mais estáveis e comuns são a trivalente (Cr^{3+}) e a hexavalente (Cr^{6+}), sendo que as demais formas de valência são muito instáveis e de curta duração em sistemas biológicos (SHADRECK, 2013).

O Cr^{3+} é a forma de Cr mais estável e existe naturalmente no ambiente, sendo importante na dieta de animais e humanos, pois está relacionada com o metabolismo de glicose, lipídeos e proteínas. Já o Cr^{6+} é tóxico e provém essencialmente de fontes de poluição antrópica, possui maior mobilidade que o Cr^{3+} , e geralmente ocorre associado ao oxigênio como cromato (CrO_4^{2-}) ou dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) (SHADRECK, 2013).

O Cr pode ingressar no meio ambiente de diversos modos. Ele pode ser proveniente do material de origem através do intemperismo de rochas sedimentares, ígneas, máficas, ultramáficas e no calcário, em minerais como cromita (FeCr_2O_4), tarapacaita (K_2CrO_4), bentorita ($\text{Ca}_6(\text{CrAl})_2(\text{SO}_4)_3$) e crocoita (PbCrO_4) (KOLELI; DEMIR, 2016; KABATA-PENDIAS, 2011), podendo persistir co-precipitado com manganês (Mn), alumínio (Al) e óxidos de ferro (Fe) que são adsorvidos as partículas de solo e complexados em compostos orgânicos (HSU et al., 2015). Ainda pode ser introduzido ao meio através de ações antrópicas, isso devido as suas inúmeras utilizações na indústria metalúrgica, produção de ligas de ferro-cromo, aço inoxidável e de ferro fundido, curtimento e acabamento do couro, produção de pigmentos, tijolos e de revestimentos para fornos, no tratamento de madeiras, acabamentos metálicos, extração de minerais metálicos, irrigação de esgotos, aplicação de fertilizantes, aplicação de efluentes contaminados, agroquímicos, resíduos industriais e lamas de depuração (HORI et al., 2015; VIMERCATI et al., 2017).

Em seu ciclo, o Cr sofre oxidações e reduções simultâneas, sendo que o Cr^{3+} é oxidado em Cr^{6+} espontaneamente pelo óxido de manganês (MnO_2), ao mesmo tempo em que o Cr^{6+} é

reduzido a Cr^{3+} por diversos compostos de carbono no solo. Esse processo é influenciado pelo pH, a presença de matéria orgânica e íons de ferro (Fe) e os níveis de oxigênio no solo. O pH do solo é afetado por cargas negativas e positivas dos coloides, o que por sua vez influencia na disponibilidade dos elétrons. Em solução aquosa o Cr^{6+} é capaz de formar várias espécies ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, CrO_4^{2-} , H_2CrO_4 , HCrO_4^-), isso dependerá do pH da solução, a concentração total de Cr, o potencial redox, a cinética das reações redox e a presença de compostos oxidantes e redutores. Em pH acima de 7,0 a espécie CrO_4^{2-} é o único íon existente, já na faixa de pH entre 1 e 6 a espécie predominante é o HCrO_4^- , independentemente da concentração de Cr^{6+} (CCME, 2015; BARRERA-DIAZ et al., 2012; DHAL et al., 2013).

Mesmo sendo um oligoelemento essencial para os seres humanos, as concentrações recomendadas pela Organização Mundial de Saúde são de, no máximo, $250 \mu\text{g dia}^{-1}$, sendo relatado efeitos tóxicos em concentrações superiores a $800 \mu\text{g dia}^{-1}$ (OMS, 1998). O teor médio mundial de Cr nos solos foi estabelecido em 60 mg kg^{-1} , sendo que a média em solos arenosos, médios e argilosos variam de 2-360, 10-300 e de 30-1100 mg kg^{-1} , respectivamente (KABATA-PENDIAS, 2011). Para as espécies vegetais, o Cr é um elemento não essencial. Para a maioria das culturas, o Cr é tóxico, como observado por Hossner et al. (1998), os quais verificaram que a toxidez ocorre em níveis que variam de 0,5 a $5,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ em solução nutritiva, e de 5 a $100 \mu\text{g g}^{-1}$ em solos. Sua toxicidade para as plantas é observada em diversos níveis, podendo causar danos como a redução de produção até efeitos no desenvolvimento das plantas, através da inibição de atividades enzimáticas e mutagênese (SINGH et al., 2013).

O Cr possui rotas diferentes para acessar o ambiente citosólico, sendo que esses caminhos muitas vezes podem ser distintos dependendo da valência em que o metal se encontra, podendo também transmutar no decorrer do processo. A absorção pode ocorrer através de transportadores de elementos essenciais como o ferro (Fe), enxofre (S) e fósforo (P), competindo com esses metais (WALLACE et al., 1976). Outros meios de ingresso podem ser dependentes de energia metabólica, nesse caso, o Cr^{6+} conta com a ajuda de bombas de prótons (H^+ -ATPase). A distribuição do elemento ao longo da planta ocorre principalmente via xilema (SKEFFINGTON et al., 1976).

Dentro da célula, nas mitocôndrias, o ascorbato age como um redutor, reduzindo o Cr^{6+} para Cr^{3+} , assim como a glutatona e cisteínas que também realizam tal reação. O redutor biológico principal pode produzir espécies intermediárias de Cr como a Cr^{4+} e Cr^{6+} , sendo que essas valências, assim como a Cr^{3+} , podem desempenhar papel na genotoxicidade e no potencial carcinogênico do Cr. O Cr pode reagir, tanto diretamente quanto através de reação com outros compostos celulares, onde haverá a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO). Por

exemplo, o Cr^{6+} poderá reagir com o peróxido de hidrogênio gerando o radical hidroxil via reações de Fenton (JOMOVA; VALKO, 2011). Entretanto, o principal desses metabólitos é o Cr^{3+} , que consegue estabelecer ligações eficientes e estáveis com o DNA, além de formar altos níveis de adutos de cromo-DNA e produzir danos no DNA induzindo mutações (JOMOVA; VALKO, 2011).

Já foram relatados diversos efeitos do Cr sobre a fisiologia das plantas, nos mais diversos processos. Na fotossíntese, efeitos tóxicos como a inibição do transporte de elétrons, inativação do ciclo de Calvin e Benson, redução na fixação do CO_2 e desorganização dos cloroplastos foram relatados (MISHRA; TRIPATHI, 2009; SHARMA et al., 2016). Tais alterações fotossintéticas podem ser causadas pela produção de ERO pelas plantas, consequência do estresse oxidativo causado pelo Cr (SHAHID et al., 2014). As relações hídricas também podem ser alteradas, onde pode ocorrer aumento na taxa de transpiração, redução do diâmetro dos vasos e murchamento das plantas (DAVIES et al., 2002), assim como a absorção de diversos elementos essenciais pode ser comprometida (SUNDARAMOORTHY et al., 2010).

Contudo, plantas que apresentam mecanismos de tolerância ao Cr podem ser uma solução econômica e simples para remediar locais contaminados por esse metal. Nas últimas décadas houve um aumento nos estudos voltados para a fitorremediação de Cr, explanando algumas espécies vegetais como hiperacumuladoras, sendo aquelas com capacidade de remover altas concentrações de metal do solo, absorvendo o elemento através de suas raízes, acumulando e/ou translocando para diversos órgãos, não tendo sua produtividade e desenvolvimento comprometidos. Baker; Brooks (1989) sugerem que para uma planta ser considerada hiperacumuladora de Cr o critério de concentração desse metal deve ser maior que 1000 mg kg^{-1} no tecido de folha seca (GHAFOORI et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2016; LIU et al., 2011; NIAZI et al., 2016). No caso das plantas hiperacumuladoras, o sistema de tolerância das plantas em muitos casos é beneficiado pela superexpressão de transportadores das famílias de genes CDF, HMA, NRAMP e ZIP (SHAHID et al., 2016).

Os sistemas de defesa das plantas ao Cr operam separadamente ou em conjunto para desintoxicar as plantas da produção excessiva de ERO. Ao longo do processo de evolução as plantas conseguiram criar estratégias para superar a toxidez causada pelo Cr, seja utilizando agente quelantes de Cr como ligantes, reduzindo o Cr^{6+} para Cr^{3+} , armazenando o metal em seus vacúolos, ou ainda, ativando enzimas antioxidantes (SINGH et al., 2013; DAUD et al., 2014; ALI et al., 2015; DING et al., 2016), como a ascobato peroxidase (APX), superóxido dismutase (SOD), guaiacol peroxidase (POD) e catalase (CAT). Todas essas enzimas

possuem papéis importantes na eliminação das ERO. A SOD, por exemplo, desempenha um papel central, controlando os níveis estacionários de $O_2^{\bullet-}$, dismutando moléculas de $O_2^{\bullet-}$ a H_2O_2 e O_2 . Na sequência, as enzimas peroxidases dismutam o H_2O_2 em água e oxigênio.

3.2.O GÊNERO *Handroanthus*

3.2.1. *Handroanthus heptaphyllus* (Vell.) Mattos

Sinonímia *Tabebuia heptaphylla* (Vell.) Toledo, a *H. heptaphyllus* é popularmente conhecida por Ipê-roxo, espécie pertencente à família Bignoniaceae, e ocorre naturalmente na região sudeste do Brasil e no sul da Bahia, principalmente na Floresta Pluvial Atlântica (LORENZI, 2002). Possui floração com grande beleza ornamental, de coloração rosa-violáceo, muito utilizada para arborização urbana. Além disso, é muito utilizada na recuperação de áreas degradadas, isso devido a importante característica fisiológica de conseguir adaptar-se a diferentes ecossistemas e condições ambientais, atributo esse advindo do gênero ao qual pertence (SAMPAIO; POLO; BARBOSA, 2012).

A espécie pode atingir até 35 metros de altura e seu diâmetro alcançando cerca de 150 centímetros (CARVALHO, 1994). As sementes aladas são produzidas em grande quantidade, permitindo que sejam propagadas a longas distâncias (LONGUI, 1995).

Em 2012 a espécie entrou na lista do Centro Nacional de Conservação da Flora, classificada como pouco preocupante¹, mas ainda assim chamando a atenção para os reduzidos locais onde ocorre (CNCFLORA, 2018). Uma das principais causas da entrada da espécie na lista vem do grande potencial madeireiro, isso graças à densidade de sua madeira na ordem de 1070 kg/m³, e a coloração escura do cerne e clara do alburno. A superfície é pouco brilhante, mas lisa e de aspecto oleoso. A madeira é muito utilizada para dormentes, taco, portais, postes, setor mobiliário e na construção civil e naval (PAULA; ALVES, 1997).

3.2.2. *Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC) Mattos

A *H. chrysotrichus* é popularmente conhecida como Ipê-amarelo, também pertencente à família Bignoniaceae. É uma espécie caducifólia, sendo que suas folhas caem no inverno e reaparecem logo após a floração que ocorre no período de julho a outubro, a qual é abundante

¹Para a CNCFLORA o termo Pouco Preocupante remete a espécies consideradas seguras ou com pouco risco de serem extintas, com sigla LC (Least Concern)

e chamativa, com coloração amarela. Os frutos amadurecem no período de outubro a dezembro, e, assim como as demais espécies do gênero, o ipê-amarelo produz uma grande quantidade de sementes que são leves e aladas, sendo dispersadas rapidamente (LORENZI, 2002).

Seus ramos costumam crescer retos e sem bifurcações, principalmente quando plantados em reflorestamentos mistos combinados com espécies pioneiras (PINTO; RODIGHERI, 2001). Também é uma espécie muito utilizada na arborização urbana, devido principalmente ao seu porte e sua floração, além do importante papel que desempenha para o ecossistema principalmente a fauna local, uma vez que suas flores são alvo da alimentação de inúmeros insetos e aves, devido ao néctar produzido em seus órgãos florais (LORENZI, 2002).

Possui uma madeira considerada pesada, muito dura e resistente ao apodrecimento e ao ataque de fungos e cupins. É muitas vezes utilizada para fins nobres, como serraria, laminação e indústria moveleira. Sua madeira é clara, tanto no seu cerne quanto no alburno, mudando apenas a tonalidade (SOUZA et al., 2005).

3.3.FITORREMEDIAÇÃO DE METAIS PESADOS

A fitorremediação é a tecnologia que utiliza plantas para imobilizar, degradar ou extrair contaminantes do ambiente. Além do benefício que as plantas causam quando utilizadas com essa finalidade, outras vantagens de utilizar essa técnica é o seu baixo custo de investimento, e operação e geração mínima de degradação ambiental (CHAVES et al., 2010). Estudos com espécies florestais como a *Handroanthus impetiginosa* (CAIRES, 2005), *Cedrela fissilis* (CAIRES, 2005), *Eucalyptus grandis* (NOLAN, 2008), *Eucalyptus saligna* (NOLAN, 2008), *Peltophorum dubium* (SILVA et al.,2011), *Parapiptadenia rigida* (SILVA et al.,2011), *Enterolobium contortisiliquum* (SILVA et al.,2011) e *Cecropia pachystachya* (IRIE et al., 2008) constataram o potencial fitorremediador dessas espécies. Embora cada espécie demonstre aptidão para esse método de descontaminação ambiental, os mecanismos que permitem que elas desenvolvam esse papel variam de espécie para espécie. Logo, a eficácia desse método depende da capacidade da planta em absorver os metais das superfícies das partículas do solo e da solubilidade desses metais (DOUMETT et al., 2008).

Existe uma subdivisão nas técnicas de fitorremediação, sendo elas: fitoextração, rizofiltração, fitoestabilização, rizodegradação, fitodegradação, fitovolatilização, fitomineração, controle hidráulico e cobertura vegetativa. As principais funcionam do seguinte modo:

- A fitoextração é a capacidade que a planta possui de absorver os contaminantes pelos seus órgãos subterrâneos e translocação dos mesmos para dentro da planta. Esta é a principal técnica utilizada na descontaminação de metais pesados. Contudo, só é eficiente se o contaminante for absorvido pelas raízes. A mesma já foi comprovada e empregada para alguns elementos e compostos como cádmio (Cd), Cr, níquel (Ni), Zn, benzenos, etilbenzenos, entre outros (SUSARLA et al., 2002).

- A fitodegradação ocorre quando as plantas e microorganismos associados degradam contaminantes orgânicos (BURKEN; SCHNOOR, 1997).

- A fitoestabilização implica na imobilização do contaminante no solo e funciona principalmente com metais. Ocorre devido à absorção e acúmulo pelas raízes, impedindo o movimento dos metais, os estabilizando também no húmus nas camadas mais superficiais do solo impedindo assim a sua dispersão (SUSARLA et al., 2002).

- A fitovolatilização corresponde a absorção e transpiração de um contaminante, liberando o contaminante em uma forma modificada para a atmosfera, muito utilizado para reverter a contaminação por mercúrio dos ambientes (BURKEN; SCHNOOR, 1999).

O Cr por sua vez é acumulado principalmente nas raízes dos vegetais, limitando sua toxicidade e mobilidade. Na parte aérea, o metal concentra-se mais no caule, sendo lentamente depositado na madeira do caule das árvores. Dependendo da finalidade do uso dado a árvore, esse metal pode ou não retornar ao ambiente (PULFORD; WATSON, 2003).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e discussão deste trabalho serão apresentados em dois manuscritos, como segue:

Manuscrito I: COMPORTAMENTO MORFOLÓGICO DE MUDAS *Handroanthus heptaphyllus* (VELL.) MATTOS e *Handroanthus chrysotrichus* (MART. ex DC) MATTOS EXPOSTAS A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CROMO.

Manuscrito II: COMO O CROMO AFETA A BIOQUÍMICA E FOTOSSÍNTESE DE MUDAS DE *H. chrysotrichus* E *H. heptaphyllus*.

Manuscrito I – COMPORTAMENTO MORFOLÓGICO DE MUDAS *Handroanthus heptaphyllus* (VELL.) MATTOS e *Handroanthus chrysotrichus* (MART. ex DC) MATTOS EXPOSTAS A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CROMO.

1. INTRODUÇÃO

A contaminação por metais pesados vem sendo um problema de grande importância para a humanidade. Os metais são liberados para a atmosfera de inúmeras maneiras, através das descargas de gases e poeira oriundas de veículos e na produção de materiais e de energia. Uma vez na atmosfera, tais metais podem precipitar e por consequência serem depositados no solo. Entretanto a contaminação por metais no solo, em sua maioria, tem origem através do uso desenfreado de insumos agrícolas como fertilizantes, pesticidas, herbicidas, entre outras ações antrópicas como nos rejeitos de mineração, chorume produzido pela decomposição do lixo e resíduos industriais (AKSU, 2015; NADERIZADEH et al., 2016; SUVARAPU; BAEK et al., 2017).

Dentre esses metais está o cromo (Cr), o qual, em comparação com outros metais tóxicos, tem recebido pouquíssima atenção em estudos científicos. Sua entrada no meio ambiente pode ocorrer de diversos modos devido sua aplicação em múltiplas áreas. Ele é extensivamente empregado no tratamento e acabamento do couro, na produção de aço refratário, está presente nos resíduos de mineração, nos agentes de limpeza de galvanoplastia, na produção de produtos químicos e de ácido crômico utilizado no tratamento de arrefecimento de torre de água e nos preservativos de madeira (KIMBROUGH et al., 1999; KOTAS; STASICKA, 2000). Seus efeitos no crescimento vegetal são rápidos e extremamente limitantes para o crescimento e desenvolvimento das plantas, onde a germinação pode ser reduzida (PERALTA et al., 2001), o sistema radicular pode ser limitado (SHANKER, 2003) e a altura e a biomassa também são restringidas (MEI et al., 2002).

O Brasil está enfrentando um problema sério de contaminação por metais pesados, em especial o Cr, que está presente nos resíduos dos grandes desastres ocorridos no estado de Minas gerais, onde boa parte da flora e fauna das regiões de Brumadinho e Mariana foram dizimadas pelos rompimentos das barragens de mineradoras (FUNDAÇÃO SOS MATA ATLANTICA, 2019). Uma alternativa que pode ser utilizada para a descontaminação dessas áreas é a fitorremediação. Segundo Pires et al. (2003), a técnica compreende a aplicação de plantas e sua microbiota associada, com objetivo de remover, imobilizar ou tornar os

contaminantes inofensivos para o ecossistema. Entretanto, para que seja possível esse processo é necessário encontrar plantas que possuam essa característica.

O gênero *Handroanthus* apresenta características interessantes para ser utilizado como fitorremediador, pois além de sua floração exuberante, possui uma alta adaptabilidade fisiológica às diversas condições ambientais (LOPEZ; KURSAR, 2003; MARTINS; LAGO; CÍCERO, 2012; SAMPAIO; POLO; BARBOSA, 2012). Pertencem ao gênero as espécies *Handroanthus heptaphyllus* (VELL.) MATTOS e *Handroanthus chrysotrichus* (MART. ex DC) MATTOS, conhecidas popularmente por Ipê-roxo e Ipê-amarelo, respectivamente, devido à coloração de sua floração. São espécies com grande importância ecológica, econômica e paisagística.

Tais espécies poderiam ter grande valor na recuperação de áreas contaminadas, uma vez comprovado seu potencial como biorremediadoras. Nesse sentido, é importante avaliar o comportamento dessas espécies desde a germinação, crescimento inicial e comportamento das mesmas quando expostas a uma exposição breve ou longa ao metal, buscando aproximar os experimentos com uma situação real de áreas contaminadas. Levando em consideração as informações sobre as espécies e a problemática da contaminação por Cr, o objetivo deste estudo foi contribuir com informações importantes na busca por estratégias de descontaminação de solos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. MATERIAL VEGETAL E CONDIÇÕES DE CRESCIMENTO

O estudo foi realizado em casa de vegetação e no Laboratório de Fisiologia Vegetal e Nutrição de Plantas pertencente ao Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS (29° 42' 56" S, 53°43'13" O e altitude de 95 m). As sementes de *Handroanthus chrysotrichus* e *Handroanthus heptaphyllus* foram obtidas no Centro de Pesquisas em Florestas – DDPa de Santa Maria, RS. Inicialmente, as sementes passaram por processo de assepsia, em câmara de fluxo, onde foram desinfetadas com etanol 70% (v/v) por 30 segundos e após em hipoclorito de sódio (NaOCl) 5% (v/v) por 15 minutos, sendo então enxaguadas três vezes seguidas com água destilada. Parte dessas sementes foi direcionada para o teste de germinação e as demais foram encaminhadas para as placas de petri sob papel Germitest umedecido com água destilada, as quais foram mantidas em câmara de crescimento a 28°C e com fotoperíodo de 16h/8h de luz/escuro por 28 dias. Subsequentemente, foram

selecionadas as sementes pré-germinadas e transferidas para tubetes de 280 cm³ completos com substrato comercial (composto por: turfa, casca de árvore triturada, serradura e fibra de coco e os materiais de origem mineral incluem vermiculita e perlita), onde permaneceram em casa de vegetação crescendo por quatro meses, recebendo irrigação diária com lâmina de 1mm, intercalando água e solução nutritiva completa. Após o período de crescimento, 100 mudas de cada espécie foram encaminhadas para o sistema hidropônico composto por recipientes plásticos com capacidade de 5 litros de solução nutritiva utilizando 5 plantas para cada unidade experimental, suspensas em placas de poliestireno recebendo aeração constante. Os experimentos de cada espécie foram conduzidos separadamente nas mesmas condições climáticas.

As plantas foram aclimatadas durante 7 dias em solução nutritiva adaptada da solução descrita por Hoagland composta por (em μM): 6090,5 de N; 974,3 de Mg; 4986,76 de Cl; 2679,2 de K; 2436,2 de Ca; 359,9 de S; 243,592 de P; 0,47 de Cu; 2,00 de Mn; 1,99 de Zn; 0,17 de Ni; 24,97 de B; 0,52 de Mo; 47,99 de Fe ($\text{FeSO}_4/\text{Na-EDTA}$) (HOAGLAND & ARNON, 1938). Após esse período as mudas receberam nova solução com adição de dicromato de potássio, fonte utilizada de Cr, realizou-se o balanceamento químico de potássio para que todos os tratamentos tivessem a mesma concentração do nutriente. O pH foi utilizado foi 6,0 ($\pm 0,1$), no qual o metal encontra-se disponível para as plantas, e com diferentes concentrações de cromo (Cr), descritas abaixo:

Tratamento 1: 0 mg L⁻¹ de Cr⁶⁺ (ausência de cromo);

Tratamento 2: 50 mg L⁻¹ de Cr⁶⁺;

Tratamento 3: 100 mg L⁻¹ de Cr⁶⁺;

Tratamento 4: 150 mg L⁻¹ de Cr⁶⁺

Tratamento 5: 200 mg L⁻¹ de Cr⁶⁺.

As soluções foram trocadas a cada 5 dias, sendo o pH da solução ajustado diariamente. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, utilizando quatro repetições por tratamento. Nessas condições as mudas permaneceram por 10 dias aonde foi observado os primeiros sinais de contaminação nas mudas, então foram realizadas as medições e coletas do material para as análises das variáveis de crescimento, biometria das folhas e raízes e determinação da biomassa fresca de folhas e seca de raízes e folhas.

2.2. VARIÁVEIS MENSURADAS

2.2.1. Teste de germinação *in vitro*

As sementes foram inoculadas em câmara de fluxo em tubos de ensaio de vidro de 30 mm x 200 mm, contendo 10 mL de meio MS, contendo uma semente por tubo (MURASHIGE; SKOOG, 1962). Os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado, com 40 tubos de ensaio por tratamento. As concentrações de Cr adicionadas ao meio de cultivo foram as mesmas utilizadas no experimento hidropônico, que foi conduzido intermitente a esse teste. Após 60 dias de exposição aos tratamentos, foi determinada a porcentagem de germinação.

2.2.2. Variáveis analisadas

Ao décimo dia de exposição aos tratamentos as plantas cultivadas em sistema hidropônico tiveram sua raiz principal e sua altura até a emissão da última folha medida com o auxílio de régua milimetrada e todas as folhas foram contabilizadas.

2.2.3. Biometria radicular e foliar

Após exposição das plantas aos diferentes tratamentos, duas plantas de cada repetição foram coletadas e separadas em parte aérea e raízes. Esse material, por sua vez, foi escaneado utilizando o scanner EPSON 11000 com resolução de 200 dpi e 600 dpi, respectivamente. Na obtenção das imagens, o material vegetal foi completamente espalhado em uma bandeja de acrílico transparente de 30-40 cm² contendo uma lâmina de água de 0,5 cm. Através dessas imagens foi possível quantificar comprimento total do sistema radicular (cm), diâmetro médio das raízes (mm), volume de raízes (cm³), área do sistema radicular (cm²) e área foliar (cm²), utilizando o software WinRHIZO.

2.2.4. Quantificação da biomassa fresca e seca

No final do experimento (após 10 dias do início dos tratamentos), a parte aérea de 2 plantas de cada repetição foram coletadas e pesadas em balança de precisão (0,0001 g) imediatamente após a coleta. Posteriormente, essas amostras, assim como as amostras das raízes, foram secas em estufa de ventilação forçada a 65°C até atingir massa constante, com posterior pesagem afim de obter a massa seca das amostras.

2.2.5. Análise estatística

Os dados foram submetidos a normalização da variância utilizando o Teste de Shapiro-Wilk a 5% com auxílio do programa estatístico PAST (HAMMER et al., 2001), para posteriormente ser realizada a análise de variância (ANOVA). As médias dos tratamentos foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, com o auxílio do programa estatístico SISVAR versão 5,6 (FERREIRA, 2020).

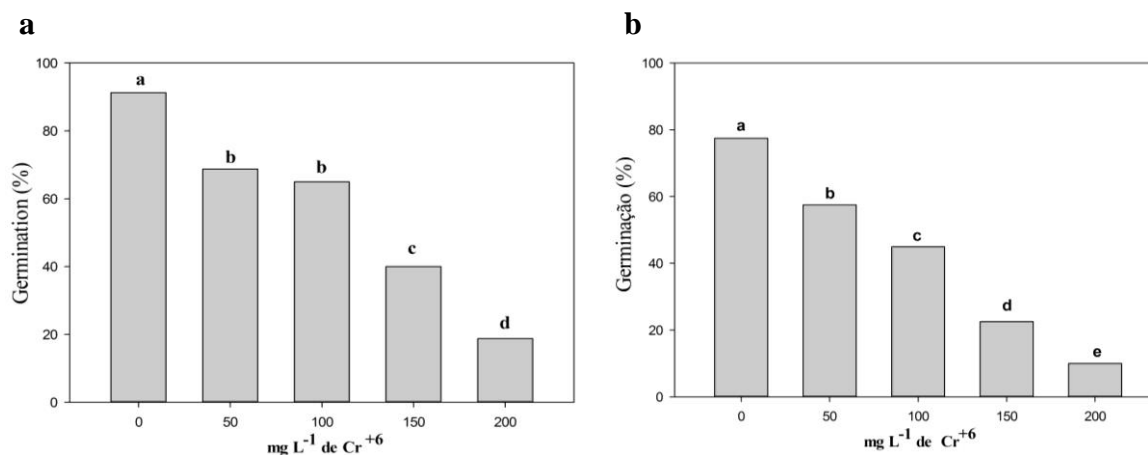
3. RESULTADOS

3.1.1. GERMINAÇÃO IN VITRO DAS SEMENTES DE *Handroanthus chrysotrichus* E *Handroanthus heptaphyllus* EXPOSTAS AS CONCENTRAÇÕES DE CROMO

As taxas de germinação foram reduzidas à medida que houve um aumento nas concentrações de cromo (Cr) no meio de crescimento para ambas as espécies estudadas (Figura 1a, 1b). No caso do *H. chrysotrichus*, além de apresentar poliembrião, teve reduções nas taxas de germinação maiores do que as da *H. heptaphyllus*, principalmente nas maiores concentrações de Cr. *H. chrysotrichus* apresentou uma redução de 50% e 67,5% quando as sementes foram expostas a 150 e 200 mg L⁻¹ de Cr, respectivamente, comparado com o tratamento controle, demonstrando assim que a espécie possui dificuldades de germinar em condições de contaminação com este metal.

H. heptaphyllus, por sua vez, também apresentou redução na porcentagem de germinação, porém quando comparado com *H. chrysotrichus*, as reduções foram menores. O *H. heptaphyllus* apresentou diferença significativa entre as concentrações iniciais de Cr, onde ocorreu uma diminuição de 26,25 e 72,5% com 100 e 200 mg L⁻¹, respectivamente, quando comparado ao tratamento controle (Figura 1).

Figura 1 – Porcentagem de germinação *in vitro* de sementes de *H. heptaphyllus* (a) e *H. chrysotrichus* (b) submetidas à diferentes concentrações de cromo.

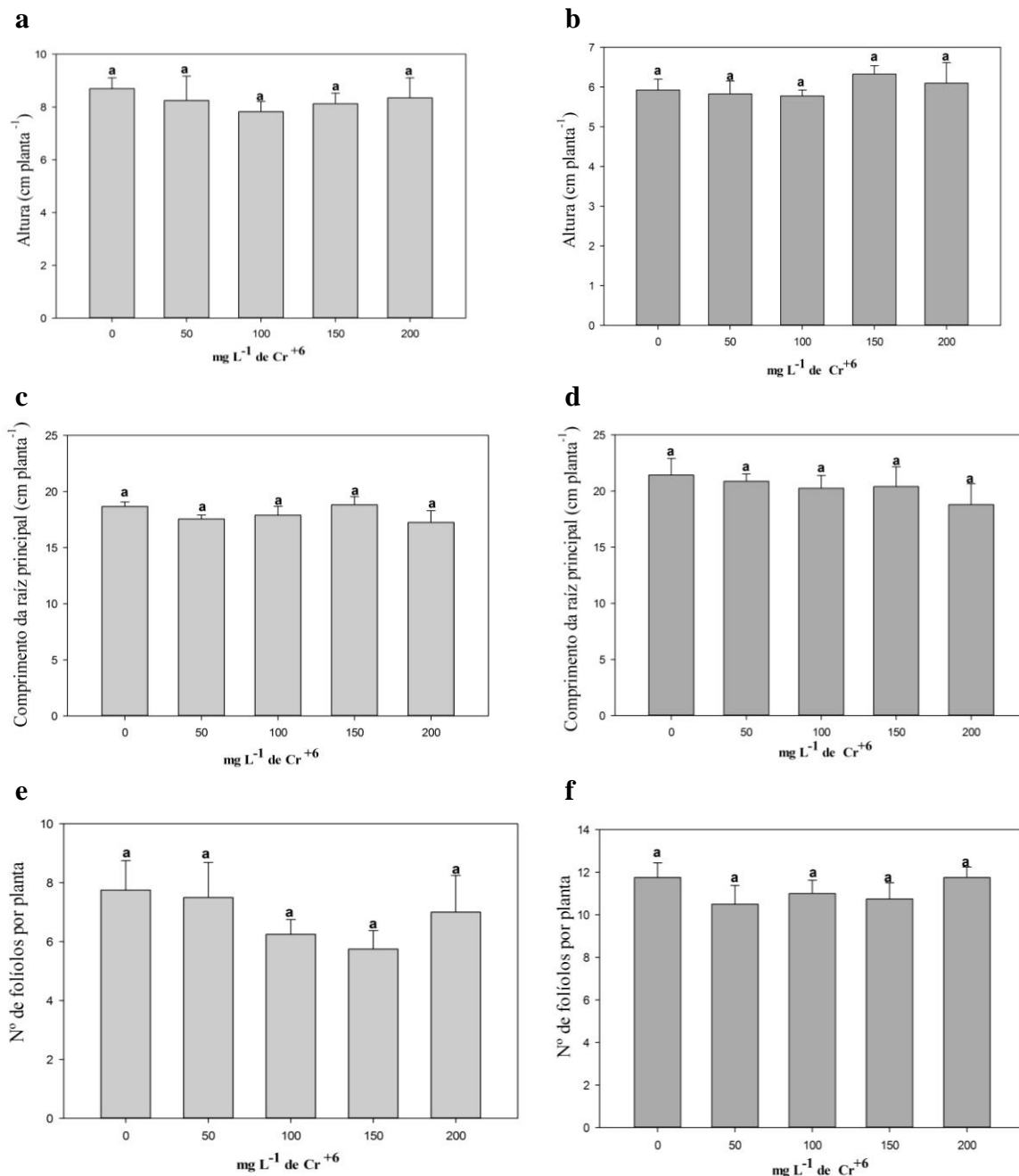


Onde: Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa de *H. heptaphyllus* e *H. chrysotrichus* entre as concentrações de cromo pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$), dentro de cada espécie.

3.2. EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO COM MUDAS DE *H. chrysotrichus* E *H. heptaphyllus*

Em relação as principais variáveis de crescimento altura da parte aérea, comprimento da raiz principal e número total de folhas, ambas as espécies demonstraram comportamento semelhante, não apresentando diferença significativa entre os tratamentos (Figura 2).

Figura 2 – Altura de plantas, comprimento da raiz principal e número de folíolos de *H. heptaphyllus* (a, c, e, respectivamente) e *H. chrysotrichus* (b, d, f respectivamente) submetidas à diferentes concentrações de Cr em sistema hidropônico, aos 10 dias.



Onde: Letras diferentes indicam diferença significativa de *H. heptaphyllus* e *H. chrysotrichus* entre as concentrações de cromo pelo Teste de Tukey (P<0,05).

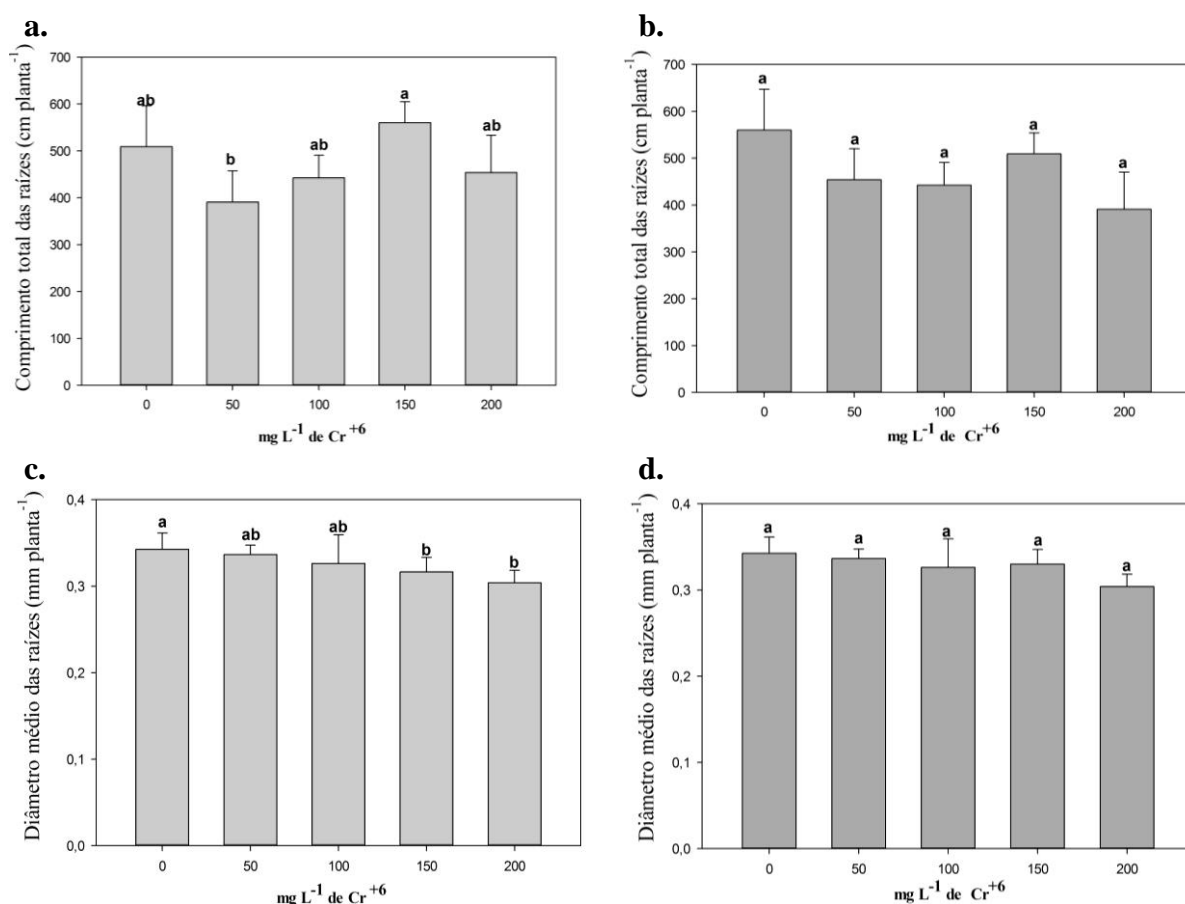
3.3. BIOMETRIA DO SISTEMA RADICULAR E FOLIAR

Entre as variáveis biométricas da raiz houve comportamentos distintos nas duas espécies. Para o comprimento total das raízes, não houve diferença significativa entre os

tratamentos para nenhuma das espécies, quando comparado com o tratamento controle (Figura 3a, 3b). Entretanto, a área superficial de raízes apresentada por *H. heptaphyllus* é superior à da outra espécie estudada.

O diâmetro médio das raízes reduziu com o aumento das concentrações de Cr para a espécie *H. heptaphyllus*, onde na presença de 200 mg L⁻¹ de Cr, foi observado a menor média de 0,574 mm apresentando uma redução de 16,85% em comparação ao tratamento controle. Para o *H. chrysotrichus* também houve uma redução de 11,26% entre os mesmos tratamentos, entretanto, estatisticamente, essa redução não foi significativa (Figura 3c, 3d).

Figura 3 – Comprimento total e diâmetro médio de raízes de plantas de *H. heptaphyllus* (a, c) e *H. chrysotrichus* (b, d) submetidas à diferentes concentrações de Cr.

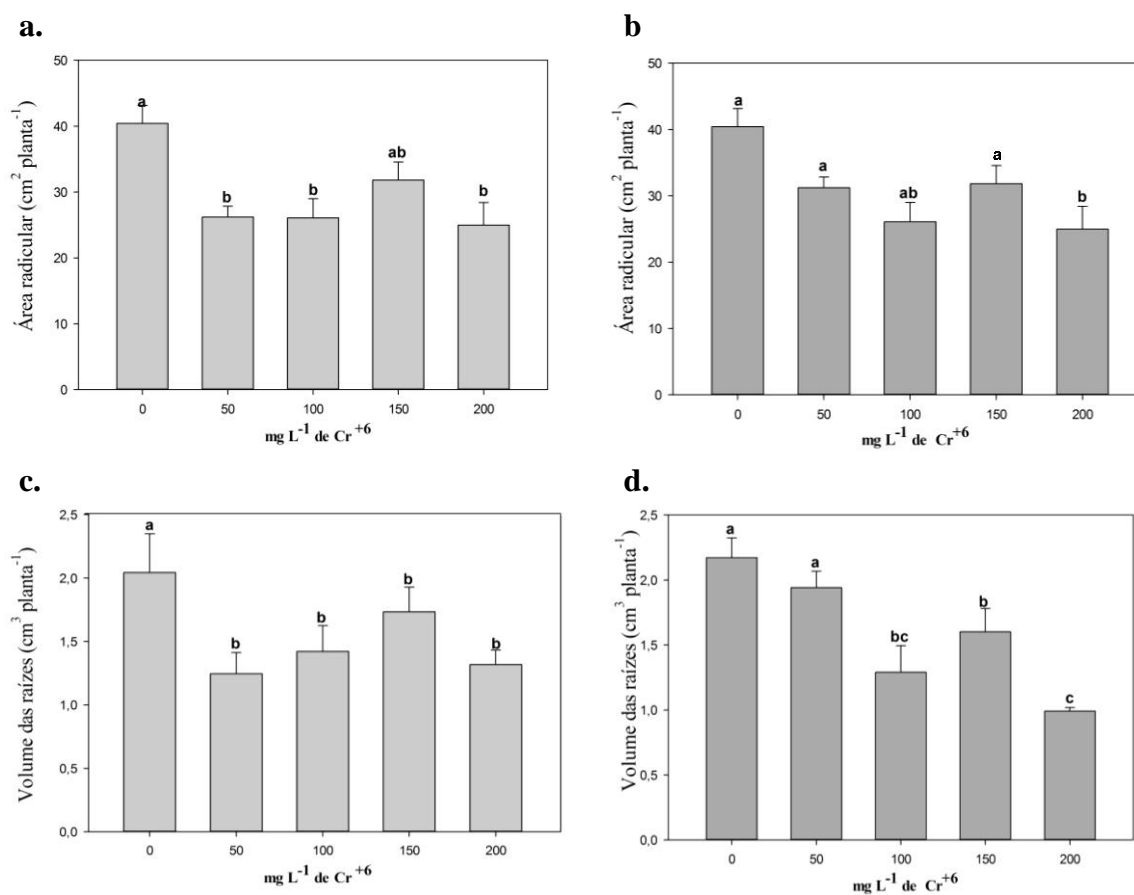


Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa de *H. heptaphyllus* e *H. chrysotrichus* entre as concentrações de cromo pelo Teste de Tukey (P<0,05).

As médias da área radicular e volume das raízes em ambas as espécies diferiram entre as concentrações de Cr. Para o *H. heptaphyllus* houve redução na área radicular em baixas concentrações de Cr, onde, na presença de 100 mg L⁻¹ a área reduziu em 45,5 e 47,1%,

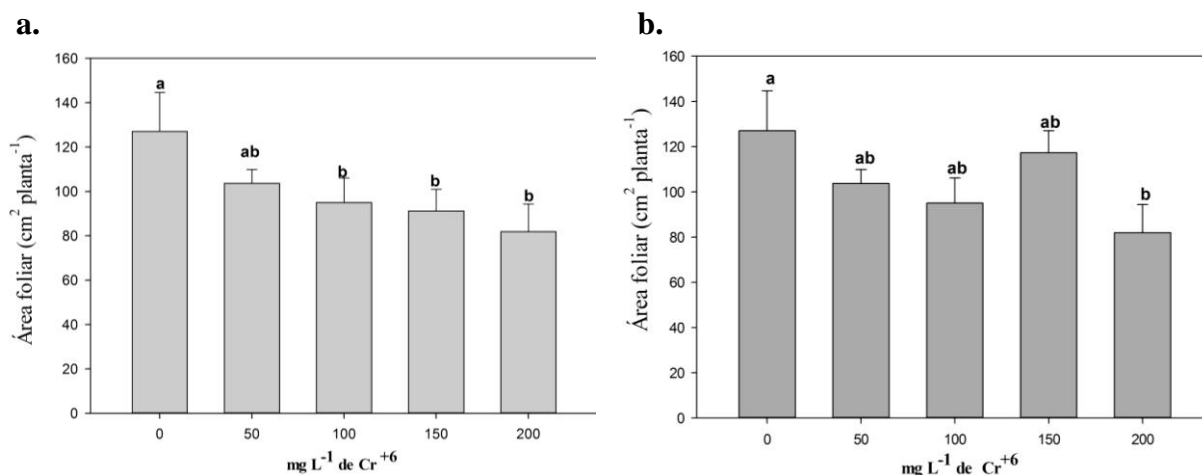
respectivamente, quando comparada ao tratamento controle (Figura 4a). As mudas de *H. chrysotrichus*, por sua vez, apresentaram menor área radicular nas maiores concentrações de 150 e 200 mg L⁻¹, em que a média nos tratamentos com as maiores concentrações de Cr apresentou uma redução de 38,19% comparado com o controle (Figura 4b). Para o Ipê-roxo, as plantas expostas a 150 mg L⁻¹ de Cr apresentaram a segunda maior média, não diferenciando do tratamento controle. Para o Ipê-amarelo a redução foi proporcional ao aumento das concentrações de Cr, não sendo significativa para as concentrações de 50 e 100 mg L⁻¹, sugerindo assim, níveis de tolerância da espécie a essas concentrações.

Figura 4 – Área radicular e volume de raízes de plantas de *H. heptaphyllus* (a, c) e *H. chrysotrichus* (b, d) submetidas à diferentes concentrações de Cr.



Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa de *H. heptaphyllus* e *H. chrysotrichus* entre as concentrações de cromo pelo Teste de Tukey (P<0,05).

Figura 5 – Área foliar de *H. heptaphyllus* (a) e *H. chrysotrichus* (b) submetidas à diferentes concentrações de Cr.



Onde: Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa de *H. heptaphyllus* e *H. chrysotrichus* entre as concentrações de cromo pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$).

Para o volume das raízes, houve uma redução em todas as concentrações de Cr para a espécie *H. heptaphyllus*, comparado ao controle. Por outro lado, na espécie *H. chrysotrichus*, houve redução no volume de raízes somente nas concentrações de 100, 150 e 200 mg L⁻¹ (Figuras 4c e 4d).

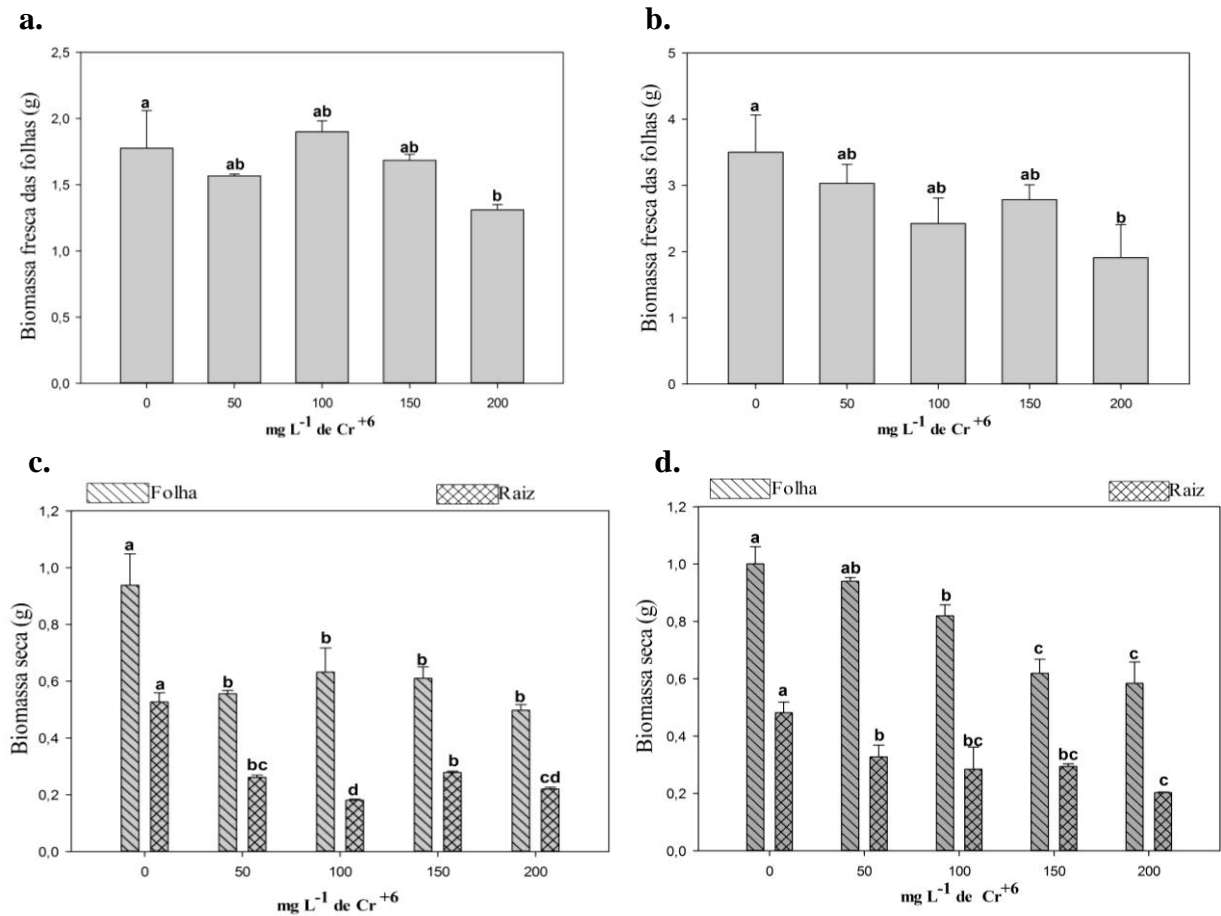
Na parte aérea das plantas as concentrações de Cr também foram responsáveis por efeitos negativos. A *H. heptaphyllus* apresentou menor área foliar na presença de 100, 150 e 200 mg L⁻¹ de Cr. Na presença de 200 mg L⁻¹ de Cr, houve uma redução de 55,8 % na área foliar de quando comparado com o controle. No caso do *H. chrysotrichus*, as restrições foram mais moderadas, uma vez que os tratamentos de 50, 100 e 150 mg L⁻¹ não diferiram estatisticamente do controle, sendo observada redução nessa variável somente na maior concentração de Cr testada (200 mg L⁻¹), cuja redução chegou a 35,52% (Figura 5a, 5b).

3.4. BIOMASSA FRESCA E SECA

A biomassa fresca das folhas em ambas as espécies, foi influenciada pelas doses de Cr, sendo os menores valores obtidos em plantas cultivadas com 200 mg L⁻¹. Por outro lado, tratamentos com até 150 mg L⁻¹ de Cr não apresentaram diferença significativa com o controle. Ocorreram reduções de 26,3% e 45,5% para o *H. heptaphyllus* e *H. chrysotrichus*, respectivamente, nessa variável somente em 200 mg L⁻¹ (Figura 6a e 6b). A biomassa seca,

tanto de parte aérea quanto da raiz, diferiu entre todos os tratamentos. Para massa seca de raízes, houve uma redução significativa em todos os tratamentos com Cr, para ambas as espécies (Figuras 6c e 6d). Esse mesmo comportamento foi observado para massa seca de folhas na espécie *H. heptaphyllus* (Figura 6c), enquanto para a espécie *H. chrysotrichus* a biomassa seca de folhas reduziu somente a partir de 100 mg L⁻¹ de Cr.

Figura 7 – Biomassa fresca das folhas e biomassa seca de folhas e raízes de *H. heptaphyllus* (a, c) e *H. chrysotrichus* (b, d) submetidas à diferentes concentrações de Cr.



Onde: Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa de *H. heptaphyllus* e *H. chrysotrichus* entre as concentrações de cromo pelo Teste de Tukey (P<0,05).

4. DISCUSSÃO

A germinação é o primeiro processo fisiológico a ser afetado pela presença do Cr⁶⁺, por consequência, a propensão das espécies a germinarem nessas condições seria um indicativo da sua tolerância ao contaminante. Embora a germinação do *H. heptaphyllus* tenha apresentado taxas maiores que a do *H. chrysotrichu*, ambas as espécies apresentaram reduções

significativas na porcentagem de germinação, principalmente para as maiores concentrações do Cr. Tais respostas podem ser explicadas devido a capacidade do Cr^{6+} afetar a atividade da α e β -amilases, enzimas envolvidas na hidrólise do amido, logo, dificultando o acesso do embrião a açúcares e por consequência prejudicando seu desenvolvimento (OLIVEIRA, 2012; SINGH et al., 2013). Outra hipótese que justifica a redução na germinação é que a atividade das proteases, envolvidas no catabolismo proteico em sementes, é aumentada pela presença do Cr (HAYAT et al., 2012). Resultados semelhantes na germinação foram observados por Farid et al. (2017) e Dotaniya et al. (2014) com sementes de diversos híbridos de girassol e trigo, respectivamente, que tiveram redução na germinação na presença de Cr. Em espécies arbóreas como *Abies balsamea*, *Picea mariana*, *Pinus banksiana* e *Populus tremuloides*, também foram observadas menores taxas de crescimento com o uso do Cr (LUKINA et al., 2016).

H. heptaphyllus apresentou uma porcentagem de germinação de 68,75% na concentração inicial de Cr. Esta espécie é caracterizada por produzir sementes de alta viabilidade, ortodoxas e com alto potencial de germinação, apresentando valores em torno de 71,8% (WIELEWICKI et al., 2006; GRINGS; BRACK, 2011), sendo uma redução de apenas 3% entre a média relatada na literatura e a taxa apresentada no tratamento de 50 mg L^{-1} , demonstrando que a germinação dessa espécie não é comprometida, levando em consideração que o Cr é encontrado na maioria dos solos em concentrações entre 2 e 60 mg kg^{-1} (AZEVEDO; CHASIN, 2003). Desse modo, em função dos resultados de germinação apresentados nesse trabalho, *H. heptaphyllus* germinaria naturalmente em regiões com solos contaminados por Cr. *H. chrysotrichus* em sua germinação variando de 45 até 97%, dependendo do estado de maturação do fruto (MARCOLIN et al., 2013; RODRIGUES, 2010). No presente trabalho foi encontrado valores dentro dessa faixa nos tratamentos com 0, 50 e 100 mg L^{-1} .

Em relação as variáveis de crescimento altura, crescimento de raiz e número de folhas, as duas espécies de Ipê não demonstraram diferença estatística entre as concentrações de Cr em sua morfologia básica, sugerindo uma tolerância aos efeitos tóxicos do Cr nas mudas. O oposto foi observado em *Plantago ovata*, que teve suas taxas de crescimento severamente reduzidas na presença de concentrações inferiores às utilizadas no experimento *in vitro* (KUNDU; DEY; RAYCHAUDHURI, 2018). Contudo, *H. heptaphyllus* apresentou comportamento diferenciado para os parâmetros avaliados do sistema radicular, onde o comprimento total das raízes e o diâmetro médio reduziram com a presença do metal, demonstrando sensibilidade da espécie, enquanto que para *H. chrysotrichus* pode ser sugerido

um nível maior de tolerância, uma vez que para as mesmas variáveis não ocorreram reduções. Tais efeitos podem estar relacionados com possíveis lesões intracelulares causadas pelo Cr^{6+} que pode levar à distúrbios e inibições na divisão e no alongamento das células radiculares, que ocorre como resultado da destruição dos tecidos e por consequente incapacidade das raízes de absorver água e nutrientes do meio (BARCEL et al., 1985) combinados com uma extensão do ciclo celular (SUNDARAMOORTHY et al., 2010) nas células das raízes das mudas de *H. heptaphyllus*.

H. chrysotrichus mostrou-se mais tolerante aos danos causadas pelo Cr, não comprometendo seu sistema radicular na concentração de 50 e 100 mg L⁻¹ de Cr^{6+} , sugerindo assim uma maior tolerância da espécie ao Cr, enquanto *H. heptaphyllus* teve sua área reduzida em todos os tratamentos com a presença do metal, consequência das reduções no comprimento e diâmetro. Reduções como essas podem estar associadas a facilidade de absorção do Cr na membrana plasmática modificando espécies trivalentes e reagindo com o DNA, suprimindo a síntese do DNA (SANTOS; RODRIGUEZ, 2012). O mesmo ocorreu em relação ao volume das raízes, isso somado a redução dos pelos radiculares causado pela toxicidade de Cr (MALLICK et al., 2010) que ocasionaram reduções do volume radicular nos tratamentos com maior concentração de Cr, em ambas as espécies. Esse parâmetro pode estar relacionado a maior tolerância da *H. chrysotrichus* a concentrações inferiores a 100 mg L⁻¹ de Cr.

O comportamento da *H. chrysotrichus*, no presente trabalho, foi semelhante ao de espécies como *Leersia hexandra* e *Spartina argentinensis* que são consideradas hiperacumuladoras de Cr, sendo espécies herbáceas e submetidas a concentrações inferiores as utilizadas neste trabalho (ZHANG et al., 2007, GÓMEZ et al., 2011). Assim como as espécies citadas, o Ipê-amarelo não apresentou injúrias severas quando expostas a concentrações mais amenas do metal.

Observados os resultados referentes a área foliar constatou-se que os efeitos do metal não foram evidentes na parte aérea, como nas raízes, uma vez que *H. heptaphyllus* que demonstrou maior sensibilidade, não apresentou efeitos danosos em concentrações inferiores a 100 mg L⁻¹. *H. heptaphyllus* não teve a biomassa fresca das folhas prejudicada pela presença de Cr, com exceção da maior concentração utilizada. O mesmo foi observado para a *H. chrysotrichus*. Contudo, a literatura relata que o Cr ocasiona efeitos deletérios no desenvolvimento das plantas, como redução da absorção de água e nutrientes orgânicos e inorgânicos (SINGH et al., 2013). A biomassa seca das raízes apresentou reduções ainda mais acentuadas que nas folhas, demonstrando que o desenvolvimento das mudas foi fortemente

limitado, em especial para a *H. heptaphyllus*, sugerindo que os danos do Cr surgem primeiramente no sistema radicular, por consequência, afetando o desenvolvimento e produtividade da planta como um todo. Possivelmente, isso se deve ao fato do sistema radicular ser o primeiro a entrar em contato com o Cr. Visto que o Cr possui rápida absorção e translocação dentro das plantas, sua presença reduz a absorção de elementos que são essenciais, o que leva a redução da biomassa (GILL et al., 2016).

Embora a *H. chrysotrichus* também tenha tido seu crescimento comprometido pela presença do Cr, quando comparado com outras espécies já estudadas como *Triticum aestivum* (ALI et al., 2015), *Gossypium hirsutum* (FAROOQ et al., 2016) e *Ficus elastica* (KUMAR et al., 2020), a espécie demonstra certa tolerância as injúrias ocasionadas pelo Cr.

5. CONCLUSÕES

O cromo influenciou significativamente a germinação e o desenvolvimento das mudas das espécies *H. heptaphyllus* e *H. chrysotrichus*. Entretanto, as duas espécies demonstraram respostas diferentes dentro das mesmas condições de contaminação do metal. *H. heptaphyllus* demonstrou sensibilidade maior, exceto na germinação, onde a expansão de suas raízes foi severamente afetada. *H. chrysotrichus*, por sua vez, apresentou tolerância a toxidez de Cr em concentrações inferiores a 100 mg L^{-1} de Cr^{6+} , sendo que essas concentrações são superiores as encontradas em áreas contaminadas. Assim, a espécie é considerada uma espécie com potencial para a fitorremediação de regiões contaminadas pela presença do Cr.

6. REFERÊNCIAS

- ALI, S.; CHAUDHARY, A.; RIZWAN, S.; ANWAR, H. T.; ADREES, M.; FARID, M.; IRSHAD, M. K.; HAYAT, T.; ANJUM, S. A. Alleviation of chromium toxicity by glycinebetaine is related to elevated antioxidant enzymes and suppressed chromium uptake and oxidative stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) **Environ. Sci. Pollut. Res.**, v. 22, p. 10669-10678, 2015.
- AKSU, A. Sources of metal pollution in the urban atmosphere (A case study: tuzla, Istanbul). **J. Environ. Health Sci. Eng.** v.13, n.1, p.1–10, 2015.
- AZEVEDO, S. A.; CHASIN, A. A. M. **Metais: gerenciamento da toxicidade**, Ed. Atheneu: São Paulo, 2003.

- BARCEL, J., POSCHENRIEDER, C., & GUNSE, J. (1985). Effect of chromium VI on mineral element composition of bush beans. **Journal of Plant Nutrition**, v.8, p. 211- 217, 1985.
- DOTANIYA, M.L., DAS, H. & MEENA, V.D. Assessment of chromium efficacy on germination, root elongation, and coleoptile growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) at different growth periods. **Environ. Monit. Assess**, v.186, p.2957–2963, 2014.
- FARID, M.; AKRAM, N. A.; RIZWAN, M.; ABBAS, F.; BUKHARI, S.A.H.; SAEED, R. Phyto-management of Cr-contaminated soils by sunflower hybrids: physiological and biochemical response and metal extractability under Cr stress. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 20, p. 16845-16859, 2017.
- FAROOQ, M. S.; ALI, S.; HAMEED, S.; BHARWANA, S.; RIZWAN, M.; ISHAQUE, M; FARID, M.; MAHMOOD, Z.; IQBAL, Z. Cadmium stress in cotton seedlings: physiological, photosynthesis and oxidative damages alleviated by glycinebetaine. **S. Afr. J. Bot.**, v. 104, p. 61-68, 2016.
- FERREIRA, Daniel Furtado. SISVAR: A COMPUTER ANALYSIS SYSTEM TO FIXED EFFECTS SPLIT PLOT TYPE DESIGNS. REVISTA BRASILEIRA DE BIOMETRIA, [S.l.], v. 37, n. 4, p. 529-535, dec. 2019. ISSN 1983-0823. Available at: <<http://www.biometria.ufla.br/index.php/BBJ/article/view/450>>. Date accessed: 10 feb. 2020. doi: <https://doi.org/10.28951/rbb.v37i4.450>.
- FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA. Observando os rios. São Paulo, 2019. 43 p.
- GÓMEZ, S. R.; NARANJO, E. M.; BUENO, I. V.; FELDMAN, S.R. Accumulation and tolerance characteristics of chromium in a cordgrass Cr-hyperaccumulator, *Spartina argentinensis*. **Journal of Hazardous Materials**, v.185, p.862-869, 2011.
- GILL, R. A.; ZHANG, N.; ALI, B.; FAROOQ, M. A.; XU, J.; GILL, M. B.; MAO, B.; ZHOU, W. Role of exogenous salicylic acid in regulating physio-morphic and molecular changes under chromium toxicity in black- and yellow- seeded *Brassica napus* L. **Env. Sci. and Pollution Research**, v.23, n.20, p.20483-20496, 2016.
- GRINGS, M; BRACK, P. *Handroanthus heptaphyllus* (ipê-roxo) In: BRASIL, Ministério do Meio Ambiente. Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro - Região sul. Orgs: CORADIN, L; SIMINSKI, A.; REIS, A. Brasília: MMA, 2011.
- HAYAT, S.S.; KHALIQUE, G.; IRFAN, M. Physiological changes induced by chromium stress in plants: an overview. **Protoplasma**, v. 249, p. 599–611, 2012
- HAMMER, A.; HARPER, D.A.T.; RYAN, P.D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia Electronica**, v. 4, n. 1, p. 1-9, 2001.
- HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. **The water-culture method for growing plants without soil**. California Agricultural Experimental Station. Circ. n.347, 1938.
- KIMBROUGH, D.E.; COHEN, Y.; WINER, A.M.; CREELMAN, L.; MABUNI, C. A critical assessment of chromium in the environment. **Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.**, v. 29 p. 1–46, 1999.
- KOTAS, J.; STASICKA, Z. Commentary: chromium occurrence in the environment and methods of its speciation. **Environ. Pollut.**, v.107, p.263– 283, 2000.

- KUMAR, A.; JOSEPH, S.; TSECHANSKY, L.; SCHEREITER, I. J.; SCHUTH, C.; TAHERYSOOSAVI, S.; MITCHELL, D. R. G.; GRABER, E. R. Mechanistic evaluation of biochar potential for plant growth promotion and alleviation of chromium-induced phytotoxicity in *Ficus elastic*. **Chemosphere**, v. 243, p. 1-10, 2020.
- KUNDU, D.; DEY, S.; RAYCHAUDHURI, S.S. Chromium (VI) – induced stress response in the plant *Plantago ovata* Forsk *in vitro*. **Genes Environ.**,v. 40, n. 21, p. 1-13, 2018.
- LOPEZ, O.R.; KURSAR, T. A. Does flood tolerance explain tree species distribution in tropical seasonally flooded habitats? **Oecologia**. v. 136, n.2, p. 193-204, 2003.
- LUKINA, A.O.; BOUTIN, C.; ROWLAND, O.; CARPENTER, D.J. Evaluating trivalent chromium toxicity on wild terrestrial and wetland plants. **Chemosphere**, v. 162, p. 355-364, 2016.
- MALLICK, S.; SINAM, G.; MISHRA, R. K.; SINHA, S. Interactive effects of Cr and Fe treatments on plants growth, nutrition and oxidative status in *Zea mays* L. **Ecotox. Environm. Saf.**, v. 73, n. 5, p. 987-995, 2010.
- MARCOLIN, G.; NAGAOKA, R. E.; PERES, F. S. B. Germinação e poliembriõnia em sementes de Ipê-Dourado armazenadas. **Enciclopédia Biosfera**, v.9, n.17. p. 1539-1547, 2013.
- MARTINS, L.; LAGO, A.; CICERO,S. M. Conservação de sementes de ipê-roxo. **Revista brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 16, n. 1, p. 405-410, 2012.
- MEI, B.; PURYEAR, J.D.; NEWTON, R.J. Assessment of Cr tolerance and accumulation in selected plant species. **Plant Soil**, v.247, p.223– 231, 2002.
- MURASHIGE, T, SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.
- NADERIZADEH, Z.; KHADEMI, H.; AYOUBI, S. Biomonitoring of atmospheric heavy metals pollution using dust deposited on date palm leaves in southwestern Iran. **Atmosfera**, v.29, n.2, p.141–155, 2016.
- OLIVEIRA, H. Chromium as an environmental pollutant: insights on induced plant toxicity. **J. Botany**, p. 1-8, 2012.
- PERALTA, J.R.; GARDEA, TORRESDEY, J.L.; TIEMANN, K.J.; GOMEZ, E.; ARTEAGA, S.; RASCON, E. et al. Uptake and effects of five heavy metals on seed germination and plant growth in alfalfa (*Medicago sativa*) L. **B Environ Contam Toxicol.**, v.66, n.6, p.727– 734, 2001.
- PIRES, F. R.; SOUZA, C. M.; SILVA, A. A.; PROCÓPIO, S. O.; FERREIRA, L. R. Phytoremediation of herbicide-polluted soils. **Planta Daninha**, v. 21, n. 2, p. 335-341, 2003.
- RODRIGUES, C. M. **Ecologia de espécies poliembriônicas com ênfase no bioma cerrado**. Tese. (Doutorado em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia. 2010.
- SAMPAIO, M. T. F.; POLO, M.; BARBOSA, W. Estudo do crescimento de espécies de árvores semidecíduas em uma área ciliar revegetada. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 36, n. 5, p. 879-885, 2012.

SANTOS, C.; RODRIGUEZ, E. **Review on some emerging endpoints of chromium (VI) and lead phytotoxicity**: 1.ed. Croacia: Mworria, 2012.

SHANKER, A.K. **Physiological, biochemical and molecular aspects of chromium toxicity and tolerance in selected crops and tree species**. PhD Thesis, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, India; 2003.

SINGH, H.P.; MAHAJAN, P.; KAUR, S.; BATISH, D.R.; KOHLI, R.K. Chromium toxicity and tolerance in plants. **Environ. Chem. Lett.**, v. 11, p. 229-254, 2013.

SUVARAPU, L.N.; BAEK, S.O.; Determination of heavy metals in the ambient atmosphere: a review. **Toxicol. Ind. Health**, v.33, n.1, p.79–96, 2017.

SUNDARAMOORTHY, P., CHIDAMBARAM, A., GANESH, K. S., UNNIKANNAN, P., & BASKARAN, L. Chromium stress in paddy: (i) nutrient status of paddy under chromium stress; (ii) phytoremediation of chromium by aquatic and terrestrial weeds. **Comptes Rendus Biologies**, v. 333, n. 8, p. 597–607, 2010.

WIELEWICKI, A.P.; LEONHARDT, C.; SCHLINDWEIN, G.; MEDEIROS, A.C.S. Proposta de padrões de germinação e teor de água para sementes de algumas espécies florestais presentes na região Sul do Brasil., **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.3, p.191-197, 2006.

ZHANG, X.H.; LIU, J.; HUANG, H.T.; CHEN, J.; ZHU, Y.N.; WANG, D.Q. Chromium accumulation by the hyperaccumulator plant *Leersia hexandra* Swartz. **Chemosphere**, v. 67, p. 1138-1143, 2007.

Manuscrito II – COMO O CROMO AFETA A BIOQUIMICA E FOTOSSINTESE DE MUDAS DE *H. chrysotrichuse* *H. heptaphyllus*.

1. INTRODUÇÃO

Um dos maiores dilemas ambientais que nossa sociedade está enfrentando nos últimos séculos é a contaminação por metais pesados causada pela ação antropogênica. Dentre os diversos metais pesados não essenciais e tóxicos para as plantas, o cromo (Cr) apresenta-se atualmente como uma ameaça para o meio ambiente. Ele pode ser encontrado naturalmente em rochas, cinzas vulcânicas e gases (LA GUARDIA; MORALES-RUBIO, 2003). Os metais, de uma forma geral, podem chegar ao meio ambiente através de alguns processos industriais de metalurgia, produção de tintas, preservação de madeiras, beneficiamento do couro e produção de papel, o que tem tornado este elemento um importante contaminante ambiental (ATAFAR et al., 2010; BITEW; ALEMAYEHU, 2017).

O Cr é considerado um elemento essencial para o metabolismo animal, incluindo o humano (SRIVASTAVA et al., 2002). Em pequenas concentrações, o Cr pode estimular o crescimento vegetal (BONET et al., 1991). No entanto, o excesso de Cr é altamente tóxico para plantas, animais e humanos, principalmente porque o Cr^{3+} é considerado um elemento não cancerígeno ao homem, enquanto que o Cr^{6+} é classificado como cancerígeno (SHANKER et al., 2005). Para as plantas, o Cr pode ser altamente tóxico, causando danos tanto a nível morfológico quanto intracelular. Processos fisiológicos, como a fotossíntese, podem ser prejudicados. O estresse oxidativo causado pelo Cr induz as plantas a ativar seus mecanismos de defesas, a fim de reduzir os danos causados pelo metal (POURRUT et al., 2013). O estresse causado pelo Cr pode induzir possíveis tipos de modificação metabólica em plantas como alteração na produção de pigmentos como clorofilas e carotenoides que estão envolvidos na manutenção de vida das plantas (BOONYAPOOKANA et al., 2002) e aumento da produção de metabólitos (por exemplo, enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD) e peroxidases (POD)), como uma resposta direta ao estresse de Cr (SHANKER et al., 2003). Graças a esses mecanismos de sobrevivência as espécies vegetais são vastamente utilizadas em projetos de restauração de áreas contaminadas.

As espécies florestais estão sendo estudadas há alguns anos para avaliação do seu potencial fitorremediador de metais, pois estas apresentam características importantes, principalmente a de não fazerem parte da cadeia alimentar humana e, assim, deixam de introduzir o contaminante na dieta da população. Algumas espécies arbóreas já foram

classificadas como fitorremediadoras para diversos metais pesados, as quais em sua maioria têm a peculiaridade de serem hiperacumuladoras, que são aquelas que acumulam grande quantidade do elemento tóxico na parte aérea (SILVA et al., 2011; CAIRES, 2005; IRIE et al., 2008; FRANÇA, 2011). Entretanto, nos casos de recuperação de áreas contaminadas também é importante levar em consideração os aspectos ecológicos das espécies e sua relevância ambiental, econômica e dependendo do projeto, a importância paisagística.

O gênero *Handroanthus* apresenta características interessantes para ser utilizado como fitorremediador, pois além de sua floração exuberante, possui uma alta adaptabilidade fisiológica às diversas condições ambientais (MARTINS; LAGO; CÍCERO, 2012; SAMPAIO; POLO; BARBOSA, 2012). Pertencem ao gênero as espécies *Handroanthus heptaphyllus* (VELL.) MATTOS e *Handroanthus chrysotrichus* (MART. ex DC) MATTOS, conhecidas popularmente por Ipê-roxo e Ipê-amarelo, respectivamente, devido à coloração de sua floração. São espécies com grande importância ecológica, econômica e paisagística.

Tendo em vista, a contaminação ambiental por Cr e seus riscos à saúde humana, o presente estudo teve como objetivo avaliar o comportamento das espécies nativas cultivadas na presença do metal e determinar sua capacidade de serem utilizadas como fitorremediadoras do Cr.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. MATERIAL VEGETAL E CONDIÇÕES DE CRESCIMENTO

O estudo foi realizado em casa de vegetação e no Laboratório de Fisiologia Vegetal e Nutrição de Plantas pertencente ao Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS (29° 42' 56" S, 53°43'13" O e altitude de 95 m). As sementes de *Handroanthus chrysotrichus* e *Handroanthus heptaphyllus* foram obtidas no Centro de Pesquisas em Florestas – DDPA de Santa Maria, RS. Inicialmente, as sementes passaram por processo de assepsia, em câmara de fluxo, onde foram desinfetadas com etanol 70% (v/v) por 30 segundos e após em hipoclorito de sódio (NaOCl) 5% (v/v) por 15 minutos, sendo então enxaguadas três vezes seguidas com água destilada. Parte dessas sementes foi direcionada para o teste de germinação e as demais foram encaminhadas para as placas de petri sob papel Germitest umedecido com água destilada, as quais foram mantidas em câmara de crescimento a 28°C e com fotoperíodo de 16h/8h de luz/escuro por 28 dias. Subsequentemente, foram

selecionadas as sementes pré-germinadas e transferidas para tubetes de 280 cm³ completos com substrato comercial (composto por: turfa, casca de árvore triturada, serradura e fibra de coco e os materiais de origem mineral incluem vermiculita e perlita), onde permaneceram em casa de vegetação crescendo por quatro meses, recebendo irrigação diária com lâmina de 1mm, intercalando água e solução nutritiva completa. Após o período de crescimento, 100 mudas de cada espécie foram encaminhadas para o sistema hidropônico composto por recipientes plásticos com capacidade de 5 litros de solução nutritiva utilizando 5 plantas para cada unidade experimental, suspensas em placas de poliestireno recebendo aeração constante. Os experimentos de cada espécie foram conduzidos separadamente em mesmas condições climáticas.

As plantas foram aclimatadas durante 7 dias em solução nutritiva adaptada da solução descrita por Hoagland; Arnon composta por (em μM): 6090,5 de N; 974,3 de Mg; 4986,76 de Cl; 2679,2 de K; 2436,2 de Ca; 359,9 de S; 243,592 de P; 0,47 de Cu; 2,00 de Mn; 1,99 de Zn; 0,17 de Ni; 24,97 de B; 0,52 de Mo; 47,99 de Fe ($\text{FeSO}_4/\text{Na-EDTA}$) (HOAGLAND & ARNON, 1938). Após esse período as mudas receberam nova solução com adição de dicromato de potássio, fonte utilizada de Cr, e realizou-se o balanceamento químico de potássio para que todos os tratamentos tivessem a mesma concentração do nutriente. O pH foi utilizado foi 6,0 ($\pm 0,1$), no qual o metal encontra-se disponível para as plantas, e com diferentes concentrações de cromo (Cr), descritas abaixo:

Tratamento 1: 0 mg L⁻¹ de Cr⁶⁺ (ausência de cromo);

Tratamento 2: 50 mg L⁻¹ de Cr⁶⁺;

Tratamento 3: 100 mg L⁻¹ de Cr⁶⁺;

Tratamento 4: 150 mg L⁻¹ de Cr⁶⁺;

Tratamento 5: 200 mg L⁻¹ de Cr⁶⁺.

As soluções foram trocadas a cada 5 dias, sendo o pH da solução ajustado diariamente. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, utilizando quatro repetições por tratamento. Nessas condições as mudas permaneceram por 10 dias aonde foi observado os primeiros sinais de contaminação nas mudas, então foram realizadas as medições e coletas do material para as análises das variáveis de crescimento, biometria das folhas e raízes e determinação da biomassa fresca de folhas e seca de raízes e folhas.

2.2.DETERMINAÇÃO DAS VARIÁVEIS BIOQUÍMICAS

Após exposição das plantas aos diferentes tratamentos, foram coletadas três plantas por repetição, sendo separadas em parte aérea e raízes, e congeladas imediatamente em nitrogênio líquido, as quais foram posteriormente armazenadas em ultrafreezer -80°C para a determinação das seguintes variáveis:

- Conteúdo de clorofila *a*, *b* e carotenóides de folhas: As clorofilas *a* e *b* e os carotenóides foram extraídos segundo o método de Hiscox; Israelstan (1979) e estimados usando a equação de Lichtenthaler (1987);
- Peroxidação de lipídios de membrana: O grau de peroxidação foi estimado seguindo o método de El-Moshaty et al. (1993). A peroxidação lipídica foi expressa como nmol MDA mg⁻¹ de proteína;
- Atividade das enzimas superóxido dismutase e guaiacol peroxidase: A atividade da enzima superóxido dismutase foi analisada de acordo com o método de Misra; Fridovich (1972) e a atividade das peroxidases não específicas presentes no extrato foi determinada segundo Zeraik et al. (2008), utilizando-se o guaiacol como substrato.
- Conteúdo de peróxido de hidrogênio: Determinado de acordo com o método descrito por Loreto; Velikova (2001). A concentração de H₂O₂ foi expressa como μmol g⁻¹ peso fresco.

2.3.DETERMINAÇÃO DAS VARIÁVEIS FOTOSSINTÉTICAS

Aos 10 dias de exposição dos tratamentos foram realizadas as avaliações na primeira folha completamente expandida, com a utilização do medidor portátil Infra Red Gas Analyzer (IRGA), marca LI-COR, modelo LI-6400 XT, utilizando uma radiação fotossintética de 1500 μmol m⁻² s⁻¹ e concentração de CO₂ de 400 μmol mol⁻¹. Foram utilizadas quatro plantas por repetição de cada tratamento. As leituras foram realizadas entre as 8 e 11 horas da manhã, onde foram determinados os seguintes parâmetros: taxa de assimilação líquida de CO₂ (*A* - μmol CO₂ m⁻² s⁻¹), condutância estomática de vapores de água (*G*_s - mol H₂O m⁻² s⁻¹), concentração interna de CO₂ (*C*_i - (μmol CO₂ mol ar⁻¹), taxa transpiratória (*T*_{mmol} - mmol H₂O m⁻² s⁻¹), eficiência do uso da água (*E*_{UA} - mol CO₂ mol H₂O⁻¹) obtida pela relação entre quantidade de CO₂ fixado pela fotossíntese e quantidade de água transpirada, e eficiência instantânea da carboxilação da Rubisco (*A/C*_i) obtida pela relação entre quantidade de CO₂ fixado pela fotossíntese e concentração interna de CO₂.

2.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos a normalização da variância utilizando o Teste de Shapiro-Wilk a 5% com auxílio do programa estatístico PAST (HAMMER et al., 2001), para posteriormente ser realizada a análise de variância (ANOVA). As médias dos tratamentos foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, com o auxílio do programa estatístico SISVAR versão 5,6 (FERREIRA, 2020).

3. RESULTADOS

3.1. DIAGNOSE VISUAL DE SINTOMAS DE TOXIDAZ

Ao final do experimento foram observados sinais de toxidez causados pelo Cr, nas duas espécies. A *H. heptaphyllus* apresentou um visível adelgaçamento e quebra de suas raízes secundárias, além do escurecimento de todo seu sistema radicular. Nos tratamentos de 100 e 200 mg L⁻¹ observou-se uma pigmentação verde clara em suas folhas e necrose em diversos pontos ao longo da sua área foliar (Figura 1).

Figura 1- Comparação visual de mudas de *H. heptaphyllus* cultivadas em solução nutritiva, com diferentes concentrações de Cr, após 10 dias de exposição ao metal.

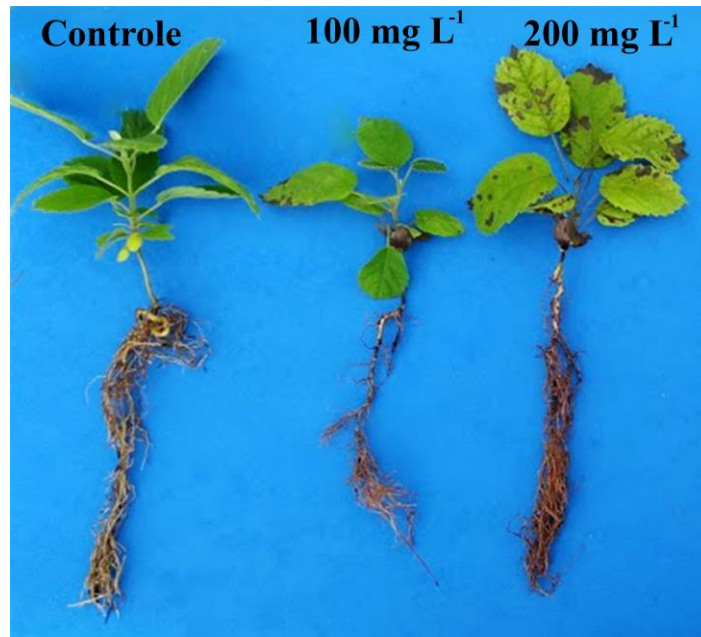


FONTE: SASSO, V. M. (2019).

Sintomas semelhantes foram observados na *H. chrysotrichus*, onde o tratamento com 200 mg L⁻¹ apresentou inúmeras manchas de necrose nas folhas, principalmente nas mais velhas, além das folhas apresentarem senescência precoce. O sistema radicular apresentou escurecimento, contudo não foi visualizado grande perda das raízes mais finas, como apresentada pelo Ipê-roxo. Os tricomas do pecíolo foliar na maior concentração de Cr, apresentaram pequenos cristais de coloração alaranjada semelhante a cor do Cr (Figura 2).

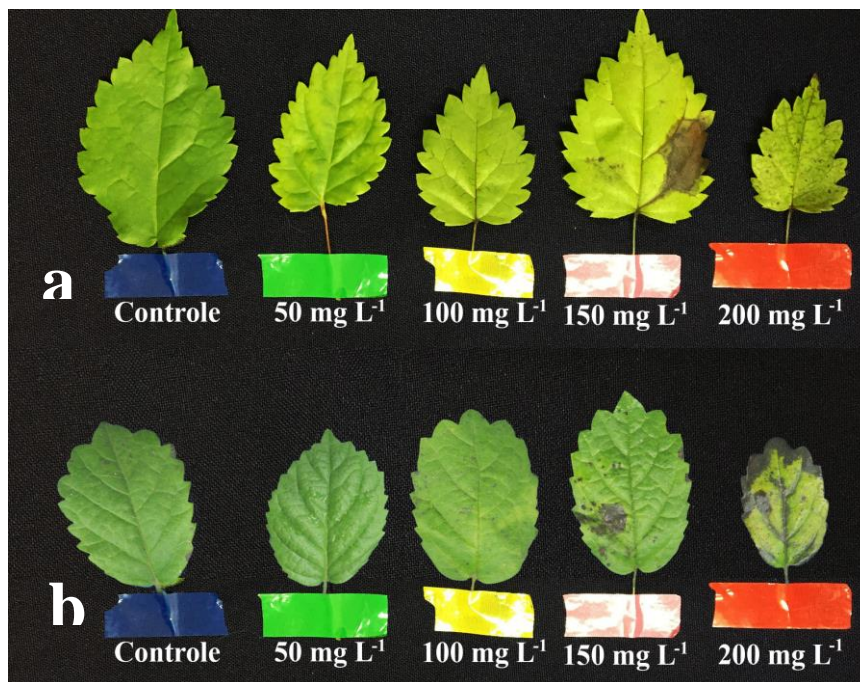
Em ambas as espécies as nervuras das folhas apresentaram necrose, sendo mais acentuada nos tratamentos de 100, 150 e 200 mg L⁻¹ de Cr (Figura 3). A *H. heptaphyllus* apresentou em algumas mudas deformação nos folíolos, tanto no número quanto em seu formato, tal problema não foi observado no *H. chrysotrichus*, entretanto essa espécie apresentou acentuada necrose no centro do caule e do pecíolulo (Figura 4).

Figura 2- Comparação visual de mudas de *H. chrysotrichus* cultivadas em solução nutritiva, com diferentes concentrações de Cr, após 10 dias de exposição ao metal.



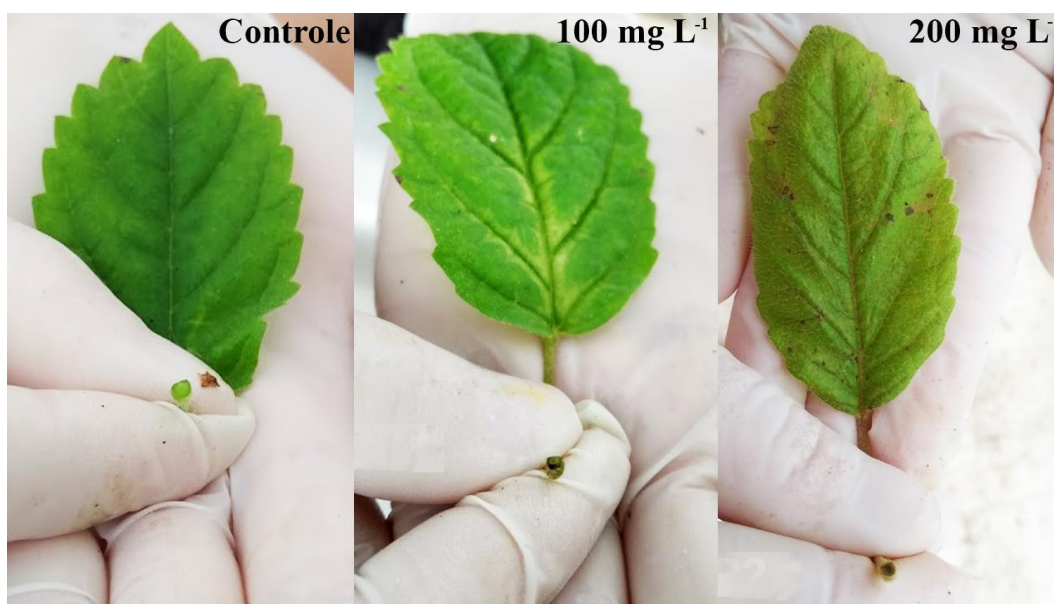
FONTE: SASSO, V. M. (2019).

Figura 3- Comparação visual dos folíolos de *H. heptaphyllus* (a) e de *H. chrysotrichus* (b) cultivadas em solução nutritiva, com diferentes concentrações de Cr, após 10 dias de exposição ao metal.



FONTE: SASSO, V. M. (2019).

Figura 4 – Comparação do peciólulo de *H. chrysotrichus* cultivada em solução nutritiva com diferentes concentrações de Cr, após 10 dias de exposição ao metal.



FONTE: SASSO, V. M. (2019).

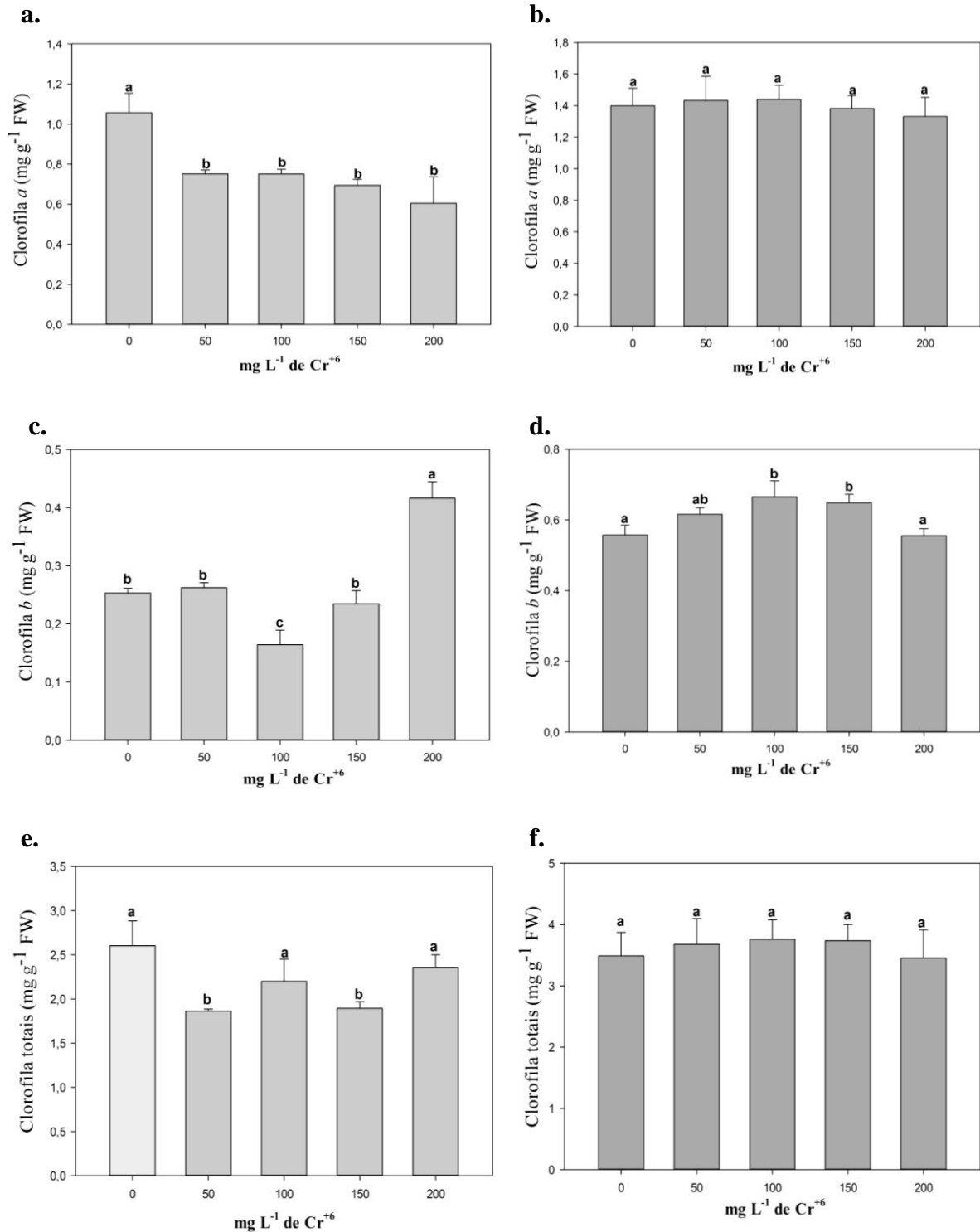
3.2. QUANTIFICAÇÃO DAS VARIÁVEIS BIOQUÍMICAS EM *H. chrysotrichus* e *H. heptaphyllus*

3.2.1. Pigmentos fotossintéticos

Os teores de clorofila *a* nas mudas de *H. heptaphyllus* reduziram a medida que as concentrações de Cr aumentaram. Já para o *H. chrysotrichus* não foi observada diferenças significativas entre os tratamentos (Figura 5a, 5b).

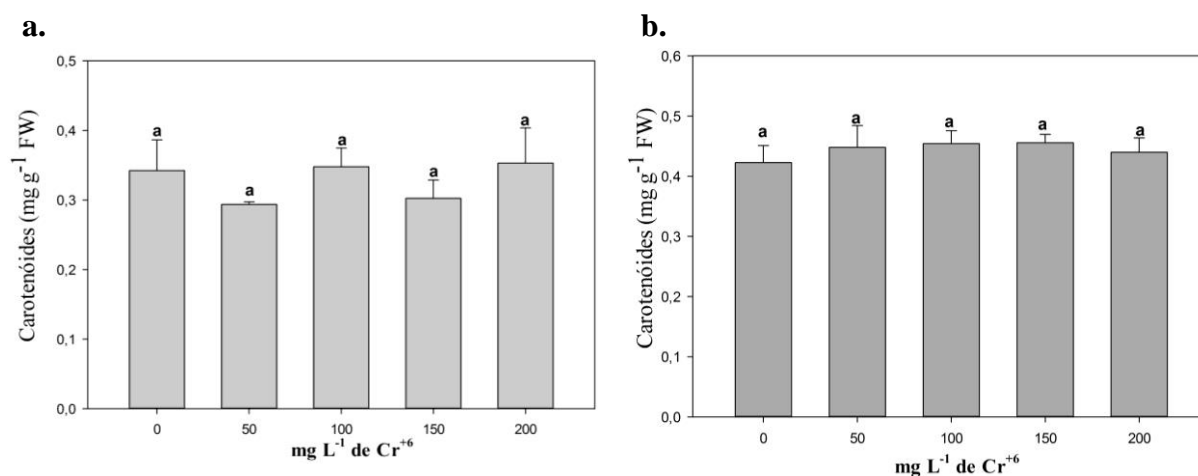
Para clorofila *b*, o Ipê-roxo apresentou um aumento de 21,88% da variável no tratamento com a maior concentração de Cr comparado com o controle. O Ipê-amarelo obteve seus teores de clorofila *b* estimulados com a presença do metal nas concentrações de 100 e 150 mg L⁻¹, enquanto a concentração de 200 mg L⁻¹ não apresentou diferença com o tratamento controle (Figura 5c, 5d). Por consequência, os teores de clorofilas totais não apresentaram diferença estatística entre os tratamentos para ambas as espécies (Figura 5e, 5f). Da mesma forma, para os carotenoides também não houve diferença entre os tratamentos nas mudas de *H. chrysotrichus* e *H. heptaphyllus* (Figura 6a, 6b).

Figura 5– Teores de clorofila *a*, clorofila *b* e clorofilas totais em *H. heptaphyllum* (a, c, e) e *H. chrysotrichus* (b,d,f) submetidas à diferentes concentrações de Cr.



Onde: Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa de *H. heptaphyllum* e *H. chrysotrichus* entre as concentrações de cromo pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$).

Figura 6– Teores de carotenoides em *H. heptaphyllus* (a) e *H. chrysotrichus* (b) submetidas à diferentes concentrações de Cr.



Onde: Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa de *H. heptaphyllus* e *H. chrysotrichus* entre as concentrações de cromo pelo Teste de Tukey (P<0,05).

3.2.2. Atividade das enzimas antioxidantes

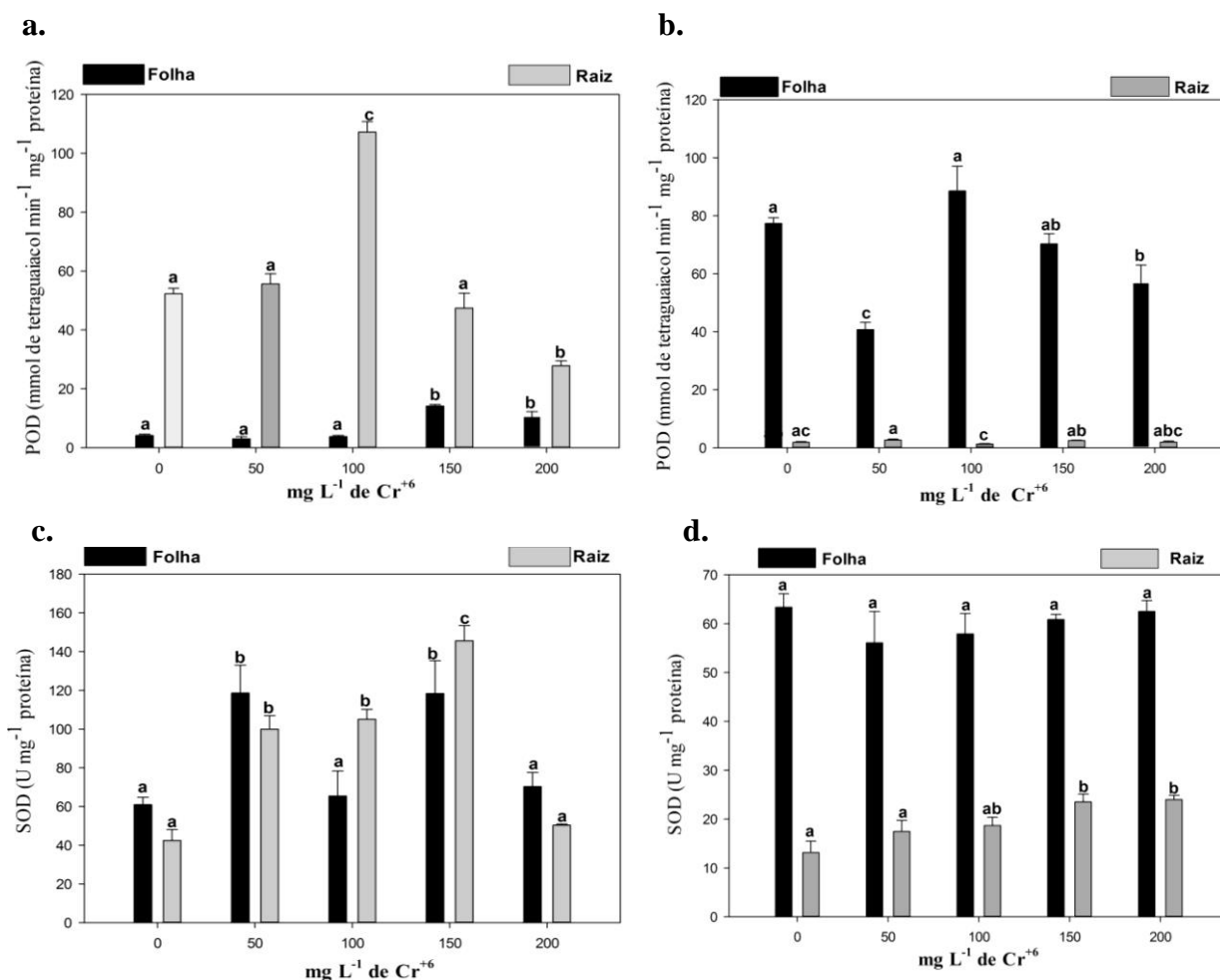
As enzimas antioxidantes apresentaram diferenças significativas tanto nas folhas quanto nas raízes. Para a guaiacol peroxidase (POD) foi observado que a atividade da enzima na parte aérea aumentou nas duas maiores concentrações, apresentando valores 3 vezes maiores que o controle (Figura 7a). Já o Ipê-amarelo apresentou variação significativa perante o teste estatístico, sendo mais evidente na primeira concentração utilizada, havendo um aumento de 42,25%, enquanto as menores concentrações diminuíram a atividade da enzima (Figura 7b).

As raízes são os órgãos que realizam o primeiro contato com o metal, em muitos casos o absorvendo. Nesse sentido, a *H. heptaphyllus* demonstrou um pico na atividade da enzima POD na concentração de 100 mg L⁻¹, enquanto na maior concentração houve uma redução na atividade de 42,72% quando comparado ao controle (Figura 7a). Para o Ipê amarelo, a atividade da enzima reduziu 47,38% e 26,47%, respectivamente, nos tratamentos de 50 e 200 mg L⁻¹, quando comparado ao controle. O pico da atividade enzimática foi observado na concentração de 100 mg L⁻¹, com um incremento de 14,45% (Figura 7b).

A superóxido dismutase (SOD) aumentou sua atividade nas folhas da *H. heptaphyllus* nos tratamentos de 50 e 150mg L⁻¹, apresentando acréscimo percentual de 94,47% e 94,08%, respectivamente, se equiparado ao tratamento controle (Figura 7c). O comportamento da *H. chrysotrichus* não demonstrou quaisquer diferenças significativas entre os tratamentos para o mesmo órgão vegetal (Figura 7d). A atividade da SOD nas raízes do Ipê amarelo foi crescente

a medida em que as concentrações de Cr aumentavam, apresentando diferença significativa entre o controle e os tratamentos com as maiores concentrações de Cr. A atividade da enzima SOD teve um incremento de 78,71% e 82,36%, respectivamente, para os tratamentos 150 e 200mg L⁻¹ (Figura 7d). As raízes do Ipê roxo apresentaram uma maior atividade nos tratamentos de 50, 100 e 150 mg L⁻¹, enquanto ocorreu redução na atividade da enzima no tratamento de 200 mg L⁻¹ não diferindo do controle(Figura 11c).

Figura 7– Atividade das enzimas Guaiacol peroxidase (POD) e Superóxido dismutase (SOD) em raízes e parte aérea de plantas de *H. heptaphyllum* (a, c) e *H. chrysotrichus* (b, d) submetidas à diferentes concentrações de Cr.



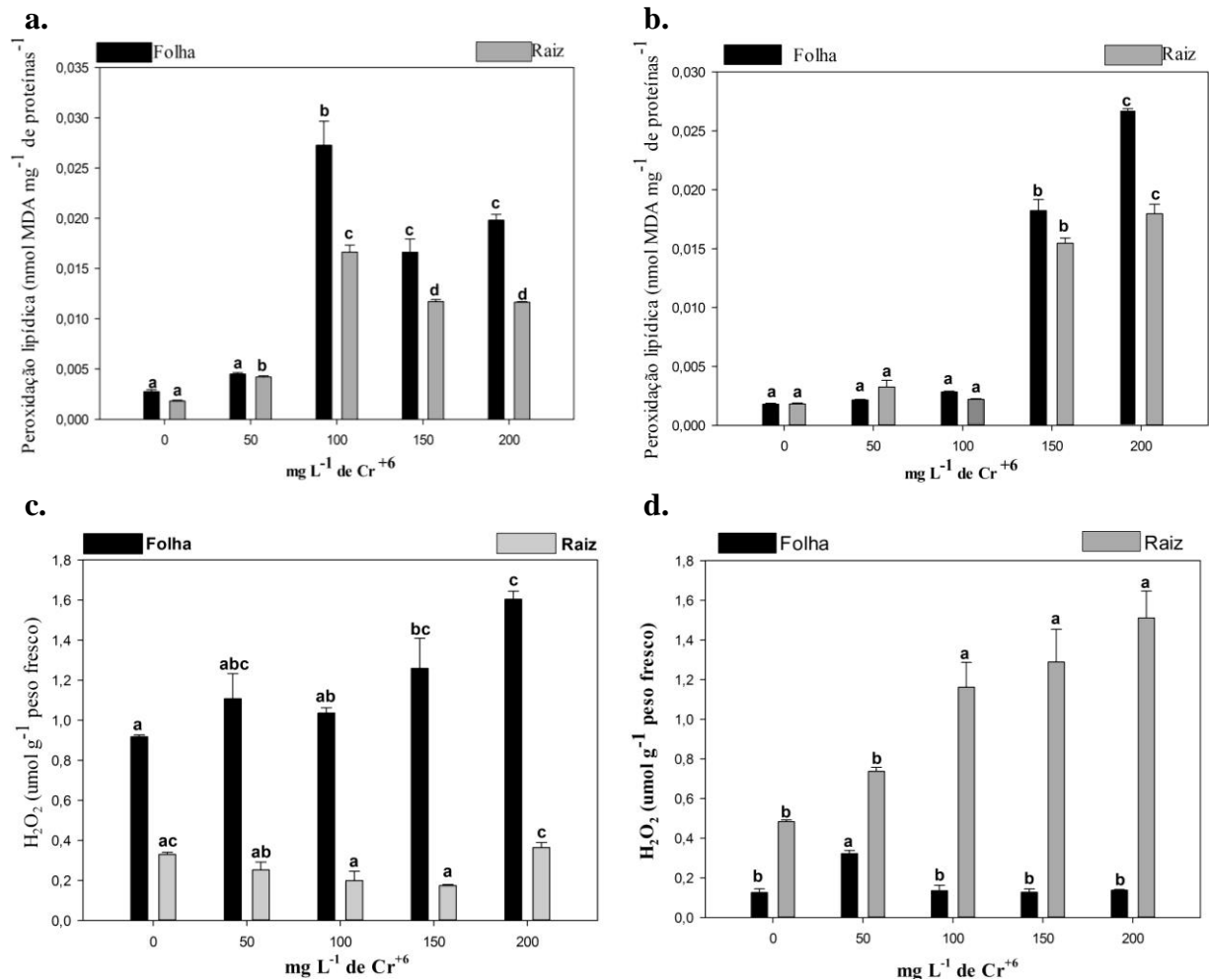
Onde: Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa de *H. heptaphyllum* e *H. chrysotrichus* entre as concentrações de cromo pelo Teste de Tukey (P<0,05).

3.2.3. Quantificação de peróxido de hidrogênio e degradação dos lipídios da membrana

A peroxidação dos lipídios na membrana das células das folhas de *H. heptaphyllus* demonstrou sensibilidade das espécies as concentrações a partir de 100 mg L⁻¹, apresentando diferença significativa entre o controle e as demais concentrações, tendo seu ponto máximo no tratamento com 100 mg L⁻¹, com aumento de 58,83% (Figura 8a). A *H. chrysotrichus*, por sua vez, não sofreu grandes danos a membrana plasmática nas concentrações mais baixas de Cr não diferindo do controle, entretanto, os tratamentos de 150 e 200 mg L⁻¹ de Cr⁶⁺ apresentaram uma alta degradação de lipídios em sua membrana. As raízes dessa espécie também apresentaram comportamento muito semelhante ao da parte aérea, onde as maiores concentrações de Cr ocasionaram maior produção no conteúdo de malondialdeído (MDA), um dos produtos da peroxidação lipídica, enquanto nas demais concentrações não diferiram do controle (Figura 8b). O oposto é observado nas raízes de *H. heptaphyllus* que logo na primeira concentração de Cr apresentaram um acréscimo de 80,99% de MDA, sugerindo uma maior degradação de lipídios (Figura 8a, 8b).

A produção de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) nas plantas de Ipê roxo nos tratamentos de 150 e 200 mg L⁻¹ apresentou aumento de 37,25% e 74,3%, respectivamente, nas folhas. Suas raízes, por outro lado, não diferiram significativamente do controle (Figura 8c), o que também pode ser observado nas raízes de *H. chrysotrichus* (Figura 8d). Na parte aérea das plantas de ipê amarelo, o peróxido de hidrogênio apresentou acréscimos proporcionais ao incremento das concentrações de Cr, onde, na presença de 200 mg L⁻¹, houve um aumento de 214% no conteúdo de peróxido de hidrogênio, comparado com o controle (Figura 8d).

Figura 8 – Peroxidação de lipídeos de membrana e conteúdo de peróxido de hidrogênio em *H. heptaphyllus* (a, c) e *H. chrysotrichus* (b, d) submetidas à diferentes concentrações de Cr.



Onde: Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa de *H. heptaphyllus* e *H. chrysotrichus* entre as concentrações de cromo pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$).

3.3. QUANTIFICAÇÃO DOS PARÂMETROS FOTOSSINTÉTICOS

A taxa de assimilação líquida de CO₂ reduziu drasticamente em todos os tratamentos com a presença de Cr quando comparada ao controle para o *H. heptaphyllus* (Figura 9a). Embora a *H. chrysotrichus* também tenha reduzido sua capacidade de assimilação do CO₂, somente a concentração de 200 mg L⁻¹ apresentou a menor média (Figura 9b).

Para a condutância estomática, ambas as espécies tiveram comportamentos semelhantes, onde a presença de Cr reduziu drasticamente a condutância de todos os

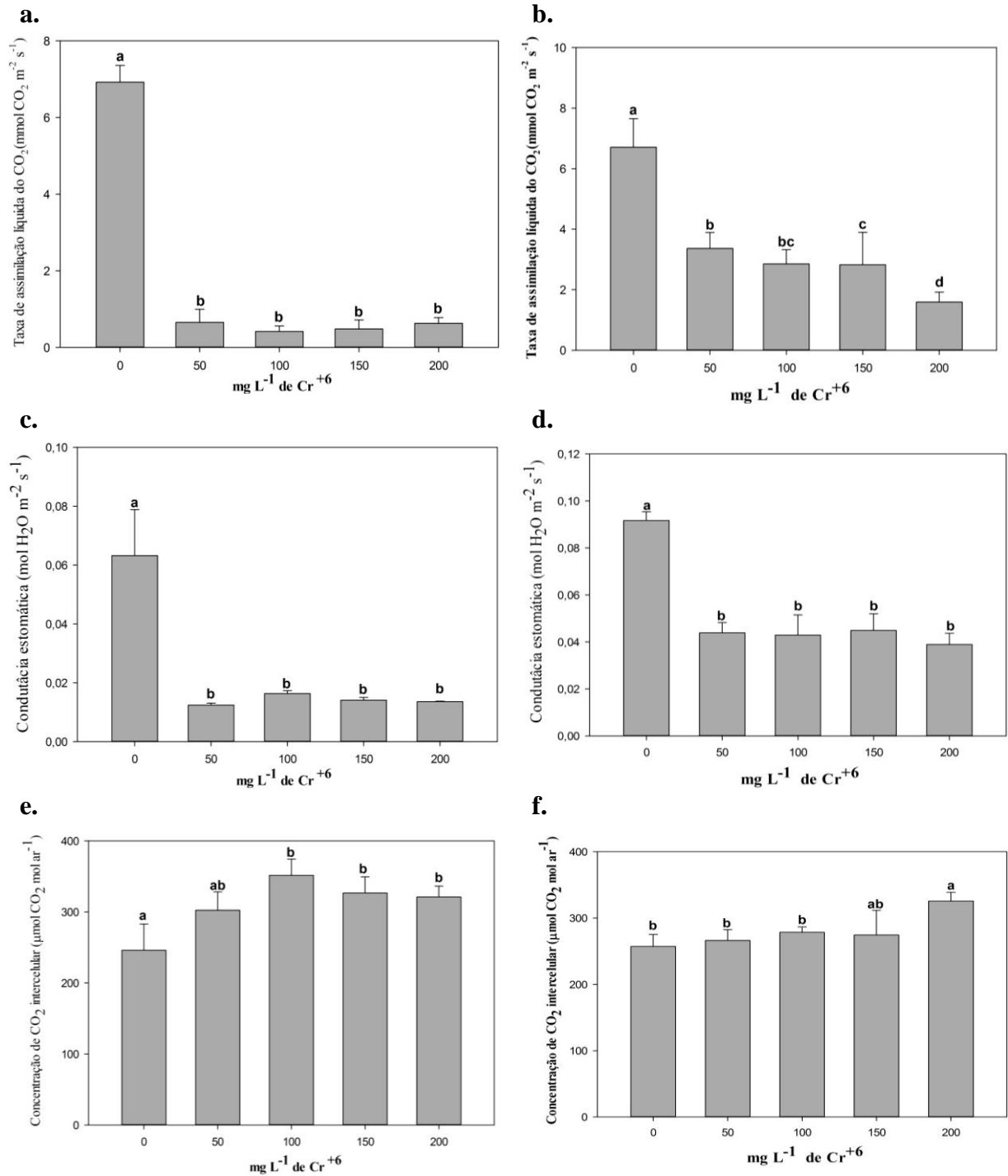
tratamentos (Figura 9c e 8d). As espécies demonstraram o mesmo comportamento, entretanto, a *H. chrysotrichus* apresentou condutância estomática cerca de duas vezes maior que a *H. heptaphyllus* em todos os tratamentos, assim como para a taxa de assimilação líquida de CO₂. A menor média da condutância estomática foi observada no tratamento com maior concentração Cr, com redução de 63,72% em comparação ao controle.

A concentração intercelular de CO₂ aumentou a medida que as concentrações de Cr foram maiores, sendo que a *H. heptaphyllus* apresentou um aumento de 42,77% no tratamento com 100mg L⁻¹, que foi a concentração que obteve a maior média. Já a *H. chrysotrichus* exibiu incremento de CO₂ intercelular somente quando submetida a maior concentração de Cr, apresentando percentual de 21,22% a mais que o tratamento controle, demonstrando que a espécie possui mecanismos de defesas mais eficientes que a *H. heptaphyllus* (Figura 9e, 9f).

As taxas de transpiração apresentaram respostas semelhantes para ambas as espécies, sendo que o controle diferiu significativamente dos demais tratamentos que, por sua vez, não diferiram entre si. A *H. heptaphyllus* indicou menor média da taxa de transpiração na presença de 50 mg L⁻¹ de Cr⁶⁺, com uma redução de 82,1%, e os demais tratamentos exibiram médias maiores, porém ainda muito baixas quando comparadas ao controle. A *H. chrysotrichus* evidenciou comportamento análogo a outra espécie, entretanto suas taxas de transpiração foram superiores, tendo sua menor média expressa no tratamento com 150 mg L⁻¹, com redução de 56,13% (Figura 10a, 10b).

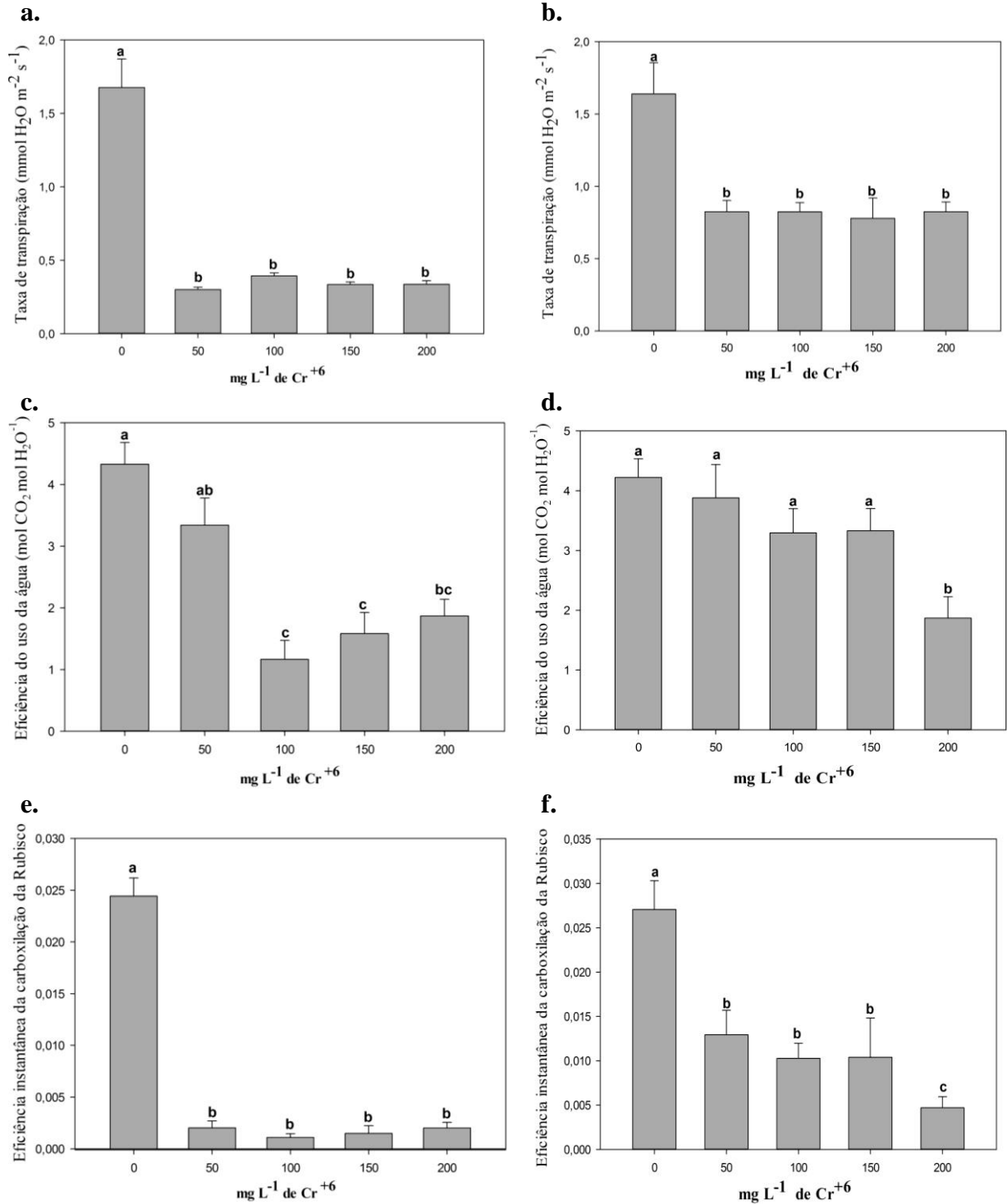
A *H. chrysotrichus* ainda mostrou uma maior tolerância a toxidez do metal tendo em vista que a eficiência do uso da água foi pouco afetada pela presença do contaminante, com exceção da concentração máxima de Cr utilizada que decaiu a eficiência em 52,9%. Já a *H. heptaphyllus*, mais uma vez, demonstrou maior sensibilidade ao Cr, devido à redução significativa da sua eficiência em 72,98% no tratamento com 100 mg L⁻¹ de Cr⁶⁺, e os tratamentos subsequentes expressaram médias mais altas, mas as reduções ainda foram muito significativas, sendo de 63,51% para a concentração de 150 mg L⁻¹ e de 56,81% para a de 200 mg L⁻¹ em relação ao tratamento controle (Figura 10c, 10d). A eficiência instantânea da carboxilação da Rubisco foi afetada pela presença do Cr, onde a *H. heptaphyllus* apresentou diferença significativa em todos os tratamentos quando comparados ao controle, sendo observado uma redução de até 91,7% visualizada no tratamento com 100 mg L⁻¹. A *H. chrysotrichus* também apresentou reduções nesse parâmetro, onde o tratamento com 200 mg L⁻¹ diferenciou-se dos demais ocasionando uma redução de 98,52% em relação ao controle.

Figura 9–Taxa de assimilação líquida de CO₂, condutância estomática e concentração de CO₂ intercelular em plantas de *H. heptaphyllus* (a, c, e) e *H. chrysotrichus* (b, d, f) submetidas à diferentes concentrações de Cr.



Onde: Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa de *H. heptaphyllus* e *H. chrysotrichus* entre as concentrações de cromopelo Teste de Tukey (P<0,05).

Figura 10– Taxa de transpiração, eficiência do uso da água e eficiência instantânea da carboxilação da Rubisco em *H. heptaphyllus* (a, c, e) e *H. chrysotrichus* (b, d, f) submetidas à diferentes concentrações de Cr.



Onde: Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa de *H. heptaphyllus* e *H. chrysotrichus* entre as concentrações de cromopelo Teste de Tukey (P<0,05).

4. DISCUSSÃO

O presente estudo propôs analisar os danos causados pela toxidez de Cr nas mudas de *H. heptaphyllus* e *H. chrysotrichus*, observando as respostas bioquímicas e fotossintéticas das espécies, além de detalhar e justificar os processos e mecanismos de defesa nas plantas as condições de extremo estresse que foram expostas, tendo como objetivo encontrar espécies com potencial fitorremediador, ou seja, tolerantes aos efeitos nocivos do Cr, visando a utilização para a fitorremediação de áreas contaminadas.

As variáveis de crescimento foliar unidas aos sintomas visuais atuam como bioindicadores. Sinais de murcha, clorose e necrose como os observados nesse trabalho corroboram para criação de protocolos de diagnose de contaminação. O Cr⁶⁺ atinge primeiramente as folhas mais velhas como descrito com Dube et al. (2003). A exposição das plantas de *H. heptaphyllus* e *H. chrysotrichus* ao Cr deu início a necrose nas nervuras dos folíolos, o que é perceptível devido a coloração escura, sugerindo a presença do metal no sistema vascular. Junela; Prakash (2005) apontaram que o transporte via xilema ocorre apenas como Cr³⁺, no qual não há gasto de energia, entretanto, sabe-se que o Cr⁶⁺ é absorvido pelas plantas e convertido posteriormente em Cr³⁺ dentro das células. Tal fenômeno possivelmente ocorreu nas mudas de Ipê-roxo e Ipê-amarelo, justificando as marcações nas nervuras, no caule e no centro do peciólulo.

Os pigmentos fotossintéticos são extremamente importantes pois estão envolvidos na síntese de carboidratos, construindo substâncias orgânicas importantes para o desenvolvimento vegetal. A redução dos teores de clorofila observada na *H. heptaphyllus* ocorreu, possivelmente, pelo fato do Cr interferir na biossíntese desses pigmentos, uma vez que o Cr interfere negativamente na síntese de compostos como a ácido δ -aminolevulínico, que é o primeiro composto na via de síntese das clorofilas, os quais podem ser degradados e por consequência diminuir a produção dos pigmentos (KILLINY et al., 2018). O Cr, por outro lado, aumentou a produção de clorofilas na *H. chrysotrichus*, e isso pode ter ocorrido devido ao efeito hormético (CALABRESE; BLAIN, 2009; CALABRESE; MATTSON, 2011). Esse estímulo foi observado nas concentrações entre 50 e 150 mg L⁻¹, principalmente para a clorofila *b*. Os resultados apresentados pela *H. chrysotrichus* foram diferentes do que usualmente se encontra na literatura, sendo o comportamento da *H. heptaphyllus* semelhante ao que foi encontrado por Din et al. (2020) e Singh; Rathore (2019) com *Sesbania sesban*, *Triticum aestivum* e *Capsicum annum*. Possivelmente, os mecanismos de defesa da *H. chrysotrichus* a tornou menos sensível aos danos causados pelo Cr, não afetando

negativamente sua produção de clorofila, assim como a *Plantago ovata* que provou ter estratégias de sobrevivência ao estresse (KUNDU, DEY, RAYCHAUDHURI, 2018).

A exposição das plantas às concentrações elevadas de Cr ocasionou condições de estresse, gerando produtos de oxidação lipídica. O *H. heptaphyllus* apresentou maior sensibilidade, apresentando maior peroxidação dos lipídios da membrana plasmática, os quais são extremamente frágeis a toxicidade gerada pelas ERO, logo os níveis de malondialdeído (MDA), que é um dos biomarcadores mais utilizados por ser um dos produtos da peroxidação lipídica, aumentaram já nas menores concentrações de Cr, sugerindo que o metal causou danos na membrana plasmática, ocorrendo primeiramente nas células das raízes. Para a *H. chrysotrichus*, também houve um aumento na peroxidação lipídica, entretanto, essa espécie apresentou picos na produção de MDA apenas nas maiores concentrações de Cr, demonstrando que é menos sensível em concentrações de até 100 mg L⁻¹. Normalmente concentrações menores que 100 mg L⁻¹ geram acúmulo de MDA, como encontrado por Bilal et al. (2018) que obteve acentuada indução de peroxidação lipídica e produção de ERO na concentração de 5,0 mM de Cr em plantas de *Glycine max*.

O efeito tóxico do Cr leva a criação de ERO, que tem como primeiro mecanismo de combate as enzimas antioxidantes (TAIZ et al., 2017). Esse mecanismo é observado em ambas as espécies. O H₂O₂ é uma das principais ERO, que prejudica diversos processos fisiológicos das plantas entre eles fechamento estomático e formação de ligações transversais na parede celular. Embora sua presença possa ser uma ameaça, o H₂O₂ também pode ser um sinalizador de estresse e ativador das vias de defesa da planta (MITTLER et al., 2011). Desse modo, o fato de as raízes de *H. chrysotrichus* e *H. heptaphyllus* não terem apresentado diferença significativa entre o controle e os tratamentos com Cr pode sinalizar que essas plantas não estariam passando por estresse oxidativo. Entretanto, a enzima SOD, que é a principal linha de defesa contra as ERO, teve sua atividade amplificada nesse órgão, possivelmente degradando o ânion superóxido e o transformando em H₂O₂ (IRFAN et al., 2014). Nas folhas a produção de H₂O₂ não teve o mesmo comportamento, onde os tratamentos com maior concentração de Cr tiveram elevada produção de H₂O₂. Em resposta ao estresse, houve incremento na atividade da enzima POD na *H. heptaphyllus*, a qual, além de eliminar o H₂O₂ também participa da biossíntese de lignina, que por sua vez, cria um obstáculo protegendo as plantas dos metais pesados (BASHRI et al., 2016). A *H. chrysotrichus* apresentou alta atividade da SOD, apresentando valores bem superiores da *H. heptaphyllus*, provavelmente sendo a principal responsável pela homeostase da planta diante do estresse oxidativo. Indicativos de tolerância à toxicidade do Cr como os reportados nesse estudo

também foram observados em *Solanum nigrum* e *Parthenium hysterophorus* (UDDIN, BANO, MASOOD, 2015).

O estresse causado pelo Cr influenciou negativamente a fotossíntese. De modo geral, a *H. heptaphyllus* apresentou redução em todos os parâmetros fotossintéticos, e esse declínio de desempenho fotossintético pode ser relacionado à redução de pigmentos fotossintéticos que a espécie sofreu induzido pela presença do Cr (MISHRA; TRIPATHI, 2009; SHARMA et al., 2016). O Cr, principalmente no seu estado hexavalente (Cr^{6+}), pode competir com íons de magnésio (Mg) dos sítios ativos de muitas enzimas e esgotar o conteúdo de clorofila (LIU et al., 1993). Vernay et al. (2007) e Rodriguez et al. (2012) propõem que esses efeitos estão ligados a inibição da Rubisco, que pode ser causada pela troca do Mg pelo Cr, o que reduz a afinidade da enzima para o CO_2 . O cromo, em altas concentrações, pode levar a redução do rendimento quântico da fotossíntese, conseqüentemente reduzir a taxa de assimilação líquida de CO_2 , interferindo na condutância estomática, afetando o metabolismo da planta (ELFADL; LUUKKANEN, 2006). A *H. chrysotrichus* assemelhou-se com a *H. heptaphyllus*, com ressalvas para a concentração de CO_2 intercelular (C_i) e a eficiência do uso da água (EUA), que diferiram significativamente do controle na concentração de 200 mg L^{-1} . Contudo a C_i aumentou na maior concentração de Cr, enquanto a EUA foi reduzida em 52,9%. Já nas demais concentrações as taxas de C_i foram bem próximas aos valores apresentados pelas plantas controle. Isso pode ter ocorrido devido a redução da eficiência da fixação do carbono, através do aumento do C_i , como também foi observado por Vernay et al. (2007) em plantas de *Lolium perene* L. Efeito semelhante foi observado por Liang et al. (2019) em seu estudo com Mn, onde o aumento no C_i e a redução da taxa de assimilação líquida pode estar relacionada ao excesso de Cr nas células. Assim como o Mn, o Cr, por possuir especiação semelhante, pode ter bloqueado a transferência de elétrons no fotossistema II.

Através da coleção de dados observados neste estudo sugere-se que as espécies *H. chrysotrichus* e *H. heptaphyllus* possuem potencial bioindicador para ambientes contaminados por Cr. A exposição prolongada das plantas a presença do metal causaram sinais visuais de toxidez, sendo assim possível visualizar rapidamente a presença no metal no meio. A união dos diversos parâmetros utilizados no estudo ajuda a esclarecer o comportamento das espécies florestais quando expostas a altas concentrações de Cr, uma vez que o metal é capaz de alterar a fotossíntese.

5. CONCLUSÕES

Em conclusão, esse estudo demonstra que as plantas de *H. chrysotrichus* e *H. heptaphyllus* possuem potencial para a utilização como bioincadores da presença do Cr nos meios, tendo suas trocas gasosas comprometidas. O destaque para a *H. chrysotrichus* é necessário, visto que, apresentou uma menor sensibilidade ao metal contaminante, em concentrações inferiores a 100 mg L⁻¹, através da menor peroxidação lipídica, baixa atividade da enzima POD, além de ter sua produção de clorofila *b* estimulada. Observou-se que ambas as espécies tentaram ativar seus mecanismos de defesas contra a toxicidade de Cr, entretanto sem muita eficiência, em especial o Ipê-Roxo. Desse modo, a *H. chrysotrichus* poderia ser utilizada na recuperação de áreas contaminadas por Cr em concentrações de até 50 mg L⁻¹ com sucesso.

6. REFERÊNCIAS

- ATAFAR, Z, MESDAGHINIA, A.; NOURI, J.; HOMAEE, M.; YUNESIAN, M.; AHMADIMOGHADDAM, M. Effect of fertilizer application on soil heavy metal concentration. **Envir. Monit. Assess.**, v.160, p. 83-89, 2010.
- BASHRI, G.; PARIHAR, P.; SINGH, S.; SINGH, V. P.; PRASAD, S. M. Physiological and biochemical characterization of two *Amaranthus* species under Cr(VI) stress differing in Cr(VI) tolerance. **Plant Phys. and Biochem.**, v. 108, p. 13-23, 2016.
- BITEW, Y., ALEMAYEHU, M. Impact of crop production inputs on soil health: a review. **Asian J. Plant Sci.**,v. 16,n. 3, p. 109–131, 2017.
- BILAL, S.; KHAN, A. L.; SHANZAD, R.; KIM, Y.; IMRAN, M.; HKAN, M. J.; AL-HARRASI, A.; KIM, T. H.; LEE, I. Mechanisms of Cr(VI) resistance by endophytic *Sphingomonas* sp. LK11 and its Cr(VI) phytotoxic mitigating effects in soybean (*Glycine max* L.) **Ecot. And Envir. Safety**,v. 164, p. 648-658, 2018.
- BONET, A.; POSCHENRIEDER, C.; BARCELO, J. (1991) Chromium III-iron interaction in Fe-deficient and Fe-sufficient bean plants. I. Growth and nutrient content. **J. Plant Nutr.**,v. 14, n. 4, p. 403–414, 1991.
- BOONYAPOOKANA, B.; UPATHAM, E. S.; KRUATRACHUE, M.; POKETHITIYOOK, P.; SINGHAKAEW, S. Phytoaccumulation and Phytotoxicity of Cadmium and Chromium in Duckweed *Wolffia globosa*. **Intern. Jour. Phytor.**, v. 4, n. 2, p. 87-100, 2002.
- CAIRES, S. M. **Comportamento de mudas de espécies florestais nativas na fitorremediação de solo contaminado com zinco e cobre**. Viçosa, 2005. Dissertação (Mestrado), Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, Universidade Federal de Viçosa, 2005.

- CALABRESE, E. J.; BLAIN, R. B. Hormesis and plant biology. **Environ. Pollut.**, v. 157, n. 1, p. 42-48, 2009.
- CALABRESE, E. J.; MATTSON, M. P. Hormesis provides a generalized quantitative estimate of biological plasticity. **J. Cell Commun. Signal.**, v. 5, n. 1, p. 25-38, 2011.
- DIN, B. U.; AMNA; RAFIQUE, M.; JAVED, M. T.; KAMRAN, M. A.; MEHMOOD, K.; KHAN, M.; SULTAN, T.; MUNIS, M. F. H.; CHAUDHARY, H. J. Assisted phytoremediation of chromium spiked soils by *Sesbania sesban* association with *Bacillus xiamenensis* PM14: A biochemical analysis. **Plant Phys. and Bioch.** v. 146, p. 249-258, 2020.
- DUBE, B., TEWARI, K., CHATTERJEE, J., CHATTERJEE, C. Excess chromium alters uptake and translocation of certain nutrients in *Citrullus*. **Chemosphere**, v. 53, p. 1147-1153, 2003.
- ELFADL, M.A.; LUUKKANEN, O. Field studies on the ecological strategies of *Prosopis juliflora* in a dryland ecosystem. 1. A leaf gas exchange approach. **J. Arid Environ.**, v. 66, p. 1-15, 2006.
- FRANÇA, A. C. M. **Levantamento florístico e características anatômicas de espécies nativas do cerrado em solos contaminados por metais pesados**. Lavras, 2011. Dissertação (Mestrado), Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada, Universidade Federal de Lavras, 2011.
- IRIE, C. N.; KAVAMURA, V. N.; ESPOSITO, E. **Avaliação do potencial da embaúba (*Cecropia cf. pachystachya* Trécul) para recuperação de solos contaminados com metais pesados**. IN.: Congresso de Iniciação Científica, 11, 2008, Mogi das Cruzes. *Anais...*, Mogi das Cruzes: [s.n.], 2008.
- IRFAN, M.; AHMAD, A.; HAYAT, S. Effect of cadmium on the growth and antioxidant enzymes in two varieties of *Brassica juncea*, **Saudi Jour. Of Biol. Sciences**, v. 21, n. 2, p. 125-131, 2014.
- JUNELA, S.; PRAKASH, S. The chemical form of trivalent chromium in xylem sap of maize (*Zea mays* L.). **Chemical Speciation & Bioavailability**, v. 17, n. 4, p. 161-169, 2005.
- KILLINY, N.; HIJAZ, F.; NEHELA, Y.; HAJERI, S.; GOWDA, S. Effects of δ -aminolevulinic acid dehydratase silencing on the primary and secondary metabolisms of citrus. **Plant Direct**, v.2, n.7, p. 1-19, 2018.
- KUNDU, D.; DEY, S.; RAYCHAUDHURI, S.S. Chromium (VI) – induced stress response in the plant *Plantago ovata* Forsk in vitro. **Genes Environ.**, v. 40, n. 21, p. 1-13, 2018.
- LA GUARDIA, M.; MORALES-RUBIO, A. Sample preparation for chromium speciation. **Comprehensive Analytical Chemistry**, v. 41, p. 1115-1171, 2003.
- LIANG, H.; ZHU, F.; WANG, R.; HUANG, X.; CHU, J. Photosystem II of *Ligustrum lucidum* in response to different levels of manganese exposure. **Sci. Rep.**, 9:12568 | <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48735-8>, 2019.
- LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids—pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods Enzymol.**, v. 148, p. 350-382, 1987.
- LIU, D.H.; JAING, W.S.; LI, M.X. (1993) Effect of chromium on root growth and cell division of *Allium cepa*. **Israel J. Plant. Sci.**, v.42, p.235-243,1993.

- LORETO, F.; VELIKOVA, V. Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes. **Plant Physiology**, v. 127, p. 1781-1787, 2001.
- MARTINS, L.; LAGO, A.; CICERO, S. M. Conservação de sementes de ipê-roxo. **Revista brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 16, n. 1, p. 405-410, 2012.
- MITTLER, R.; VANDERAUWERA, S.; SUZUKI, N.; MILLER, G.; TOGNETTI, V. B.; VANDEPOELE, K.; GOLLERY, M.; SHULAEV, V.; BREUSEGEM, F. V. ROS signaling: the new wave? **Trends in Plant Science**, v. 16, n.6, p.300-309, 2011.
- MISHRA, V. K.; TRIPATHI, B. D. Accumulation of chromium and zinc from aqueous solutions using water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). **J. Hazard. Mater.**, v. 164, n.2, p. 1059-1063, 2009.
- RODRIGUEZ, E.; SANTOS, C.; AZEVEDO, R.; PEREIRA, J. M.; CORREIA, C.; DIAS, M. C. Chromium (VI) induces toxicity at different photosynthetic levels in pea. **Plant Phys. Bioch.**, v. 53, p. 94-100, 2012.
- SAMPAIO, M. T. F.; POLO, M.; BARBOSA, W. Estudo do crescimento de espécies de árvores semidecíduas em uma área ciliar revegetada. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 36, n. 5, p. 879-885, 2012.
- SHANKER, A.K. **Physiological, biochemical and molecular aspects of chromium toxicity and tolerance in selected crops and tree species**. PhD Thesis, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, India; 2003.
- SHANKER, A.K.; CERVANTES, C.; LOZA-TAVERA, H.; AVUDAINAYAGAM, S. Chromium toxicity in plants. **Environ. Internat.**, v. 31, p.739-753, 2005.
- SHARMA, P.; KUMAR, A.; BHARDWAJ, R. Plant steroidal hormone epibrassinolide regulate–Heavy metal stress tolerance in *Oryza sativa* L. by modulating antioxidant defense expression. **Environ. Exp. Bot.**, v. 122, p. 1-9, 2016.
- SILVA, R. F.; LUPATINI, M.; ANTONIOLLI, Z. I.; LEAL, L. T.; JUNIOR, C. A. M. Comportamento de *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub., *Parapiptadenia rigida* (Benth.) Brenan e *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong cultivadas em solo contaminado com cobre. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 21, n. 1, p. 103-110, 2011.
- SINGH, R.; RATHORE, D. Impact assessment of azulene and chromium on growth and metabolites of wheat and chilli cultivars under biosurfactant augmentation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.186, p. 1-11, 2019.
- SRIVASTAVA, R.; UPRETI, R.K.; CHATURVEDI, U.C. Effects of chromium on the immune system. **FEMS Immunol Med Microb.**, v. 34, n. 1, p. 1–7, 2002.
- POURRUT, B.; SHAHID, M.; DOUAY, F.; DUMAT, C.; PINELLI, E. Molecular Mechanisms Involved in Lead Uptake, Toxicity and Detoxification in Higher Plants. **Heavy Metal Stress in Plants**, pp. 121-147, 2013.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento Vegetal**. Artmed, 6ª ed. Porto Alegre, 888 p. 2017.

UDDIN, I.; BANO, A.; MASOOD, S. Chromium toxicity tolerance of *Solanum nigrum* L. and *Parthenium hysterophorus* L. plants with reference to ion pattern, antioxidation activity and root exudation. **Ecotox. And Envir. Safety**, v. 113, p. 271-278, 2015.

VERNAY, P.; MOUSSARD, C. G.; HITMI, A. Interaction of bioaccumulation of heavy metal chromium with water relation, mineral nutrition and photosynthesis in developed leaves of *Lolium perenne* L. **Chemosphere**, v.68, n.8, p. 1563-1575, 2007.

ZERAIK, A. E.; SOUZA, F. S.; FATIBELLO-FILHO, O. Desenvolvimento de um spot test para o monitoramento da atividade da peroxidase em um procedimento de purificação. **Química Nova**, v. 31, p. 731-734, 2008.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

De modo geral, ambas as espécies apresentaram dificuldade de superar os danos gerados pelas concentrações acima de 100 mg L⁻¹ de cromo (Cr). Embora a *H. heptaphyllus* tenha apresentado uma elevada taxa de germinação mesmo com a presença do Cr, a *H. chrysotrichus* demonstrou resultados mais otimistas na maioria das variáveis avaliadas. Os tratamentos com presença de Cr não diferiram, em sua maioria, do controle na área radicular e foliar, no diâmetro médio das raízes, na atividade da enzima POD, na peroxidação lipídica e na presença de H₂O₂ nas raízes, na eficiência do uso da água e na concentração interna de CO₂. Em algumas variáveis a *H. heptaphyllus* demonstrou sensibilidade ao metal, invalidando a hipótese de que a tolerância a contaminação está relacionada com o gênero, devido ao comportamento distinto das duas espécies.

Os danos visualizados nas plantas foram semelhantes e característicos da contaminação por Cr. Levando em consideração que as concentrações de Cr consideradas normais para os solos brasileiros são inferior a 40 mg kg⁻¹, e seu valor limite é de até 75 mg kg⁻¹, ou seja, valores acima desse tornam, perante a lei, o solo incapaz de sustentar as suas funções principais (BRASIL, 2009). Nesse sentido, as espécies *H. chrysotrichus* e *H. heptaphyllus* podem ser consideradas bioindicadoras de áreas com elevada contaminação por cromo, sendo que a *H. chrysotrichus* ainda pode ser utilizada em etapas da recuperação de áreas contaminadas com Cr no Brasil.

6. REFERÊNCIAS

- ALI, S.; CHAUDHARY, A.; RIZWAN, S.; ANWAR, H. T.; ADREES, M.; FARID, M.; IRSHAD, M. K.; HAYAT, T.; ANJUM, S. A. Alleviation of chromium toxicity by glycinebetaine is related to elevated antioxidant enzymes and suppressed chromium uptake and oxidative stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) **Environ. Sci. Pollut. Res.**, v. 22, p. 10669-10678, 2015.
- ASHRAF, S. Phytoextraction of Lead and Cadmium by Grasses from Contaminated Soil Amended with Acidulated Cow Dung Slurry/extract and Bioaugmented with Sulfur Oxidizing Bacteria. (Ph.D. diss). **Inst. Soil Env. Sci.**, Univ. Agric., Faisalabad, Pakistan, 2017.
- BAKER, A. J. M.; BROOKS, R. R. Terrestrial higher plants which hyper-accumulate metallic elements – A review of their distribution ecology and phytochemistry. **Biorecovery**, v.1, p. 81-126, 1989.
- BARRERA-DÍAZ, C. E.; LUGO-LUGO, V.; BILYEU, B. A review of chemical, electrochemical and biological methods for aqueous Cr(VI) reduction. **J. Hazardous Materials**, v. 223, p. 1-12, 2012.
- BARUTHIO, F. Toxic effects of chromium and its compounds. **Biol. Trace Elem. Res.**, v. 32, p. 145-153, 1992
- BECQUER, T.; QUANTIN, C.; SICOT, M.; BOUDOT, J.P. Chromium availability in ultramafic soils from New Caledonia. **Sci Total Environ.** v.301, p.251– 261, 2003.
- BRASIL. **Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução 420**, de 28 de dezembro de 2009 [internet] Conselho Nacional do Meio Ambiente , Brasília, DF (2009) <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=620> (Acessado em 10 de dezembro de 2019).
- BUNKEN, J. G; SCHNOOR, J. L. Uptake and metabolism of Atrazine by Poplar Trees, **Environ. Sci. Technol.**, v. 31, p. 1399-1406, 1997.
- BUNKEN, J. G; SCHNOOR, J. L. Distribution and volatilization of organic compounds following uptake by hybrid poplars. **Internat. Jour. Phytorem.**, v. 1, n. 2, p. 39-51, 1999.
- CAIRES, S. M. **Comportamento de mudas de espécies florestais nativas na fitorremediação de solo contaminado com zinco e cobre.** Viçosa, 2005. Dissertação (Mestrado), Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, Universidade Federal de Viçosa, 2005.
- CAIRES, S.M.; FONTES, M.P.; FERNANDES, R.B.A.; NEVES, J.C.L.; FONTES, R.L. Desenvolvimento de mudas de cedro-rosa em solo contaminado com cobre: tolerância e potencial para fins de fitoestabilização do solo. **Rev. Árvore.** Viçosa, n. 35, p. 1181-1188, 2011.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira.** EMBRAPA, SPI, p.640, 1994.
- CCME, **Canadian soil Quality Guidelines for the Protection of Environmental and Human Health**, Canada Council of Ministers of the Environment Winnipeg, 2015.
- CHAOUA, S.; BOUSSAA, S.; EL GHARMALI, A.; BOUMEZZOUGH, A. Impact of irrigation with wastewater on accumulation of heavy metals in soil and crops in the region of

Marrakech in Morocco. **J. of the Saudi society of Agricultural Sciences** (2018)
<https://doi.org/10.1016/j.jssas.2018.02.003>

CHAVES, L. H. G., MESQUITA, E. F., ARAUJO, D. L., & FRANÇA, C. P. Acúmulo e distribuição de cobre e zinco em mamoneira cultivar BRS Paraguaçu e crescimento da planta. **Engenharia-Ambiental**- Espírito Santo do Pinhal, n.7, v.3, p.263-277, 2010.

CNCFlora. *Handroanthus heptaphyllus*. In: Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012.2 Centro Nacional de Conservação da Flora. Disponível em: <[http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Handroanthus heptaphyllus](http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Handroanthus_heptaphyllus)>. Acesso em 28 janeiro 2018.

COURCHESNE, F.; TURMEL, M. C.; HURTEAU, B. C.; CONSTANTINEAU, S.; MUNRO, L.; LABRECQUE, M. Phytoextraction of soil trace elements by willow during a phytoremediation trial in Southern Québec, Canada. **Intern. Jour. Phytorem.**, v.19, n.6, p. 545-554, 2017.

DAVIES, F. T.; PURYEAR, J. D.; NEWTON, R. J.; EGILLA, J. N.; GROSSI, J. A. S. Mycorrhizal fungi increase chromium uptake by sunflower plants: influence on tissue mineral concentration, growth and gas exchange. **J. Plant Nutr.**, v. 25, p. 2389–2407, 2002.

DAUD, M.; MEI, L.; VARIATH, M.; ALI, S.; LI, C.; RAFIQ, M.; ZHU, S. Chromium (VI) uptake and tolerance potential in cotton cultivars: effect on their root physiology, ultramorphology, and oxidative metabolism. **Bio. Med. Res. Int.**, 2014.

DHAL, B.; THATOI, H. N.; DAS, N. N.; PANDEY, B. D. Chemical and microbial remediation of hexavalent chromium from contaminated soil and mining/metallurgical solid waste: A review. **J. Hazardous Materials**, v. 250, p. 272-291, 2013.

DING, H.; WANG, G.; LOU, L.; LV, J. Physiological responses and tolerance of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) exposed to chromium. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 133, p. 509-518, 2016.

DOUMETT, S., LAMPERI, L., CHECCHINI, L., AZZARELLO, E., MUGNAI, S., MANCUSO, S. et al. Heavy metal distribution between contaminated soil and *Paulownia tomentosa*, in a pilot-scale assisted phytoremediation study: Influence of different complexing agents. **Chemosphere**, v.72, p.1481- 1490, 2008.

FERREIRA, Daniel Furtado. SISVAR: A COMPUTER ANALYSIS SYSTEM TO FIXED EFFECTS SPLIT PLOT TYPE DESIGNS. REVISTA BRASILEIRA DE BIOMETRIA, [S.l.], v. 37, n. 4, p. 529-535, dec. 2019. ISSN 1983-0823. Available at: <<http://www.biometria.ufla.br/index.php/BBJ/article/view/450>>. Date accessed: 10 feb. 2020. doi: <https://doi.org/10.28951/rbb.v37i4.450>.

MISRA, H. P.; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and simple assay for superoxide dismutase. **Journal of Biological chemistry**, v. 247, n. 10, p. 3170-3175, 1972.

GIRI, S.; SINGH, A. K. Heavy metals in eggs and chicken and the associated human health risk assessment in the mining areas of Singhbhum copper belt, India. **Arch. Envir. Occup. Health**, v. 74, n. 4, p. 161-170, 2017.

GHAFOORI, M.; MAJID, N.M.; ISLAM, M.; LUHAT, S. Bioaccumulation of heavymetals by *Dyera costulata* cultivated in sewage sludge contaminated soil. **Afr. J. Biotechnol.**, v. 10, p. 10674-10682, 2011.

GOST, L. Environmental Protection: Classification of Chemical Substances for Pollution Control. 1^a ed., Moscow, 1983

HORI, M.; SHOZUGAWA, K.; MATSUO, M. Reduction process of Cr(VI) by Fe(II) and humic acid analyzed using high time resolution XAFS analysis. **Jour. Hazardous Materials**, v. 285, p. 140-147, 2015

HOSSNER, L. R.; LOEPPERT, R. H.; NEWTON, R. J.; SZANISZLO, P. J.; ATTREP JUNIOR, M. **Literature review**: phytoaccumulation of chromium, uranium and plutonium in plant systems. Amarillo: ANRCP, 51 p, maio 1998.

HSU, L.; LIU, Y.; TZOU, Y. Comparison of the spectroscopic speciation and chemical fractionation of chromium in contaminated paddy soils. **Journal of Hazardous Materials**, v. 296, p. 230-238, 2015.

IRIE, C. N.; KAVAMURA, V. N.; ESPOSITO, E. Avaliação do potencial da embaúba (*Cecropia* cf. *pachystachya* Trécul) para recuperação de solos contaminados com metais pesados. IN.: Congresso de Iniciação Científica, 11, 2008, Mogi das Cruzes. *Anais...*, Mogi das Cruzes: [s.n.], 2008.

JOMOVA, K.; VALKO, M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. **Toxicology**, v.283, p. 65-87, 2011.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants**, 4^a edição, New York, CRC Press, 2011.

KOLELI, N.; DEMIR, A. **Environmental Materials and Waste: Resource Recovery and Pollution Prevention**. 1^a ed., Rio de Janeiro, Elsevier, 2016.

LIU, J.; DUAN, C. Q.; ZHANG, X. H.; ZHU, Y. N.; HU, C. *Characteristics of chromium(III) uptake in hyperaccumulator Leersia hexandra Swartz*. **Environ. Exp. Bot.**, v. 74, p. 122-126, 2011.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. 4 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, v.1, p.368, 2002.

LONGUI, R. A. **Livros das árvores; árvores e arvoretas do Sum**. 2. Ed., Porto Alegre, L&PM, p.176, 1995.

MARTINS, L.; LAGO, A.; CICERO, S. M. Conservação de sementes de ipê-roxo. **Revista brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 16, n. 1, p. 405-410, 2012.

MAHAR, A.; WANG, P.; ALI, A.; AWASTHI, M.K.; LAHORI, A.H.; WANG, Q.; LI, R.; ZHANG, Z. Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: a review. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 126, p.111–121, 2016.

MISHRA, V. K.; TRIPATHI, B. D. Accumulation of chromium and zinc from aqueous solutions using water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). **J. Hazard. Mater.**, v. 164, n.2, p. 1059-1063, 2009.

MOREIRA, L. J. D.; SILVA, E. B.; FONTES, M. P. F.; LIU, X.; MA, L. Q. Speciation, bioaccessibility and potential risk of chromium in Amazon forest soils. **Environ. Pollut.**, v. 239, p. 384-391

MUKESH, K.R.; KUMAR, P.; SINGH, M.; SINGH, A. Toxic effect of heavy metals in livestock health. **Veterin. World**, v. 1, p. 28–30, 2008.

NAZI, N.K.; BASHIR, S.; BIBI, I.; MURTAZA, B.; SHAHID, M.; JAVED, M.T.; SHAKOOR, M.B.; SAQIB, Z. A.; NAWAZ, M.F.; ASLAM, Z. Phytoremediation of Arsenic contaminated Soils Using Arsenic Hyperaccumulating Ferns. **Phytoremediation**, p. 521- 545, 2016.

NOLAN, L. **Potencial do eucalipto na fitorremediação de um solo contaminado por chumbo**. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, SP, p-94, 2008.

OLIVEIRA, L.M.; GRESS, J.; DE, J.; RATHINASABAPATHI, B.; MARCHI, G.; CHEN, Y.; MA, L.Q. Sulfate and chromate increased each other's uptake and translocation in As-hyperaccumulator *Pteris vittata*. **Chemosphere**, v. 147, p. 36-43, 2016.

OMS- Organização Mundial de Saúde. **Elementos traço na nutrição e saúde humanas**. São Paulo: Roca, 1998.

PAULA, J. E.; ALVES, J. L. H. **Madeira nativas: anatomia, dendrologia, dendrometria, produção, uso**. Brasília: Fundação Mokiti Okada, p. 541, 1997.

PAJEVIC, S.; BORISEV, M.; NIKOLIC, N.; ARSENOV, D.D.; ORLOVIC, S.; ZUPUNSKI, M. Phytoextraction of heavy metals by fast-growing trees: a review. **Phytoremediation**, p. 29–64, 2016.

PARMAR, S.; SINGH, V. Phytoremediation approaches for heavy metal pollution: a review. **J. Plant Sci. Res.**, n.2, v. 2, p.139, 2015.

PINTO, A.F.; RODIGHERI, H.R. Reflorestamento misto de espécies florestais nativas a pleno sol na região do norte pioneiro do Estado do Paraná. **Comunicado técnico**, 56. Embrapa florestal. Colombo, PR. 2001.

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

REALE, L.; FERRANTI, F.; MANTILACCI, S.; CORBOLI, M.; AVERSA, S.; LANDUCCI, F.; BALDISSEROTTO, C.; FERRONI, L.; PANCALDI, S.; VENANZONI, R. Cytological and morpho-physiological responses of common duckweed (*Lemna minor* L.) to chromium. **Chemosphere**, v. 145, p. 98-105, 2016.

SAMPAIO, M. T. F.; POLO, M.; BARBOSA, W. Estudo do crescimento de espécies de árvores semidecíduas em uma área ciliar revegetada. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 36, n. 5, p. 879-885, 2012.

SHADRECK, I. Chromium, na essential nutriente and pollutant; a review. **Afr. J. Pure Appl. Chem.**, v. 7, p. 310-317, 2013.

SHARMA, P.; KUMAR, A.; BHARDWAJ, R. Plant steroidal hormone epibrassinolide regulate–Heavy metal stress tolerance in *Oryza sativa* L. by modulating antioxidant defense expression. **Environ. Exp. Bot.**, v. 122, p. 1-9, 2016.

SHAHID, M.; POURRUT, B.; DUMAT, C.; NADEEM, M.; ASLAM, M.; PINELLI, E. Heavy metal-induced reactive oxygen species: phytotoxicity and physicochemical changes in plants. **Rev. Environ. Contam. Toxicol.**, p.1-44, 2014.

SHAHID, M.; DUMAT, C.; KHALID, S.; NIAZI, N.K.; ANTUNES, P.M.C. Cadmium Bioavailability, Uptake, Toxicity and Detoxification in Soil-plant System. Reviewsof Environmental Contamination and Toxicology. **Springer New York**, p. 1-65, 2016.

SILVA, R. F.; LUPATINI, M.; ANTONIOLLI, Z. I.; LEAL, L. T.; JUNIOR, C. A. M. Comportamento de *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub., *Parapiptadenia rigida* (Benth.) Brenan e *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong cultivadas em solo contaminado com cobre. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 21, n. 1, p. 103-110, 2011.

SINGH, N.K.; UPADHYAY, A.K.; VERMA, S. Chromate tolerance and accumulation in *Chlorella vulgaris* L.: Role of antioxidant enzymes and biochemical changes in detoxification of metals. **Bioresource Technology**, v. 136, p. 604-609, 2013.

SKEFFINGTON, R. A.; SHEWRY, P. R.; PETERSON, P. J. Chromium uptake and transport in barley seedlings (*Hordeum vulgare* L.). **Planta**, v. 132, p. 209-214, 1976.

SOUZA, V. C. et al. Produção de mudas de ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia* (Vahl.) Nich.) em diferentes substratos e tamanhos de recipientes. **Agropecuária Técnica**. Areia, PB – CCA/UFPB, v.26, n.2, 2005.

SUSARLA, S., MEDINA, V. F., & MCCUTCHEON, S. C. Phytoremediation: An ecological solution to organic chemical contamination. **Ecological Engineering**, v.18, p.647-658, 2002.

SUNDARAMOORTHY, P., CHIDAMBARAM, A., GANESH, K. S., UNNIKANNAN, P., & BASKARAN, L. Chromium stress in paddy: (i) nutrient status of paddy under chromium stress; (ii) phytoremediation of chromium by aquatic and terrestrial weeds. **Comptes Rendus Biologies**, v. 333, n. 8, p. 597–607, 2010.

VIMERCATI, L.; GATTI, M. F.; GAGLIARDI, T.; CUCCARO, F.; MARIA, L.; CAPUTI, A.; QUARATO, M. Environmental exposure to arsenic and chromium in an industrial area. **Environ. Sci. Pollut. Research**, v. 24, n. 12, p. 11528-11535, 2017.

WALLACE, A.; SOUFI, S.M.; CHA, J.W.; ROMNEY, E.M. Some effects of chromium toxicity on bush bean plants grown in soil. **Plant and Soil**, v.44, p.471-473, 1976.

WANG, L.; JI, B.; HU, Y.; LIU, R.; SUN, W. A review on in situ phytoremediation of mine tailings. **Chemosphere**, v. 184, p. 594-600, 2017.

WOODFORD, C. 2019. **Land pollution**. Retrieved from <<https://www.explainthatstuff.com/land-pollution.html>>. (Acessado em: 29 de janeiro 2019).