

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

Gerâne Silva Wertonge de Oliveira

**EFEITOS DO CÁDMIO NA MORFOFISIOLOGIA E BIOQUÍMICA DAS
ESPÉCIES *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. E *Mimosa scabrella* Benth.
EM CULTIVO HIDROPÔNICO**

Santa Maria, RS, Brasil
2020

Gerâne Silva Wertonge de Oliveira

EFEITOS DO CÁDMIO NA MORFOFISIOLOGIA E BIOQUÍMICA DAS ESPÉCIES
Peltophorum dubium (Spreng.) Taub. E *Mimosa scabrella* Benth. **EM CULTIVO**
HIDROPÔNICO

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Agrobiologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestra em Agrobiologia.**

Orientadora: Prof^ª Dr^ª. Luciane Almeri Tabaldi

Santa Maria, RS
2020

de Oliveira, Gerâne Silva Wertonge
EFEITOS DO CÁDMIO NA MORFOFISIOLOGIA E BIOQUÍMICA DAS
ESPÉCIES *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. E *Mimosa*
scabrella Benth. EM CULTIVO HIDROPÔNICO / Gerâne Silva
Wertonge de Oliveira.- 2020.
70 p.; 30 cm

Orientador: Luciane Almeri Tabaldi
Coorientador: Daniele Guarienti Rorato
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de
Pós-Graduação em Agrobiologia, RS, 2020

1. Fitorremediação 2. *Peltophorum dubium* 3. *Mimosa*
scabrella 4. Metais pesados 5. Morfofisiologia I. Almeri
Tabaldi, Luciane II. Guarienti Rorato, Daniele III.
Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. 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.

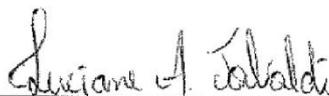
Declaro, GERÂNE SILVA WERTONGE DE OLIVEIRA, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. 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.

Gerâne Silva Wertonge de Oliveira

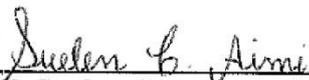
EFEITOS DO CÁDMIO NA MORFOFISIOLOGIA E BIOQUÍMICA DAS ESPÉCIES
Peltophorum dubium (Spreng.) Taub. E *Mimosa scabrella* Benth. **EM CULTIVO**
HIDROPÔNICO

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Agrobiologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestra em Agrobiologia.**

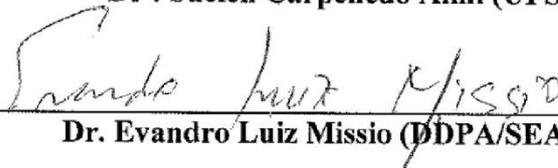
Aprovada em 27 de fevereiro de 2020:



Prof. Dr^a. Luciane Almeri Tabaldi (UFSM)
(Presidente/Orientadora)



Dr^a. Suelen Carpenedo Aimi (UFSM)



Dr. Evandro Luiz Missio (DDPA/SEAPDR)

*Dedico esse trabalho a todas as pessoas que foram inspiração
e motivos de força e alegria nesta trajetória.*

AGRADECIMENTOS

A conclusão desta etapa foi possível graças ao apoio de pessoas essenciais que já conhecia e que acabei conhecendo durante estes dois anos de mestrado.

Agradeço principalmente a Deus pela força em todos os momentos, pois através dele todas as coisas se tornam alcançáveis.

Agradeço a minha família: meu marido Rafael por ser meu abrigo todos os dias, meus pais e meus irmãos por estarem presentes me apoiando durante este período, nos fins de semana onde eu precisava de “apoio braçal” e de companhia no experimento. Vocês sabiam que eu estava realizando um sonho, e faziam de tudo para me incentivar. Amo vocês!

Desde o início quando fiz esta escolha, minha orientadora Luciane Tabaldi me proporcionou incentivo e ajuda. Sou muito grata pelas suas orientações, pelos momentos em que compreendia minhas limitações e auxiliava da melhor maneira possível, sempre se preocupando com minhas demandas mesmo “fora de hora”. Agradeço também à minha co-orientadora Daniele Guarienti que mesmo de longe me auxiliou nos momentos de escrita.

Não posso deixar de falar dos colegas que encontrei no grupo FisiPlant, pois se tornaram amigos e parceiros que me ajudaram muito durante meus trabalhos: a Dr^a. Camila Tarouco, aos mestrandos (as) Caroline, Daiane, Charleston e Marcos; e aos ICs Mirian, Daniele, Andressa, Franco, Flaiane, Luana e Thalía. Neste período também encontrei amigas pela UFSM como a Lili, Jéssica, Thays e Luana que foram minhas parceiras, me aconselhavam, me distraíam e entendiam. Minhas palavras nunca serão suficientes para agradecê-los!

Agradeço a todos os professores do PPG em Agrobiologia, por contribuírem com minha formação durante este período, especialmente aos professores João Marcelo e Antônio Carlos por cederem o espaço de seus laboratórios e equipamentos inúmeras vezes.

Agradeço ao CNPq pelo incentivo financeiro por meio da bolsa de estudos, à UFSM e aos Laboratórios de Biotecnologia Vegetal e Fisiologia Vegetal por terem possibilitado a realização deste trabalho.

Agradeço a banca examinadora pela disponibilidade em contribuir e avaliar este trabalho.

Por fim, quero demonstrar minha imensa gratidão a todos que de alguma forma me auxiliaram na execução das minhas atividades. Este resultado é nosso!

RESUMO

EFEITOS DO CÁDMIO NA MORFOFISIOLOGIA E BIOQUÍMICA DAS ESPI *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. E *Mimosa scabrella* Benth. EM CULTIVO HIDROPÔNICO

AUTORA: Gerâne Silva Wertonge de Oliveira
ORIENTADORA: Luciane Almeri Tabaldi

A toxidez por metais pesados acarreta sérias consequências ao meio ambiente e ao homem. Dentre estes elementos, o cádmio (Cd) é considerado um dos mais danosos. Ao atingir altos níveis de contaminação em uma área, pode ocorrer a supressão da vegetação, por isso a identificação de espécies resistentes a esta contaminação auxilia no processo de revegetação e descontaminação destes locais. As espécies *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. e *Mimosa scabrella* Benth. são nativas brasileiras, de crescimento rápido e que ocorrem naturalmente no Rio Grande do Sul. Este estudo foi dividido em dois capítulos. No Capítulo I, o objetivo foi avaliar os efeitos do Cd no crescimento e nas variáveis fisiológicas e morfológicas, e no Capítulo II o objetivo foi avaliar os efeitos do Cd nas variáveis bioquímicas das mudas de *P. dubium* e *M. scabrella* em cultivo hidropônico e determinar a sensibilidade ou resistência/tolerância dessas plantas a este elemento. Os experimentos foram realizados na casa de vegetação e nos Laboratórios de Fisiologia e Nutrição de Plantas do Departamento de Biologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. As mudas de ambas as espécies (obtidas pela sementeira em substrato comercial) após atingirem 15 cm de altura, foram transferidas para o sistema hidropônico para aclimatação, o qual era composto por solução nutritiva completa. Os tratamentos foram representados pelo acréscimo das seguintes concentrações de Cd (na forma de CdCl₂) à solução: 0, 25, 50, 75 e 100 µM. Para cada espécie, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições compostas por 16 plantas cada. *P. dubium* foi cultivada em janeiro e *M. scabrella* em maio de 2019, mas nos dois experimentos as plantas permaneceram expostas por 14 dias ao Cd, e após esse período foram realizadas as análises fisiológicas, bioquímicas e morfológicas. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias diferenciadas pelo teste de Tukey em 5% de probabilidade de erro. A espécie *P. dubium* se mostrou sensível ao Cd mesmo em baixas concentrações, pois o aumento de Cd em solução afetou negativamente a fotossíntese, o teor de pigmentos fotossintéticos, a morfologia do sistema radicular, a produção de biomassa e o crescimento em altura e raiz principal. A atividade da enzima guaiacol peroxidases (POD) em *P. dubium* e *M. scabrella* foi induzida mesmo em altas concentrações de Cd e reduziu os níveis de peróxido de hidrogênio, entretanto isso não conseguiu evitar a peroxidação lipídica nas duas espécies. No período avaliado, a peroxidação de lipídeos de membrana não ocasionou danos à produção de biomassa, arquitetura do sistema radicular e teor de pigmentos em plantas de *M. scabrella* em baixas concentrações. Portanto, a *M. scabrella* pode ser uma espécie indicada para recuperação de solos contaminados com cádmio até 50 µM.

Palavras-chave: Canafístula. Bracatinga. Fitorremediação. Metais pesados.

ABSTRACT

EFFECTS OF CADMIUM ON THE MORPHOPHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY OF THE *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. AND *Mimosa scabrella* Benth. SPECIES IN HIDROPONIC CULTURE

AUTHOR: Gerâne Silva Wertonge de Oliveira

ADVISOR: Luciane Almeri Tabaldi

Heavy metal toxicity has serious consequences for the environment and man. Among these elements, cadmium (Cd) is considered one of the most harmful. When reaching high levels of contamination in an area, the suppression of vegetation can occur, so the identification of species resistant to this contamination helps in the process of revegetation and decontamination of these places. The species *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. and *Mimosa scabrella* Benth. are Brazilian natives, of fast growth and that occur naturally in Rio Grande do Sul. This study was divided into two chapters. In Chapter I, the objective was to evaluate the effects of Cd on growth and on physiological and morphological variables, and in Chapter II the objective was to evaluate the effects of Cd on the biochemical variables of *P. dubium* and *M. scabrella* seedlings in hydroponic and determine the sensitivity or resistance/tolerance of these plants to this element. The experiments were carried out in the greenhouse and in the Physiology and Plant Nutrition Laboratories of the Department of Biology, Federal University of Santa Maria, Santa Maria, RS. The seedlings of both species (obtained by sowing on commercial substrate) after reaching 15 cm in height, were transferred to the hydroponic system for acclimatization, which was composed of a complete nutrient solution. The treatments were represented by adding the following Cd concentrations (in the form of CdCl₂) to the solution: 0, 25, 50, 75 and 100 µM. For each species, the experimental design was completely randomized, with four replications consisting of 16 plants each. *P. dubium* was cultivated in January and *M. scabrella* in May 2019, but in both experiments the plants remained exposed for 14 days to Cd, and after that period physiological, biochemical and morphological analyzes were performed. The data were subjected to analysis of variance and differentiated means by the Tukey test at 5% probability of error. *P. dubium* species was shown to be sensitive to Cd even at low concentrations, because the increase in Cd in solution negatively affected photosynthesis, photosynthetic pigment content, morphology of the root system, biomass production and growth in height and root main. The activity of the guaiacol peroxidase (POD) enzyme in *P. dubium* and *M. scabrella* was induced even in high concentrations of Cd and reduced the levels of hydrogen peroxide, however this was not able to prevent lipid peroxidation in both species. In the evaluated period, the peroxidation of membrane lipids did not cause damage to the production of biomass, root system architecture and pigment content in plants of *M. scabrella* in low concentrations. Therefore, *M. scabrella* can be a species indicated for the recovery of soils contaminated with cadmium up to 50 µM.

Keywords: Canafistula. Bracatinga. Phytoremediation. Heavy metals.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I - EFEITOS DO CÁDMIO NO CRESCIMENTO E NA FOTOSSÍNTESE DE *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. E *Mimosa Scabrella* Benth.

Figura 1 - Efeito das concentrações de Cd na biomassa seca de parte aérea (A), biomassa seca de raízes (B), incremento médio em altura de parte aérea (IPA) (C) e no incremento médio em comprimento da raiz principal (IR) (D) de plantas de *P.dubium* e *M. scabrella* cultivadas em sistema hidropônico..... 36

Figura 2 - Comprimento total radicular (CTR), área superficial de raízes (ASR), diâmetro médio radicular (DMR) e volume radicular (VR) de plantas de *P. dubium* (A) e de *M. scabrella* (B) expostas a diferentes concentrações de cádmio em cultivo hidropônico..... 38

Figura 3- Taxa fotossintética (A), condutância estomática de vapores de água (B), concentração interna de CO₂ (C), taxa transpiratória (D), eficiência do uso da água (E) e eficiência de carboxilação da Rubisco (F) de plantas de *P. dubium* após 10 e 13 dias de exposição a diferentes concentrações de Cd em sistema hidropônico..... 40

Capítulo II - ESTRESSE OXIDATIVO CAUSADO PELO CÁDMIO EM MUDAS DE *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. E *Mimosa Scabrella* Benth.

Figura 1 - Biomassa seca total de *P. dubium* e *M. scabrella* após 14 dias de exposição à diferentes concentrações de Cd em cultivo hidropônico..... 55

Figura 2 - Conteúdo de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofilas totais e carotenóides de folhas de plantas de *P. dubium* e *M. scabrella* expostas por 14 dias a diferentes concentrações de Cd em cultivo hidropônico..... 56

Figura 3 - Conteúdo de H₂O₂ em parte aérea (A) e raízes (B) de mudas de *P. dubium* e em parte aérea (C) e raízes (D) de mudas de *M. scabrella* expostas por 14 dias a diferentes concentrações de Cd em cultivo hidropônico. 57

Figura 4 - Atividade da enzima guaiacol peroxidase (POD) em parte aérea (A) e raízes (B) de mudas de *P. dubium* e em parte aérea (C) e raízes (D) de mudas de *M. scabrella* expostas por 14 dias a diferentes concentrações de Cd em cultivo hidropônico..... 58

Figura 5 - Peroxidação de lipídios de membrana na parte aérea (A) e raízes (B) de mudas de *P. dubium* e em parte aérea (C) e raízes (D) de mudas de *M. scabrella* expostas por 14 dias a diferentes concentrações de Cd em cultivo hidropônico..... 59

LISTA DE APÊNDICES

- APÊNDICE A** - PLANTAS DE *Peltophorum dubium* (A) e *Mimosa scabrella* (B) DURANTE O PERÍODO DE ACLIMATAÇÃO NO SISTEMA HIDROPÔNICO EM AERAÇÃO CONSTANTE..... 69
- APÊNDICE B** - PROCEDIMENTO DE AVALIAÇÃO DA FOTOSSÍNTESE EM *P. dubium* (A); MECANISMO FOLIAR DE *M. scabrella* QUE IMPOSSIBILITOU A DETERMINAÇÃO DAS VARIÁVEIS FOTOSSINTÉTICAS (B)..... 69
- APÊNDICE C** – MUDAS DE *P. dubium* (A) E DE *M. scabrella* (B, C) APÓS 14 DIAS DE EXPOSIÇÃO A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE Cd EM SOLUÇÃO NUTRITIVA..... 70

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	13
2.1 OBJETIVO GERAL.....	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1 <i>Peltophorum dubium</i> (Sprengel.) Taubert.....	14
3.2 <i>Mimosa scabrella</i> Benth.	15
3.3 CÁDMIO.....	16
3.3.1 Cádmio no solo.....	16
3.3.2 Efeito do Cádmio nas plantas.....	17
3.4 FITORREMEDIÇÃO E A UTILIZAÇÃO DE ESPÉCIES ARBÓREAS PARA RECUPERAÇÃO/REMEDIÇÃO DE ÁREAS CONTAMINADAS COM CÁDMIO.....	18
3.5 VARIÁVEIS MORFOLÓGICAS, FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS.....	20
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
5 CAPÍTULOS	29
CAPÍTULO I - EFEITOS DO CÁDMIO NO CRESCIMENTO E NA FOTOSSÍNTESE DE <i>Peltophorum dubium</i> (Spreng.) Taub. E <i>Mimosa scabrella</i> Benth.	
RESUMO.....	30
ABSTRACT.....	31
INTRODUÇÃO.....	32
MATERIAL E MÉTODOS.....	33
RESULTADOS.....	36
DISCUSSÃO.....	39
CONCLUSÃO.....	43
REFERÊNCIAS.....	44
CAPÍTULO II - ESTRESSE OXIDATIVO CAUSADO PELO CÁDMIO EM MUDAS DE <i>Peltophorum dubium</i> (Spreng.) Taub. E <i>Mimosa scabrella</i> Benth.	
RESUMO.....	48
ABSTRACT.....	49
INTRODUÇÃO.....	50
MATERIAL E MÉTODOS.....	51
RESULTADOS.....	54
DISCUSSÃO.....	60
CONCLUSÃO.....	62
REFERÊNCIAS.....	63
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	67
APÊNDICES	69

1 INTRODUÇÃO

A contaminação do solo, do ar e da água por metais pesados é um processo que vem se agravando e decorre da crescente poluição do meio ambiente. Perdas irreparáveis na qualidade biótica dos ecossistemas são consequência, principalmente, de ações antrópicas mediante o uso intensivo de fertilizantes e defensivos agrícolas, exploração de minérios, beneficiamento de metais, descarte inadequado de lodos de esgotos urbanos, resíduos agrícolas, industriais e domésticos e queima de combustíveis fósseis (ALLEONI; BORBA; CAMARGO, 2005; MELLO et al., 2018). Dentre todos, a mineração é o principal fator de incremento de metais pesados no solo (SHEORAN; SHEORAN; POONIA, 2016). Todas essas atividades vêm acelerando a disponibilização destes elementos em altas concentrações, resultando em níveis tóxicos.

A toxidez por metais pesados acarreta sérias consequências ao meio ambiente e ao homem, e requer atenção especial, tendo em vista que o nível de toxidez depende da capacidade de retenção e de movimentação dos metais pelo solo, da solubilização na água, da possibilidade de atingir o lençol freático, e pelo fato de que esses podem atingir a cadeia alimentar a partir da absorção pelas plantas (AUGUSTO et al., 2014).

Alguns destes metais pesados são elementos essenciais aos vegetais, outros são benéficos, enquanto outros não apresentam nenhuma função biológica e são tóxicos quando estão em concentrações elevadas (ALLOWAY; AYERS, 1996). Dentre os metais tóxicos, o cádmio (Cd) é considerado um dos mais danosos. Em vista disso, está presente na Lista Nacional de Prioridade da Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) (ATSDR, 2015), ocupando o sétimo lugar entre os elementos que apresentam ameaças a saúde humana devido a sua toxicidade e alta mobilidade no solo. O Cd pode entrar na cadeia alimentar humana por meio do consumo de alimentos, ocasionando grandes perturbações para o organismo como insuficiência renal, distúrbios ósseos, distúrbios neurológicos e câncer (KUBIER; WILKIN; PICHLER, 2019; ZHANG; REYNOLDS, 2019).

Nesse sentido, há mais de quatro décadas pesquisas têm avaliado o impacto causado pelas atividades antrópicas nos ecossistemas, com políticas ambientais para desacelerar esta degradação (MUNIZ; OLIVEIRA-FILHO, 2006; TAVARES, 2013). No Brasil, apesar dos limites de concentração dos metais em solos e ambientes aquáticos serem estabelecidos por legislações, como a Resolução nº 420/2009 do CONAMA (BRASIL, 2009), os esforços ainda são insuficientes para atingir as metas de proteção ambiental e de saúde. Isto porque a

contribuição no acréscimo de Cd no ambiente aumenta à medida que há mais necessidade de adubações fosfatadas na agricultura (MELLO et al., 2018).

Diante do efeito nocivo do Cd sobre o componente vegetal, a identificação de espécies tolerantes a esta contaminação ou acumuladoras desse metal auxilia no processo de revegetação e até mesmo descontaminação destes locais (SILVA et al., 2010). Várias técnicas vêm sendo utilizadas ao longo dos anos para amenizar ou retirar os elementos tóxicos dos solos e da água. Uma delas é a fitorremediação, que consiste em utilizar plantas para a redução, transferência e estabilização de poluentes do solo e água (ELEKES, 2014). Esta técnica se apresenta como uma alternativa para contornar a contaminação, pois pode fazer isto por vários processos como a fitoextração, a fitotransformação, a fitovolatilização, a fitoestabilização e a fitoestimulação (TAVARES, 2013).

Compreender os mecanismos desenvolvidos pelas plantas tolerantes e resistentes é interessante para subsidiar a escolha de espécies adequadas para utilização em áreas contaminadas por metais tóxicos (MILNER; KOCHIAN, 2008). Nesse sentido, destaca-se a necessidade de caracterização dos mecanismos de resistência ao Cd apresentados pelas diferentes espécies, os quais ainda precisam ser estudados e elucidados. Tais informações, conforme Guimarães et al. (2008), possibilitarão entender seu transporte e acumulação dentro da planta. A utilização de espécies arbóreas se torna interessante, pois determinadas espécies apresentam rápido crescimento, rusticidade, além da vantagem comercial de utilizar sua madeira como subproduto. Outro aspecto de grande importância é que o metal tóxico não entraria na cadeia alimentar humana. Adicionalmente, o emprego de espécies nativas contribui para a conservação da biodiversidade além de se apresentarem adaptadas às condições edafoclimáticas regionais que serão introduzidas, uma vez que são produto de um longo processo de seleção natural.

Dentre a grande diversidade de espécies arbóreas nativas da flora brasileira, *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert. e *Mimosa scabrella* Bentham destacam-se pelo rápido potencial de crescimento e pela extensa distribuição geográfica no Brasil (CARVALHO, 2003). Não há pesquisas que esclareçam o comportamento destas espécies em exposição ao Cd. Em vista disto, a elaboração de estudos que contemplem os aspectos morfofisiológicos e bioquímicos destas espécies quando expostas ao Cd contribuirá para definir a possibilidade de uso das mesmas na recuperação de áreas contaminadas e até mesmo possibilitar avanços em pesquisas quanto ao melhoramento genético.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos do cádmio sobre as variáveis morfológicas, fisiológicas e bioquímicas de mudas de *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. e *Mimosa scabrella* Benth. em cultivo hidropônico.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar se diferentes concentrações de Cd afetam as respostas morfofisiológicas (biomassa, altura, parâmetros morfológicos do sistema radicular e variáveis fotossintéticas) e bioquímicas (teor de pigmentos fotossintéticos, peroxidação lipídica, atividade da enzima antioxidante peroxidase e conteúdo de peróxido de hidrogênio) em plantas de *P. dubium* e *M. scabrella*;
- Determinar a sensibilidade ou resistência/tolerância das plantas de *P. dubium* e *M. scabrella* ao Cd;
- Caracterizar a relação das concentrações de Cd com os atributos fotossintéticos e de crescimento expressos por cada uma das espécies.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 *Peltophorum dubium* (Sprengel.) Taubert.

Conhecida popularmente por canafístula, a *Peltophorum dubium* (Sprengel.) Taubert é uma árvore longeva nativa brasileira, leguminosa pertencente a família *Fabaceae*, caducifólia, que possui uma copa ampla com folhas compostas bipinadas e flores amarelas, frutos do tipo sâmara que podem abrigar até quatro sementes, as quais amadurecem de outubro a abril (LORENZI, 2016; CARVALHO, 2003). Apesar de ser uma espécie secundária inicial, possui característica de pioneira (CARVALHO, 2003).

A espécie apresenta ampla distribuição natural, ocorrendo na Argentina, Paraguai, Uruguai e Brasil, de Alagoas ao Rio Grande do Sul (CARVALHO, 2003). É uma árvore ornamental, onde grande parte de seus indivíduos que possuem altura de 15 a 25 metros, integrando o dossel pela vistosa florada estival (MARCHIORI; ALVES, 2012; LORENZI, 2016).

A madeira possui atualmente alto valor econômico (VICENTINI et al., 2016). Além disto, a espécie pode ser utilizada para reflorestamento, para produção de energia e para ornamentação (BACKES; IRGANG, 2009; CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011). *P. dubium* é uma planta rústica de rápido crescimento, indicada para reflorestamento de áreas degradadas (LORENZI, 2016), sendo também recomendada em sistemas agroflorestais para sombreamento de pastagens, abrigo para o gado e em quebra-ventos, por apresentar copa ampla (CARVALHO, 2003). Segundo este autor, por ser uma planta heliófita, é recomendado fazer o plantio da mesma a pleno sol.

Estudos de Marques et al. (2018; 2019) e Silva et al. (2011) relataram que altas concentrações de cobre (Cu) no solo afetaram negativamente o crescimento de mudas de *P. dubium*, todavia as plantas sobreviveram a esta exposição, devido a atividade de enzimas antioxidantes e ao acúmulo preferencial do metal no sistema radicular, como estratégia de proteger os tecidos foliares e o aparato fotossintético. Esses trabalhos sugerem, assim, que esta espécie pode ser uma opção para revegetação de solos contaminados por Cu, ainda mais quando associada com a inoculação de fungos ectomicorrízicos (SILVA et al., 2010).

Soares et al. (2001) ao estudarem o comportamento de mudas de vinte espécies em solo contaminado com zinco (Zn), Cd, Cu e chumbo (Pb), constataram que *P. dubium* se destacou quanto ao acúmulo de Cd em seus tecidos, sendo os maiores teores encontrados nas raízes. Além disso, foi uma das espécies que apresentou menor índice de translocação de Cd e

Zn para a parte aérea, e valores de biomassa seca de raiz maior no solo contaminado do que no solo controle, o que poderia indicar um mecanismo de defesa à toxidez. Além disso, *P. dubium* foi uma das espécies que apresentou maiores taxas de acúmulo de todos os metais em raízes, caule e folhas. No entanto, os efeitos do acúmulo de Cd nesta espécie não foram avaliados individualmente pelos autores, nem seus efeitos sobre as variáveis de crescimento, fotossíntese e estresse oxidativo.

Santos (2016), ao avaliar o desenvolvimento desta espécie mediante a irrigação com a água contaminada do Rio Doce, em Mariana, Minas Gerais (o qual foi afetado pela grande quantidade de rejeitos liberados após o rompimento da barragem de uma mineradora), verificou que o crescimento (biomassa e altura) das mudas de *P. dubium* foi afetado, no entanto não ocorreu danos morfológicos graves. Assim, o autor sugere a utilização da espécie para o reflorestamento em áreas degradadas, devido ao seu rápido crescimento, ampla dispersão e a resistência a baixas concentrações de toxicidade. Entretanto, ainda não foram apresentados estudos avaliando o comportamento e as respostas morfológicas e bioquímicas desta espécie em exposição somente ao metal Cd.

3.2 *Mimosa scabrella* Bentham.

A bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham) também pertence à família *Fabaceae*, ocorrendo no Brasil de Minas Gerais até o Rio Grande do Sul (CARVALHO, 2003). É uma árvore perenifólia, heliófita e que ocorre principalmente em climas frios e em planaltos. É uma das espécies do sul do país que apresenta crescimento inicial mais rápido e tem um ciclo de vida curto. Ela também faz associação com bactérias do gênero *Rhizobium*, possibilitando a fixação de nitrogênio do ar pelos nódulos formados nas raízes (CARPANEZZI et al., 1988), fato que contribui para seu bom desenvolvimento em áreas perturbadas.

A altura de seus indivíduos varia de 5 a 15 metros, suas folhas são compostas e suas sementes possuem dormência tegumentar (LORENZI, 2016). Esta espécie ocorre em terrenos rasos a profundos e de fertilidade química variável, sendo na maioria das vezes solos pobres e ácidos, com pH variando entre 3,5 e 5,5 (CARVALHO, 2003).

Além da bracatinga proporcionar uma lenha e carvão de excelente qualidade devido ao seu poder calorífero, também tem potencial para ser usada na produção de celulose, apresentando tanino em sua casca. Esta espécie pertence ao grupo sucessional das pioneiras e é utilizada há anos na revegetação em áreas alteradas (CARVALHO, 2003; BACKES;

IRGANG, 2009). O prazo total de produção das mudas é de 45 a 75 dias (CARPANEZZI et al., 1988).

Pereira et al. (2012) ao estudarem uma espécie do mesmo gênero, *Mimosa caesalpineafolia* Benth. em um aterro de deposição com altos teores de Cd, observaram que a mesma apresentou desenvolvimento dentro dos padrões normais e com tolerância ao metal, tendendo a acumulá-lo em suas raízes. Gonçalves et al. (2012) constataram em um estudo hidropônico que a bracatinga tem potencial para ser utilizada como fitorremediadora em áreas contaminadas com compostos derivados de petróleo, especificamente a gasolina.

Estudos recentes publicados por Silva et al. (2019), ao avaliarem características químicas e atributos microbiológicos do solo em áreas degradadas pela mineração de carvão e em recuperação utilizando a bracatinga, constataram uma melhora nos atributos microbiológicos do solo com o aumento do tempo de recuperação das áreas estudadas.

3.3 CÁDMIO

3.3.1 Cádmio no solo

O cádmio (Cd) é um metal encontrado naturalmente na crosta terrestre e que geralmente existe como cátion divalente complexado com outros elementos e que é encontrado como uma impureza, um subproduto da fundição de depósitos de zinco e chumbo (ATSDR, 2012). Comercialmente, está presente como matéria-prima na fabricação de telas de televisão, lasers, baterias, pigmentos para pintura, cosméticos e em aço galvanizado (BERNHOF, 2013). Esse metal é incrementado ao solo, água e ar por meio da mineração, deposição atmosférica, fabricação e utilização de fertilizantes fosfatados, queima de combustíveis fósseis e incineração e disposição de lodos de esgoto (ATSDR, 2012).

Dentre as fontes antrópicas industriais de introdução deste elemento no solo, após as atividades de mineração, o aporte via fertilizantes fosfatados merece destaque, devido ao fato de que o Cd é uma impureza comum encontrada nas rochas fosfatadas utilizadas para a produção dos fertilizantes (KUBIER; WILKIN; PICHLER, 2019). Bizarro, Meurer e Tatsch (2008) analisando 19 amostras de fertilizantes fosfatados comercializados no Brasil, encontraram teores de Cd na faixa de 0,47 a 42,60 mg de Cd Kg⁻¹ de fertilizante. Apesar de haver tecnologias de remoção do Cd no processo de fabricação dos fertilizantes fosfatados, não há nenhum meio comercial e economicamente viável em operação (MAR; OKAZAKI, 2012).

O Cd se apresenta predominantemente disponível no solo na forma trocável (Cd^{2+}), facilitando a absorção pelas plantas ou até sua lixiviação (ASGHER et al., 2015). No solo, a mobilidade deste elemento dependerá de vários fatores, entre esses o pH e o teor de matéria orgânica, sendo que o mesmo se liga fortemente a matéria orgânica e se torna mais disponível com a acidez do solo (ATSDR, 2012; TAVARES, 2013). Solos com teores altos de argila e turfa podem apresentar elevados teores de Cd, comparados a solos arenosos (KUBIER; WILKIN; PICHLER, 2019).

Assim, quando uma área apresenta concentrações deste elemento acima do limite tolerável, ou seja, 3 mg kg^{-1} para solos agrícolas, denominado de valor de intervenção (CETESB, 2001) ou de investigação pela resolução nº 420/2009 (BRASIL, 2009), a mesma é considerada contaminada (ZEITTOUNI; BERTON; ABREU; 2007). Nesse momento, medidas para mitigar estes efeitos necessitam ser tomadas em busca de soluções que atendam a legislação ambiental.

3.3.2 Efeitos do Cádmiio nas plantas

Ao atingir altos níveis de contaminação de Cd numa área, pode ocorrer a supressão da vegetação, devido as inúmeras consequências da sua presença para as plantas, prejudicando sua morfologia, fisiologia, estrutura e bioquímica. O Cd diminui o crescimento e biomassa de parte aérea e raízes (GUO et al., 2017) e afeta a germinação de sementes (SILVA et al., 2017). Além disso, também causa efeitos variados na atividade enzimática podendo induzir o estresse oxidativo. Ao induzir o estresse oxidativo, pode haver aumento da atividade de enzimas como superóxido dismutase (SOD) e peroxidases que podem servir como importantes componentes dos mecanismos de defesa antioxidante para combater a lesão oxidativa induzida por metais (SHAH et al., 2001; EKMEKÇI; TANYOLAÇ; AYHAN, 2008). Por ser um elemento não essencial, não existem mecanismos de entrada específicos para o Cd, então sua entrada se dá por transportadores de membrana de cálcio ou de zinco e ferro, o que conseqüentemente afeta a absorção desses elementos e da água (RODRÍGUEZ-SERRANO et al., 2008). A mobilidade do Cd nas plantas geralmente é alta, mas sua translocação para outros locais pode ser restrita, pois tende a se acumular mais nas raízes e nos locais de troca de compostos ativos na parede celular (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 1992).

A clorose foliar ocasionada pela toxidez ao Cd é observada principalmente em folhas mais novas, podendo ser explicada pela competição do Cd com o ferro ou com o magnésio

por sítios de absorção e na estrutura de proteínas (GUIMARÃES et al., 2008), o que interfere também na atividade fotossintética. Os parâmetros fotossintéticos e de fluorescência da clorofila em plantas sob o estresse de Cd podem ser significativamente diminuídos e atingirem valores mínimos, com taxas de inibição da fotossíntese de até 44,5% em comparação com o tratamento controle (GUO et al., 2017).

Além de ser um dos elementos mais potencialmente tóxicos às plantas e aos animais, representando um risco à saúde humana, o Cd não tem nenhuma função metabólica específica ou relevante no metabolismo dos seres vivos (ALLEONI; BORBA; CAMARGO, 2005). A principal fonte de entrada de Cd no organismo humano e animal é por meio do suprimento de alimentos, exceto para fumantes, em que a carga de Cd absorvida é dobrada, devido ao seu alto acúmulo em plantas de tabaco (ATSDR, 2012).

3.4 FITORREMEDIAÇÃO E A UTILIZAÇÃO DE ESPÉCIES ARBÓREAS PARA RECUPERAÇÃO/REMEDIAÇÃO DE ÁREAS CONTAMINADAS COM CÁDMIO

Fitorremediação é um processo que inclui várias técnicas (fitoextração, fitodegradação, fitoestabilização e fitovolatilização), as quais se valem de características inerentes das plantas para remediação de solos contaminados (YE et al., 2017). É uma tecnologia recente, pois as pesquisas começaram a ser realizadas a partir de 1990 (ALI; KHAN; SAJAD; 2013).

O que pode explicar a fitorremediação é que as plantas desenvolvem mecanismos de resistência ou de tolerância (COBBETT; GOLDSBROUGH, 2002). O principal mecanismo que a planta utiliza é o de armazenar o Cd preferencialmente na parede celular da raiz e nos vacúolos das células, podendo reduzir os danos à parte aérea, como no processo de fitoextração (HUANG et al., 2017; RODRÍGUEZ-SERRANO et al., 2008). Assim, ao mesmo tempo que determinadas espécies vegetais contribuem transferindo diretamente contaminantes do solo para a cadeia alimentar, outras podem funcionar como barreiras de transferência destes, reduzindo a absorção de muitos elementos presentes no solo, como na fitoestabilização (SILVA; SANTOS; GOMES, 2014).

Conforme as estratégias que utilizam em resposta aos metais, as plantas podem ser classificadas em espécies sensíveis, excludentes resistentes, tolerantes não hiperacumuladoras e hipertolerantes e hiperacumuladoras (LIN; AARTS, 2012). As sensíveis não conseguem evitar a entrada dos metais tóxicos no seu sistema radicular ou impedir o seu transporte à parte aérea, apresentando sintomas visíveis de toxicidade em raízes e parte aérea. As plantas excludentes e resistentes conseguem manter os metais fora de suas raízes. Já as tolerantes não

hiperacumuladoras suportam o contato com os metais que entram em suas células, acumulando-os em seus vacúolos radiculares através da ligação do metal com quelantes para evitar sua interação com outros compostos celulares. E por fim, as hipertolerantes e hiperacumuladoras, além de tolerar e absorver os metais em suas raízes, são capazes de translocá-los até a parte aérea, onde serão sequestrados nos vacúolos (LIN; AARTS, 2012). Ressalta-se aqui, a divergência entre os termos resistente e tolerante, pois os mesmos têm sentidos opostos. Segundo Taiz et al. (2017), para tolerar a presença de concentrações altas de íons tóxicos como o Cd, as plantas utilizam dois mecanismos básicos: exclusão e tolerância interna. Como explicado nas definições acima, a exclusão (resistência) é a capacidade de bloquear a entrada destes íons tóxicos na célula. Plantas resistentes são as que mantêm o metal fora da sua raiz. Plantas tolerantes (tolerância interna) suportam a entrada e a permanência do metal em suas células em diferentes níveis devido a adaptações, como a quelação de metais e compartimentalização, permitindo assim a hiperacumulação em algumas espécies (TAIZ et al., 2017).

Plantas que são selecionadas geralmente para uso na remediação de solos contaminados possuem tolerância a altas concentrações de metais pesados, utilizando os mecanismos citados acima. As que naturalmente são capazes de tolerar e acumular Cd podem absorver uma quantidade maior que 100 mg Kg^{-1} (BAKER et al., 2000).

Dentre as vantagens da fitorremediação, Tavares, Oliveira e Salgado (2013) destacaram seu baixo custo, a possibilidade de aplicá-la em áreas extensas, por ser uma remediação *in situ* (o que não causa contaminações secundárias) e por revegetar as áreas contaminadas, recobrando o solo contra a erosão e melhorando a paisagem. Nesse sentido pode atuar na remoção, contenção, transferência e estabilização dos metais pesados no solo (ALI; KHAN; SAJAD, 2013). Além disso, o sequestro de carbono do solo, produção de biomassa e biocombustível, aparência estética e manutenção da biodiversidade são outros benefícios destas técnicas (ABHILASH et al., 2012).

Dentre as características que uma planta fitorremediadora deve apresentar destacam-se as seguintes: capacidade de absorver, concentrar e tolerar o contaminante, sistema radicular profundo e denso, crescimento rápido e grande produção de biomassa (MARIANO; OKUMURA, 2012). Algumas espécies já são conhecidas por acumular e tolerar altas concentrações de Cd, como o milho (*Zea mays* L.), o girassol (*Helianthus annuus* L.), o sorgo *Sorghum bicolor* (L.) Moench, o cacaueteiro (*Theobroma cacao* L.) e as espécies do gênero *Brassicae* (RIZWAN et al., 2018; LLATANCE et al., 2018). Existem outras hiperacumuladoras e hipertolerantes como *Rorippa globosa* (Turcz) Thell., *Solanum*

photeinocarpum Nakam. e Odash., *Thlaspi caerulescens* J. Presl e C. Presl, *Nicotiana tabacum* L., e *Arabidopsis halleri* L. (WEI; ZHOU; SAHA, 2008; ZHANG et al., 2011; LOMBI et al., 2001; ZEITTOUNI et al., 2007; GUIMARÃES et al., 2008).

Segundo Pereira et al. (2012), *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth., *Acacia angustissima* (Mill.) Kuntze e *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, são espécies arbóreas que apresentam potencial na fitoestabilização de metais pesados como o Cd. Além destas, *Archontophoenix alexandrae* (F. Muell.) H. Wendl. e Drude (palmeira real australiana), *Psidium cattleianum* Sabine (araçá), *Handroanthus avellanadae* (ipê-roxo), *Handroanthus chrysotrichus* (Mart ex A. DC.) Standl. (ipê-amarelo), *Salix* spp. (*Salix viminalis* L., *Salix fragilis* L.) e *Populus* spp. também apresentam alta tolerância ao Cd (GOMES, 2012; ABHILASH et al., 2012).

3.5 VARIÁVEIS MORFOLÓGICAS, FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS

A eficácia das técnicas de fitorremediação dependerá da qualidade do desenvolvimento das plantas que estarão submetidas ao efeito da exposição aos metais pesados na área contaminada. A qualidade deste desenvolvimento pode ser expressa pela avaliação das variáveis morfológicas de crescimento e pelas variáveis fisiológicas que expressarão a tolerância, resistência ou sensibilidade aos metais do ambiente. Através da análise de crescimento é possível quantificar diferenças morfofisiológicas entre plantas e entre espécies, sendo possível interpretar os efeitos das interferências ambientais sobre o crescimento (SILVA et al., 2007; BORGES, GOTO E LIMA, 2014). As variáveis morfológicas, fisiológicas e bioquímicas também servem para elucidar o mecanismo utilizado pelas plantas na tolerância/resistência aos metais pesados (SOUZA; SILVA; FERREIRA, 2011).

Dentre as características morfológicas avaliadas, a biomassa seca, o comprimento de parte aérea e raízes, a altura e o diâmetro do coleto devem ser utilizadas não isoladamente, devido a relação que há entre elas na avaliação dos efeitos de tratamentos em que as plantas são submetidas em experimentos (FONSECA et al., 2002).

O acúmulo de biomassa seca é uma variável bastante utilizada, pois reflete o efeito dos diferentes tratamentos no processo de fotossíntese, divisão e expansão celular nos meristemas apicais (AZEVEDO NETO; TABOSA, 2000; DAS; SAMANTARAY; ROUT, 1997). Como o Cd afeta a absorção de água e nutrientes, isso causa decréscimo do crescimento (DAS; SAMANTARAY; ROUT, 1997). A biomassa seca de parte aérea está relacionada com a

quantidade de folhas ou a área foliar, o que está também relacionada com a atividade fotossintética (assimilação de carbono), pois é o processo responsável pela produção de biomassa (AGUIAR et al., 2011). Um dos efeitos do Cd é a senescência foliar, o que reduz a biomassa (SOARES et al., 2005).

A taxa fotossintética (assimilação de gás carbônico) é afetada por inúmeras variáveis como a disponibilidade de água e nutrientes, luminosidade, temperatura e área foliar (REIS, 1978). Além da determinação da taxa de assimilação de gás carbônico, outros atributos relacionados ao aparato fotossintético da planta podem expressar o comportamento desta em diferentes situações. Isso porque a condutância estomática é afetada pela disponibilidade de água e pelo estresse por metais, pois a planta fecha seus estômatos a fim de perder menos água. Isso altera a fotossíntese (pois diminui a absorção de CO₂), também afeta o fluxo transpiratório (diminui perda de água) e a distribuição de água para as folhas e caules, causando murchamento (SILVA et al., 2007; TAIZ et al., 2017). O Cd inibe a atividade da enzima Rubisco na planta, responsável pela fixação do carbono na fotossíntese (KURDZIEL; PRASAD; STRZALKA, 2004).

O crescimento dos meristemas, expresso pela determinação da altura e comprimento da raiz principal, é uma variável que é muito utilizada nos estudos de toxidez aos metais. Muitas vezes o crescimento meristemático não é afetado pelo contato com os metais, mas é uma estratégia de defesa utilizada pela planta para sobrevivência no solo. As raízes, em geral, são o órgão mais suscetível aos danos de metais pesados.

Os atributos morfológicos radiculares como o diâmetro de raízes, a área superficial, o comprimento médio de todas as raízes e o volume destas são importantes, pois a nível de toxidez de metais, expressam o potencial de adaptação de certas plantas. A área superficial e a média do comprimento total do sistema radicular revelam a capacidade da raiz de explorar melhor uma área de solo, tendo melhor desenvolvimento em campo com um sistema radicular abundante mesmo tendo seu comprimento de raiz principal interrompido pelo excesso do metal (MARQUES; RANGEL; CASTRO, 2009).

A determinação de pigmentos envolvidos na fotossíntese, como clorofila *a*, clorofila *b* e carotenóides também permite observar o desempenho fotossintético, visto que os pigmentos são responsáveis pela captação da energia da luz necessária pra fotossíntese. O Cd modifica a estrutura das clorofilas, pois elas são moléculas sensíveis, reduzindo a taxa fotossintética e a transdução de sinal (TAIZ et al., 2017).

Antes mesmo da planta manifestar os efeitos de estresse em sua morfologia, o interior da célula já pode estar dando sinais desta toxidez. Assim, tão necessário quanto o estudo dos

efeitos morfofisiológicos é a bioquímica do interior celular. O estresse por Cd causa alterações no metabolismo vegetal, pois pode substituir os elementos essenciais na estrutura de moléculas, inibir enzimas e interagir com o oxigênio para formar espécies reativas de oxigênio (ERO) (TAIZ et al., 2017).

Ao avaliarmos a quantidade de ERO produzidas nas células da parte aérea e raízes de plantas submetidas a diferentes concentrações de Cd, conseguimos entender como o sistema antioxidante desta planta funciona. Tanto componentes do sistema antioxidante enzimático (catalase, superóxido dismutase, peroxidases, etc) como não enzimático (glutathione, ascorbate, carotenóides, etc), que protegem a célula do estresse oxidativo, podem ser afetadas pelo Cd, reduzindo seus níveis e causando estresse (GUIMARÃES et al., 2008).

REFERÊNCIAS

ABHILASH, P. C.; POWELL, J. R.; SINGH, H. B.; SINGH, B. K. Plant-microbe interactions: novel applications for exploitation in multipurpose remediation technologies. **Trends in Biotechnology**, v. 30, n. 8, p. 416 – 420, 2012.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). **Toxicological profile for cadmium**. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Services, 2012. Disponível em: <<https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=48&tid=15>>. Acesso em: 10 jan. 2020.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). **Substance Priority List**, 2015. Disponível em: <https://www.atsdr.cdc.gov/spl/resources/2015_atsdr_substance_priority_list.html>. Acesso em: 10 jan. 2020.

AGUIAR, F. F. A.; KANASHIRO, S.; TAVARES, A. R.; NASCIMENTO, T. D. R.; ROCCO, F. M. Crescimento de mudas de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) submetidas a cinco níveis de sombreamento. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 58, n. 6, p. 729 - 735, 2011.

ALI, H.; KHAN, E.; SAJAD, M. A. Phytoremediation of heavy metals – concepts and applications. **Chemosphere**, v.91, p. 869 -81, 2013.

ALLOWAY, B. J; AYERS, D. C. **Chemical principles of environmental pollution**. 2 ed., 1996.

ALLEONI, L. R. F.; BORBA, R. P.; CAMARGO, O. A. **Metais pesados: da cosmogênese aos solos brasileiros**. In: TORRADO-VIDAL, P.; ALLEONI, L.R.F.; COOPER, M. & SILVA, A.P., eds. Tópicos em ciência do solo. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v.4. p.1- 42, 2005.

ANDRADE, J.C. M.; TAVARES, S. R. L.; MAHLER, C. F. **Fitorremediação: o uso de plantas na melhoria da qualidade ambiental**. São Paulo: Oficinas de Textos, 2007. 71 p.

AUGUSTO, A. S.; BERTOLI, A. C.; CANNATA, M. G.; CARVALHO, R.; BASTOS, A. R. R. Bioacumulação de Metais Pesados em *Brassica juncea*: Relação de Toxicidade com Elementos Essenciais. **Revista Virtual de Química**, Niterói, v.6, n. 5, p. 1221-1236, 2014.

ASGHER, M.; KHAN, M. I. R.; ANJUM, N. A.; KHAN, N.A. Minimising toxicity of cadmium in plants- role of plant growth regulators. **Protoplasma**, Germany, v. 252, n.2, p. 399-413, 2015.

AZEVEDO NETO, A. D.; TABOSA, J. N. Estresse salino em plântulas de milho: parte I análise do crescimento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.4, n.2, p.159-164, 2000.

BAKER, A. J. M.; McGRATH, S. P.; REEVES, R. D.; SMITH, J. A. C. Metal hyperaccumulator plants: A review of the ecology and physiology of a biological resource for

phytoremediation of metal-polluted soil. **Phytoremediation of contaminated soil and water**, Boca Raton, Lewis Publishers, v.85, p.85-107, 2000.

BACKES, P.; IRGANG, B. **Árvores do Sul**: guia de identificação & Interesse Ecológico. 2 ed. Porto Alegre: Paisagem do Sul, 2009, 322p.

BERNHOF, R. A. Cadmium toxicity and treatment. **The Scientific World Journal**, v. 2013, p. 1-7, 2013.

BIZARRO, V. G.; MEURER, E. J.; TATSCH, F. R. P. Teor de cádmio em fertilizantes fosfatados comercializados no Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.1, p.247-250, 2008.

BORGES, L. S.; GOTO, R.; LIMA, G. P. P. Índices morfo-fisiológicos e produtividade de cultivares de jambu influenciadas pela adubação orgânica e mineral. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 6, p. 1768-1778, Nov./Dec. 2014.

BRASIL, **Resolução CONAMA nº 420**, de 28 de dezembro de 2009.

CARPANEZZI, A. et al. **Manual técnico da bracatinga** (*Mimosa scabrella* Benth). EMBRAPA-CNPQ. Documentos, 20. Colombo, 1988.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo. São Paulo, CETESB, 2001. 76 p.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas. Embrapa Florestas, v. 1, 2003.

COBBETT, C.; GOLDSBROUGH, P. Phytochelatins and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 53, p.159 - 182, 2002.

CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro - Região Sul**. Brasília: MMA, ed. 2, 2011, 508 p.

COUTINHO, H. D.; BARBOSA, A. R. Fitorremediação: Considerações Gerais e Características de Utilização. **Silva Lusitana**, v. 15, n. 1, p. 103-117, Lisboa. Portugal, 2007.

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

EKMEKÇI, Y.; TANYOLAÇ, D.; AYHAN, B. Effect of cadmium on antioxidant enzyme and photosynthetic activities of leaves of two maize cultivars. **Journal of Plant Physiology**, v. 165, n. 6, p. 600-611, 2008.

ELEKES, C. C. **Eco-technological solutions for the remediation of polluted soil and heavy metal recovery**. In: Environmental Risk Assessment of Soil Contamination, Hernández-Soriano, Chapter 10, 2014. 312p.

FONSECA, E. P.; VALÉRI, S. V.; MIGLIORANZA, E.; FONSECA, N. A. N.; COUTO, L. Padrão de qualidade de mudas de *Trema micrantha* (L.) Blume, produzidas sob diferentes períodos de sombreamento. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 26, n. 4, p.515-523, 2002.

GOMES, L. M. C. **Respostas fisiológicas, bioquímicas e moleculares de plantas jovens de espécies lenhosas tropicais expostas ao cádmio**. 2012. 112 p. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular), Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, Bahia, 2012.

GONÇALVES, P. J. R. O.; VIEIRA, L. C.; NOGUEIRA, A. V.; CORSEUIL, H. X.; MEZZARI, M.P. Tolerance of tree reforestation species (*Schizolobium parahyba*, *Mimosa scabrella* and *Enterolobium contortisiliquum*) to Gasoline and Diesel Phytotoxicity Assays. **Journal of Bioremediation & Biodegradation**, S7:004, p. 1-8, 2012.

GUIMARÃES, M. A.; SANTANA, T. A.; SILVA, E. V.; ZENZEN, I. L.; LOUREIRO, M. E. Toxicidade e tolerância ao cádmio em plantas. **Revista Trópica- Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadinha, v. 1, n. 3, p. 58-68, 2008.

GUO, H.; CHEN, H.; HONG, C.; JIANG, D.; ZHENG, B. Exogenous malic acid alleviates cadmium toxicity in *Miscanthus sacchariflorus* through enhancing photosynthetic capacity and restraining ROS accumulation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 141, p. 119-128, 2017.

HUANG, D.; GONG, X.; LIU, Y.; ZENG, G.; LAI, C.; BASHIR, H.; ZHOU, L.; WANG, D.; XU, P.; CHENG, M.; WAN, J.; Effects of calcium at toxic concentrations of cadmium in plants. **Planta**, v. 245, n. 5, p. 863 -873, 2017.

KUBIER, A.; WILKIN, R. T.; PICHLER, T. Cadmium in soils and groundwater: A review. **Applied Geochemistry**, v. 108, p. 1-16, 2019.

KURDZIEL, B. M.; PRASAD, M. N. V.; STRZALKKA, K. Photosynthesis in heavy metal stressed plants. In: PRASAD, M.N.V. **Heavy metal stress in plants: From biomolecules to ecosystems**. Ed 2, p.146-181, 2004.

LAMEGO, F. P.; VIDAL, R. A. Fitorremediação: plantas como agentes de despoluição? **Pesticidas: Revista de ecotoxicologia e meio ambiente**, Curitiba, v. 17, p. 9-18, 2007.

LIN, Y. F.; AARTS, M. G. M. The molecular mechanism of zinc and cadmium stress response in plants. **Cellular and Molecular Life Sciences**, Suíça, v.69, n. 19, p.3187-3206, 2012.

LLATANCE, W. O.; SAAVEDRA, C. J. G.; CASTILLO, W. G.; MONDRAGÓN, E. P. Bioaccumulation of cadmium in cocoa (*Theobroma cacao*) in the Native Community of Pakun, Peru. **Revista Forestal del Perú**, v. 33, n. 1, p. 63- 75, 2018.

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

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**, Nova Odessa, SP: Editora Plantarum, v. 1, 7 ed., 2016.

MAR, S. S.; OKAZAKI, M. Investigation of Cd contents in several phosphate rocks used for the production of fertilizer. **Microchemical Journal**, v. 104, p. 17-21, 2012.

MARIANO, D. C.; OKUMURA, R. S. Aspectos agronômicos, usos pelo homem e mecanismos da fitorremediação: uma revisão. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente, Maringá**, v. 5, n. edição especial, p. 85-101, 2012.

MARCHIORI, J. N. C.; ALVES, F. S. Nota sobre a distribuição geográfica de *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. no Rio Grande do Sul. **Balduinia**, n. 33, p. 27-31, 2012.

MARQUES, A. P. G. C.; RANGEL, A. O. S. S.; CASTRO, P. M. L. Remediation of Heavy Metal Contaminated Soils: Phytoremediation as a Potentially Promising Clean-Up Technology. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 39, p. 622-664, 2009.

MARQUES, D. M.; SILVA, A. B.; MANTOVANI, J. R.; PEREIRA, D. S.; SOUZA, T. C. Growth and physiological responses of tree species (*Hymenaea courbaril* L., *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. and *Myroxylon peruiferum* L. F.) exposed to different copper concentrations in the soil. **Revista Árvore, Viçosa**, v. 42, n. 2, p. 1- 11, 2018.

MARQUES, D. M.; PEREIRA, D. S.; SILVA, A. B.; MANTOVANI, J. R.; MAGALHÃES, P. C.; SOUZA, T. C. Root morphology and leaf gas exchange in *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. (Caesalpinioideae) exposed to copper-induced toxicity. **South African Journal of Botany**, v. 121, p. 186-92, 2019.

MELLO, F. M.; BILAL, E.; MESQUITA, G. N. C.; TEODORO, M. E. L.R.; ARAUJO, T. P.; GALLICE, F. Background and reference values for the cadmium contents of brazilian soils compared. **Romanian Journal of Mineral Deposits**, Romenia, v. 91, n. 1-2, p. 91-96, 2018.

MILNER, M. J.; KOCHIAN, L. V. Investigating heavy-metal hyperaccumulation using *Thlaspi caerulescens* as a model system. **Annals of Botany**, v. 102, n.1, p. 3- 13, 2008.

MUNIZ, D. H. F.; OLIVEIRA-FILHO, E. C. Metais pesados provenientes de rejeitos de mineração e seus efeitos sobre a saúde e o meio ambiente. **Universitas: Ciências da Saúde, Brasília**, v. 4, n.1/2, p. 83-100, 2006.

PEREIRA, A. C. C.; RODRIGUES, A. C. D.; SANTOS, F. S.; GUEDES, J. N.; SOBRINHO, N. M. B. A. Concentração de metais pesados em espécies arbóreas utilizadas para revegetação de área contaminada. **Revista Ciências Agrônômicas, Fortaleza**, v. 43, n. 4, p. 641-647, 2012.

RIZWAN, M.; ALI, S.; REHMAN, M. Z. U.; RINKLEBE, J.; TSANG, D. C. W.; BASHIR, A.; MAQBOOL, A.; TACK, F. M. G.; OK, Y, S. Cadmium phytoremediation potential of *Brassica* crop species: a review. **Science of the total environment**, v. 631-632, p. 1175-1191, 2018.

SANTOS, A. S. **Cultivo de espécies vegetais com água do rio doce contaminada com rejeito de mineração**. 2016. 25 p. Monografia (Especialização em Meio Ambiente) - Instituto

Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais, Campus São João Evangelista, 2016.

RODRÍGUEZ-SERRANO, M.; DE LA CASA, N. C.; Romero-Puertas, M. C.; DEL RIO, L. A.; SANDALIO, L. M. Toxicidad del cadmio en plantas. **Ecosistemas**, v. 17, n. 3, p. 139-146, 2008.

SHAH, K.; KUMAR, R. G.; VERMA, S.; DUBEY, R. S. Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. **Plant Science**, v.161, n.6, p.1135-1144, 2001.

SHEORAN, V.; SHEORAN, A. S.; POONIA, P. Factors Affecting Phytoextraction: A Review. **Pedosphere**, v. 26, n. 2, p. 148-166, 2016.

SILVA, R. N.; LOPES, N. F.; DUARTE, G. L.; MORAES, D. M.; PEREIRA, A. L. A. Análise de crescimento de plantas de *Hordeum vulgare* L. submetidas a estresse salino. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.13, n.4, p.455-463, out-dez, 2007.

SILVA, R. F.; ANTONIOLLI, Z. I.; LUPATINI, M.; TRINDADE, L. L.; SILVA, A. S. Tolerância de mudas de canafístula (*Peltophorum dubium* (SPRENG.) TAUB.) inoculadas com *Pisolithus microcarpus* a solo com excesso de cobre. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 20, n. 1, p. 147-156, 2010.

SILVA, R. F.; LUPATINI, M.; ANTONIOLLI, Z. I.; LEAL, L. T.; MORO JUNIOR, C. A. 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.

SILVA, J. S.; SANTOS S. S.; GOMES, F. G. G. A biotecnologia como estratégias de reversão de áreas contaminadas por resíduos sólidos. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, Santa Maria, v. 18, n. 4, p.1361-1370, 2014.

SILVA, E.; GUILHERME, M. F. S.; OLIVEIRA, H. M.; ARAÚJO, L. N. C. P.; VIANA, Z. C. V.; SANTOS, V. L. C. S. Ecotoxicological effects of cadmium on the germination and initial development of *Schinus terebinthifolius*. **Revista de Ciências Agrárias**, v.40, n.2, p.311-318, 2017.

SILVA, E. P.; ARMAS, R. D.; FERREIRA, P. A. A.; DANTAS, M, K, L; GIACHINI, A. J.; NICOLEITE, E. R; GONZÁLEZ, A. H.; SOARES, C. R. F. S. Soil attributes in coal mining areas under recovery with bracatinga (*Mimosa scabrella*). **Letters in Applied Microbiology**, v. 68, n. 6, p. 497-504, 2019.

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

SOARES, C. R. F. S. et al. Fitotoxicidade de cádmio para *Eucalyptus maculata* e *E. urophylla* em solução nutritiva. **Revista Árvore**, v.29, n.2, p.175-183. 2005.

SOUZA, E. P.; SILVA, I. F.; FERREIRA, L. Mecanismos de tolerância a estresses por metais pesados em plantas. **Revista Brasileira de Agrocência**, Pelotas, v.17, n.2-4, p.167-173, abr-jun, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.

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

TAVARES, S. R. L. **Remediação de solos e águas contaminadas por metais pesados: Conceitos básicos e fundamentos**. Rio de Janeiro, RJ, ed.1, 2013.

VICENTINI, C.; MANSARGO, M. L.; GERBER, T.; SARTORETTO, L. M. Uso de diferentes substratos para produção de mudas de canafístula *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert. **Interfaces Acadêmica**, Concórdia, v. 11, n. 1, p. 23-40, 2016.

WEI, S.; ZHOU, Q.; SAHA, U.K. Hyperaccumulative characteristics of weed species to heavy metals. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 192, n. 1-4, p. 173-181, 2008.

YE, S.; ZENG, G.; WU, H.; ZHANG, C.; DAI, J.; LIANG, J.; YU, J.; REN, X.; YI, H.; CHENG, M.; ZHANG, C. Biological technologies for the remediation of co-contaminated soil. **Journal Critical Reviews in Biotechnology**. v. 37, n.8, p. 1062-1076, 2017.

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

ZHANG, X.; XIA, H.; LI, Z.; ZHUANG, P.; GAO, B. Identification of a new potential Cd-hyperaccumulator *Solanum photeinocarpum* by soil seed bank-metal concentration gradient method. **Journal of Hazardous Materials**, v. 189, n.1-2, p. 414-419, 2011.

ZHANG, H.; REYNOLDS, M. Cadmium exposure in living organisms: A short review. **Science of the Total Environment**, v. 678, p. 761-767, 2019.

5 CAPÍTULOS

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

Capítulo I: EFEITOS DO CÁDMIO NO CRESCIMENTO E NA FOTOSSÍNTESE DE *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. E *Mimosa scabrella* Benth.

Capítulo II: ESTRESSE OXIDATIVO CAUSADO PELO CÁDMIO EM MUDAS DE *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. E *Mimosa scabrella* Benth.

CAPÍTULO I
EFEITOS DO CÁDMIO NO CRESCIMENTO E NA ATIVIDADE
FOTOSSÍNTESE DE MUDAS DE *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. E *Mimosa*
***scabrella* Benth.**

RESUMO

AUTORA: Gerâne Silva Wertonge de Oliveira

ORIENTADORA: Luciane Almeri Tabaldi

A intensificação da realização de atividades antrópicas tem aumentado consideravelmente o teor de muitos elementos tóxicos no meio ambiente, especificamente o cádmio (Cd). Estudos sobre a relação deste metal com a flora se tornam necessários, visto que espécies que conseguem tolerar ou acumular Cd podem ser indicadas à fitorremediação de áreas contaminadas. *Peltophorum dubium* e *Mimosa scabrella* são espécies nativas, de crescimento rápido, com potencial para utilização em áreas degradadas e contaminadas. Nesse sentido, este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do Cd na produção de biomassa, no crescimento de raiz e parte aérea, na morfologia do sistema radicular e nas variáveis fotossintéticas de mudas destas espécies em cultivo hidropônico. Os experimentos foram instalados em períodos distintos para *P. dubium* (janeiro/2019) e *M. scabrella* (maio/2019) e conduzidos em casa de vegetação e nos Laboratórios de Fisiologia e Nutrição de Plantas do Departamento de Biologia, UFSM, RS. As mudas de cada espécie, após atingirem aproximadamente 15 cm de altura, foram transferidas para o sistema hidropônico para aclimatação em solução nutritiva completa. Após o período de aclimatação (sete dias para *P. dubium* e três semanas para *M. scabrella*) foram adicionadas as seguintes concentrações de Cd à solução nutritiva: 0, 25, 50, 75 e 100 μM . Ambas as espécies permaneceram expostas por 14 dias ao Cd, e durante este período foram realizadas avaliações das variáveis fotossintéticas e medições de comprimento de raiz e parte aérea antes e depois da aplicação de Cd. Após os 14 dias foram coletadas separadamente parte aérea e raízes das mudas para quantificação da biomassa seca e de variáveis morfológicas do sistema radicular. Os dados foram submetidos à análise de variância e a médias diferenciadas pelo teste de Tukey em 5% de probabilidade de erro. A espécie *P. dubium* se mostrou sensível ao Cd mesmo em baixas concentrações, pois o aumento de Cd em solução afetou negativamente a fotossíntese, a morfologia do sistema radicular, a produção de biomassa e o crescimento em altura e raiz principal. Já a espécie *M. scabrella* tolerou concentrações maiores de Cd (até 50 μM), sendo afetada somente a partir de 75 μM . Portanto, a *M. scabrella* pode ser uma espécie indicada para recuperação de solos contaminados com cádmio até 50 μM .

Palavras-chave: Espécies lenhosas. Metais pesados. Tolerância.

ABSTRACT

EFFECTS OF CADMIUM ON GROWTH AND PHOTOSYNTHESIS OF *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. AND *Mimosa scabrella* Benth.

AUTHOR: Gerâne Silva Wertonge de Oliveira

ADVISOR: Luciane Almeri Tabaldi

The intensification of anthropic activities has considerably increased the content of many toxic elements in the environment, specifically cadmium (Cd). Studies on the relationship of this metal with the flora become necessary, since species that can tolerate or accumulate Cd can be indicated for phytoremediation of contaminated areas. *Peltophorum dubium* and *Mimosa scabrella* are native species, of fast growth, with potential for use in degraded and contaminated areas. In this sense, this study aimed to evaluate the effects of Cd on biomass production, on root and shoot growth, on the morphology of the root system and on the photosynthetic variables of seedlings of these species in hydroponic cultivation. The experiments were installed in different periods for *P. dubium* (January/2019) and *M. scabrella* (May/2019) and conducted in the greenhouse and in the Physiology and Plant Nutrition Laboratories of the Department of Biology, UFSM, RS. The seedlings of each species, after reaching approximately 15 cm in height, were transferred to the hydroponic system for acclimatization in complete nutrient solution. After the acclimatization period (seven days for *P. dubium* and 3 weeks for *M. scabrella*), the following Cd concentrations were added to the nutrient solution: 0, 25, 50, 75 and 100 μM . Both species remained exposed for 14 days to the Cd, and during this period, evaluations of photosynthetic variables and measurements of root and shoot lengths were carried out before and after Cd application. After 14 days, shoot and roots of the seedlings were collected separately for quantification of dry biomass and morphological variables of the root system. Data were subjected to analysis of variance and differentiated means by the Tukey test at 5% probability of error. *P. dubium* was shown to be sensitive to Cd even at low concentrations, as the increase in Cd in solution negatively affected photosynthesis, the morphology of the root system, biomass production and growth in height and main root. *M. scabrella* tolerated higher concentrations of Cd (up to 50 μM), being affected only after 75 μM . Therefore, *M. scabrella* can be a species indicated for the recovery of soils contaminated with cadmium up to 50 μM .

Keywords: Woody species. Heavy metals. Tolerance.

INTRODUÇÃO

O aumento na concentração de metais pesados na atmosfera, na água e no solo, particularmente o cádmio (Cd), tem sido uma preocupação de muitos países nas últimas décadas. Dentre esses metais, o Cd assume um papel relevante na contaminação, devido à sua alta toxicidade e mobilidade (ARDUINI; GODBOLD; ONNIS, 1996; ATSDR, 2015). As principais atividades que contribuem para o incremento do seu teor são a queima de combustíveis fósseis, exploração de minérios de metais não ferrosos, incineração de resíduos, deposição de lixões urbanos e lodos de esgoto, e o uso excessivo de fertilizantes fosfatados, devido ao Cd ser uma impureza contida nestes (CHAVEZ et al., 2015; ATSDR, 2012; KUBIER; WILKIN; PICHLER, 2019).

Os fatores que mais colaboram para a biodisponibilidade deste elemento no solo são a acidez do solo e adsorção por matéria orgânica e argila, realidade de muitos tipos de solos brasileiros cultiváveis (ATSDR, 2012; FORBES; POSNER; QUIRK, 1976; GUIMARÃES et al., 2008). Estando de forma disponível para ser absorvido pelas culturas comestíveis, ele pode entrar, conseqüentemente, na cadeia alimentar humana e animal (ATAFAR et al., 2010). Ao ser absorvido pelas raízes das plantas, o Cd pode provocar clorose foliar, inibir consideravelmente o crescimento celular, bem como o crescimento total das plantas, além de reduzir a atividade fotossintética. Nos seres humanos tende a se acumular principalmente nos rins, sendo uma substância carcinogênica (GUO et al., 2017; PRASAD, 1995; GUIMARÃES et al., 2008).

Para tentar resolver o problema de contaminação dos solos por esses metais tóxicos, a fitorremediação surgiu a décadas, e é realizada com a utilização de plantas para amenizar os efeitos de contaminantes no solo, no ar e na água (FERNANDES et al., 2016). Apesar de já se conhecer espécies potencialmente fitorremediadoras, podem surgir algumas limitações/restrições de aplicabilidade à técnica quando conduzida com espécies exóticas, pois, apesar de geralmente terem um crescimento mais acelerado, poderiam comprometer a biodiversidade nativa de alguns locais (OLIVEIRA et al., 2009). Outros exemplos seriam o crescimento lento e o sistema radicular limitado de espécies acumuladoras, e/ou o uso de espécies com diferentes capacidades de tolerância ou especificidade no acúmulo de metais (SHEORAN; SHEORAN; POONIA, 2016; MARQUES et al., 2011). Neste sentido, muitas espécies nativas e lenhosas merecem atenção devido a sua alta produção de biomassa, sistema radicular profundo, capacidade de fitoestabilização do metal e fácil adaptação às condições edafoclimáticas, além de outros benefícios como o sequestro de carbono e potencial para uso

bioenergético, características essas buscadas em plantas fitorremediadoras (ALMEIDA et al., 2007; MARIANO; OKUMURA, 2012; ABHILASH et al., 2012).

Entre as espécies arbóreas nativas brasileiras destacam-se *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub., conhecida popularmente como canafístula, e *Mimosa scabrella* Benth., a bracatinga (CARVALHO, 2003). São duas leguminosas de grande porte, que apresentam rápido crescimento e papel importante na recuperação de áreas degradadas. Estudos relatam o potencial de *P. dubium* em acumular metais em seus tecidos, além de ser uma opção para revegetação de solos contaminados por cobre (SOARES et al., 2001; MARQUES et al., 2018; 2019; SILVA et al., 2011). Silva et al. (2019) também relataram benefícios da utilização de *M. scabrella* na recuperação de áreas degradadas por mineração de carvão. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do Cd no crescimento, na morfologia do sistema radicular e na atividade fotossintética de mudas de *Peltophorum dubium* e *Mimosa scabrella* submetidas ao cultivo hidropônico.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados na casa de vegetação e nos Laboratórios de Fisiologia e Nutrição de Plantas do Departamento de Biologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. As espécies *P. dubium* e *M. scabrella* foram cultivadas em períodos distintos, sendo a *P. dubium* cultivada no mês de janeiro de 2019 e a *M. scabrella* no mês de maio de 2019. As sementes de *P. dubium* e *M. scabrella*, provenientes do Centro de Pesquisas em Florestas (DDPA) de Santa Maria, RS, passaram por superação de dormência segundo critérios descritos nas Instruções para Análise de Sementes de Espécies Florestais (BRASIL, 2013). A superação de dormência de *P. dubium* foi feita com um corte pequeno e profundo do tegumento, na lateral do terço superior da semente. Após isso foi realizada a assepsia destas, e germinadas em papel germitest dentro de placas de petri. Após a emissão da radícula, estas plântulas foram semeadas no substrato como estratégia de uniformizar o crescimento entre as mudas. A superação de dormência de *M. scabrella* foi realizada com a imersão das sementes em água a 80°C, retirando a água da fonte de calor e deixando as sementes embebidas por 24 horas nesta água. O processo de pré-germinação em papel germitest não foi possível para esta espécie, portanto após a superação de dormência, já ocorreu a semeadura em bandejas plásticas (20 L) contendo substrato comercial a base de casca de pinus/eucalipto, cinzas, fibra de coco e casca de arroz.

A cada três dias as mudas foram irrigadas com água, com o uso de regador, até as mesmas atingirem aproximadamente 15 cm de altura. Após este processo de crescimento inicial, o qual levou em torno de 30 dias para *P. dubium* e 50 dias para *M. scabrella*, as mudas homogêneas de cada espécie foram transferidas para o sistema hidropônico para aclimação. As plantas de *P. dubium* ficaram sete dias em aclimação, enquanto que as mudas de *M. scabrella* necessitaram de três semanas para aclimação. A aclimação das mudas ocorreu em solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) 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 ($\text{FeSO}_4/\text{Na-EDTA}$). No sistema hidropônico, as mudas foram fixadas com auxílio de esponja em pequenos furos de placas de poliestireno. Estas placas foram suspensas em bandejas plásticas com capacidade de 16 L onde foi depositada a solução nutritiva e instalado sistema de aeração constante (Apêndice A).

Cultivo hidropônico em diferentes concentrações de Cd

Os experimentos hidropônicos foram conduzidos em delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro repetições por tratamento. Cada repetição (bandeja) foi composta por 16 plantas, as quais totalizaram 20 unidades experimentais por espécie. Os tratamentos foram compostos de cinco concentrações de Cd ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) aplicadas à solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950): 0, 25, 50, 75 e 100 μM de Cd. Essas concentrações foram definidas após testes preliminares e com base na literatura científica, e equivalem a 2.81, 5.62, 8.43 e 11.24 mg L^{-1} de Cd, respectivamente.

A cada sete dias as soluções foram trocadas e o pH ajustado em $4,5 \pm 0,1$. Nos dois experimentos, as plantas permaneceram expostas aos tratamentos por 14 dias, quando as mesmas apresentaram sintomas visuais de toxicidade, principalmente na maior concentração de Cd (100 μM).

Variáveis avaliadas

Após o período de aclimação e antes da aplicação das concentrações de Cd na solução nutritiva foram mensurados o comprimento da raiz principal e a altura da parte aérea de seis plantas por bandeja, utilizando-se régua graduada em centímetros. Após isso, as plantas foram transferidas para uma nova solução nutritiva contendo os tratamentos.

Aos 10 e aos 13 dias após a aplicação dos tratamentos, nas mudas da espécie *P. dubium* foram obtidas as variáveis fisiológicas relacionadas ao aparato fotossintético, mediante avaliações em duas plantas de cada repetição. Isto ocorreu durante o período das 8 horas às 11 horas, com a utilização do medidor portátil infra-vermelho de CO₂, marca LICOR, modelo LI-6400XT (Apêndice B). Foram determinadas: a taxa de assimilação líquida de CO₂/taxa fotossintética (A), a condutância estomática de vapores de água (Gs), a concentração interna de CO₂ (Ci), a taxa transpiratória (E), a eficiência do uso da água (EUA) e a eficiência de carboxilação da Rubisco (A/Ci), em uma concentração de CO₂ ambiente de 400 μmol mol⁻¹ a 20–25°C, 50 ± 5% de umidade relativa e densidade de fluxo de fótons de 1500 μmol m⁻² s⁻¹. Para a espécie *M. scabrella* não foi possível a determinação das variáveis fotossintéticas devido ao seu mecanismo foliar de fechamento dos folíolos mediante estresse ou toque (Apêndice B).

Após 14 dias de exposição ao Cd, foram determinados novamente o comprimento da raiz principal e a altura da parte aérea das mesmas plantas. Após essas determinações, as plantas foram coletadas para determinação de:

- Incremento da raiz principal e da parte aérea: foram determinados pela subtração dos valores de medições após e antes da adição de Cd.

- Comprimento, área superficial, volume e diâmetro de raízes: o sistema radicular das plantas foi limpo cuidadosamente, ao ser submerso em um béquer com água deionizada por alguns segundos. Após a lavagem, foram dispostos em folhas de papel filtro, acondicionados em sacos plásticos e levados à geladeira (4°C). A digitalização das raízes foi realizada com auxílio do scanner Epson 11000XL, onde as imagens foram geradas e analisadas pelo software WinRHIZO Pro.

- Biomassa seca de parte aérea e raízes: as plantas foram separadas em parte aérea e raízes, colocadas em sacos de papel Kraft e levadas à estufa de circulação forçada de ar a 65°C, sendo posteriormente pesadas em balança de precisão (0,0001g) até massa constante.

Análise estatística dos dados

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de Normalidade dos erros pelo teste de Shapiro-Wilk e de Homogeneidade de Variâncias por meio do teste de Bartlett (STORCK et al., 2016). Após atendimento dos pressupostos, os dados foram submetidos à análise de variância e a médias diferenciadas pelo teste de Tukey em 5% de probabilidade de erro, utilizando-se o *software* estatístico SISVAR v 5.6 (FERREIRA, 2014).

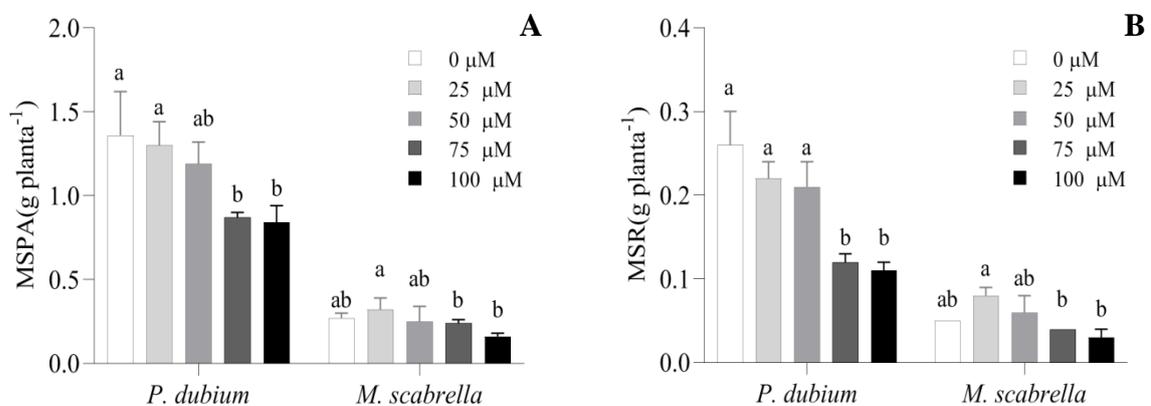
RESULTADOS

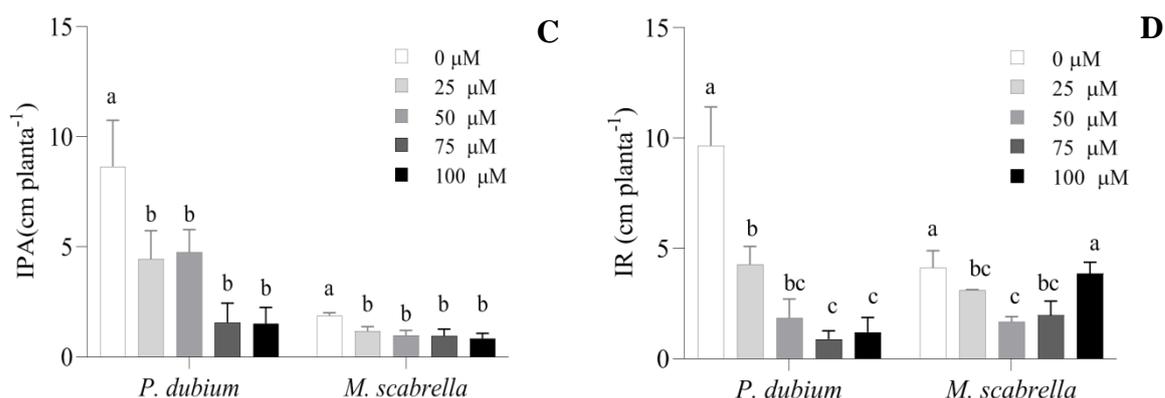
Efeitos do Cd no crescimento

Para a espécie *P. dubium*, as concentrações de 75 e 100 μM de Cd reduziram a biomassa seca de parte aérea e a massa seca de raízes, comparado com o tratamento controle, além de apresentar severa senescência foliar em 100 μM aos 10 dias de exposição (dados não apresentados). Por outro lado, não houve diferença significativa entre os tratamentos, comparado com o controle, para a massa seca de parte aérea e massa seca de raízes nas plantas de *M. scabrella* (Figura 1A, 1B).

Os valores de incremento médio em comprimento de raízes (IR) foram reduzidos em todas as concentrações de Cd em plantas de *P. dubium*, com redução de 55% na concentração de 25 μM . Para *M. scabrella*, a redução em IR foi observada em 25, 50 e 75 μM , sendo que ocorreu uma redução de 25% em 25 μM (Figura 1D). Para a espécie *M. scabrella*, os valores de IR na maior concentração de Cd foram estatisticamente iguais ao tratamento controle, provavelmente devido ao fato das raízes estarem alongadas, frágeis e não apresentarem raízes secundárias (Apêndice C). Este resultado corrobora com o baixo valor de biomassa seca de raiz (1B), e com o decréscimo nos valores de comprimento total (o qual considera o comprimento da raiz principal e das raízes laterais), área superficial e diâmetro radicular nesta mesma concentração (Figura 2B). Observou-se também que em *M. scabrella* o incremento no crescimento de raízes foi maior que o obtido para a parte aérea.

Figura 1 - Efeito das concentrações de Cd na biomassa seca de parte aérea (MSPA) (A), biomassa seca de raízes (MSR) (B), incremento médio em altura de parte aérea (IPA) (C) e no incremento médio em comprimento da raiz principal (IR) (D) de plantas de *P. dubium* e *M. scabrella* cultivadas em sistema hidropônico.





*Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos, dentro de cada espécie, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. As barras representam média±desvio padrão.

Fonte: A autora (2020).

Em relação ao incremento médio em altura de parte aérea (IPA), as duas espécies foram afetadas a partir da concentração mais baixa de Cd (25 μM), a qual não diferiu das demais concentrações. Apesar disso, efeitos de supressão no crescimento aéreo e senescência foram verificados visualmente apenas na exposição às maiores concentrações de Cd (75 e 100 μM). As mudas de *P. dubium* e *M. scabrella* expostas a 100 μM de Cd tiveram um IPA, respectivamente, de 82% e 55% menor, comparado às mudas cultivadas no tratamento controle (Figura 1C).

Os efeitos do Cd na morfologia do sistema radicular de *P. dubium* evidenciaram que na concentração mais baixa (25 μM) houve uma redução no comprimento total radicular em 36%, chegando a um decréscimo de 80% em 100 μM em relação ao controle. O mesmo comportamento foi observado também para área superficial, diâmetro e volume radicular, mas pode se dizer que o comprimento foi a variável mais atingida (Figura 2A).

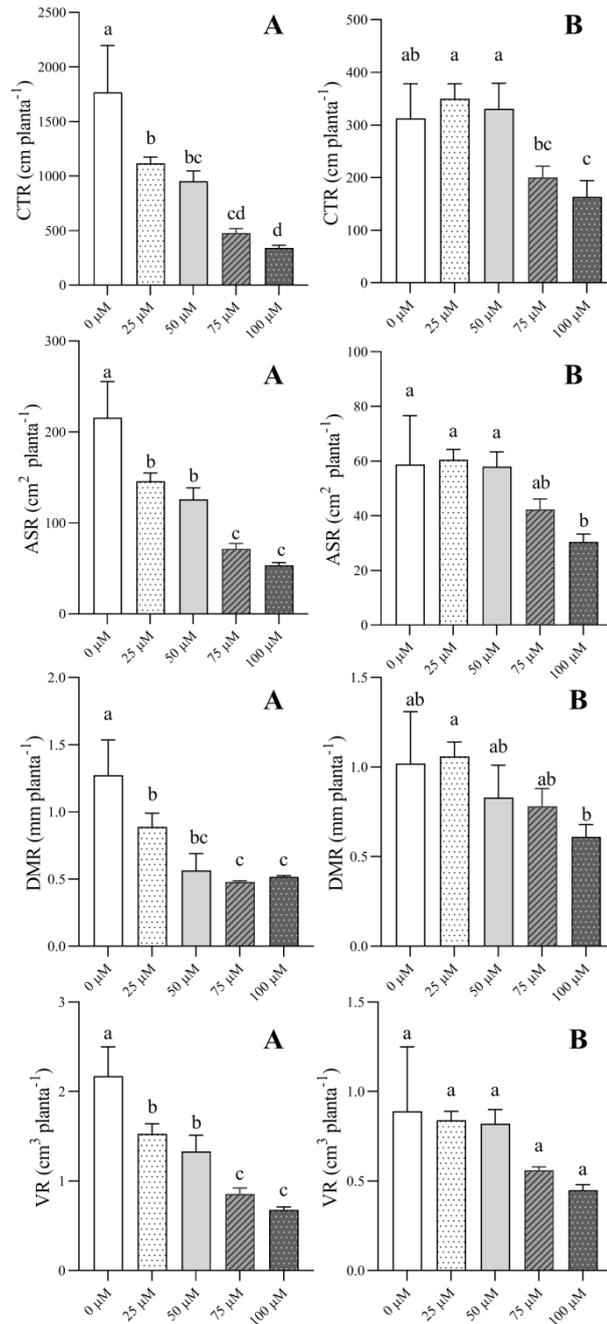
O efeito do Cd no desenvolvimento do sistema radicular de *M. scabrella* nas mesmas variáveis se diferenciou, pois, de modo geral, somente a concentração de 100 μM de Cd afetou negativamente o comprimento total e a área superficial de raízes, enquanto para o volume e o diâmetro das raízes não houve diferença significativa em relação ao tratamento controle (Figura 2B).

Efeitos do Cd nas variáveis fotossintéticas de *P. dubium*

Após 10 dias de exposição aos tratamentos, de uma forma geral, as variáveis fotossintéticas das mudas de *P. dubium* reduziram a partir da concentração de 50 μM, exceto em eficiência do uso da água (EUA), a qual aumentou significativamente em 75 e 100 μM

(Figura 3E). Esse aumento na EUA tem relação com a taxa de transpiração, a qual reduziu a partir de 50 μM de Cd aos 10 dias (Figura 3D).

Figura 2 - Comprimento total radicular (CTR), área superficial de raízes (ASR), diâmetro médio radicular (DMR) e volume radicular (VR) de plantas de *P. dubium*. (A) e de *M. scabrella* (B) expostas a diferentes concentrações de cádmio em cultivo hidropônico.



*Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos, dentro de cada espécie, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. As barras representam média \pm desvio padrão.
Fonte: A autora (2020).

Aos 13 dias de tratamento (três dias após a primeira avaliação das variáveis fotossintéticas) algumas diferenças foram identificadas. Enquanto a taxa fotossintética (taxa de assimilação líquida de CO₂) foi reduzida somente a partir de 50 µM, a condutância estomática (Gs) também reduziu com o aumento de Cd, mas passou a diferir significativamente ($p < 0,05$) do controle a partir de 25 µM (Figura 3A, 3B). O mesmo foi observado para taxa de transpiração (Figura 3D).

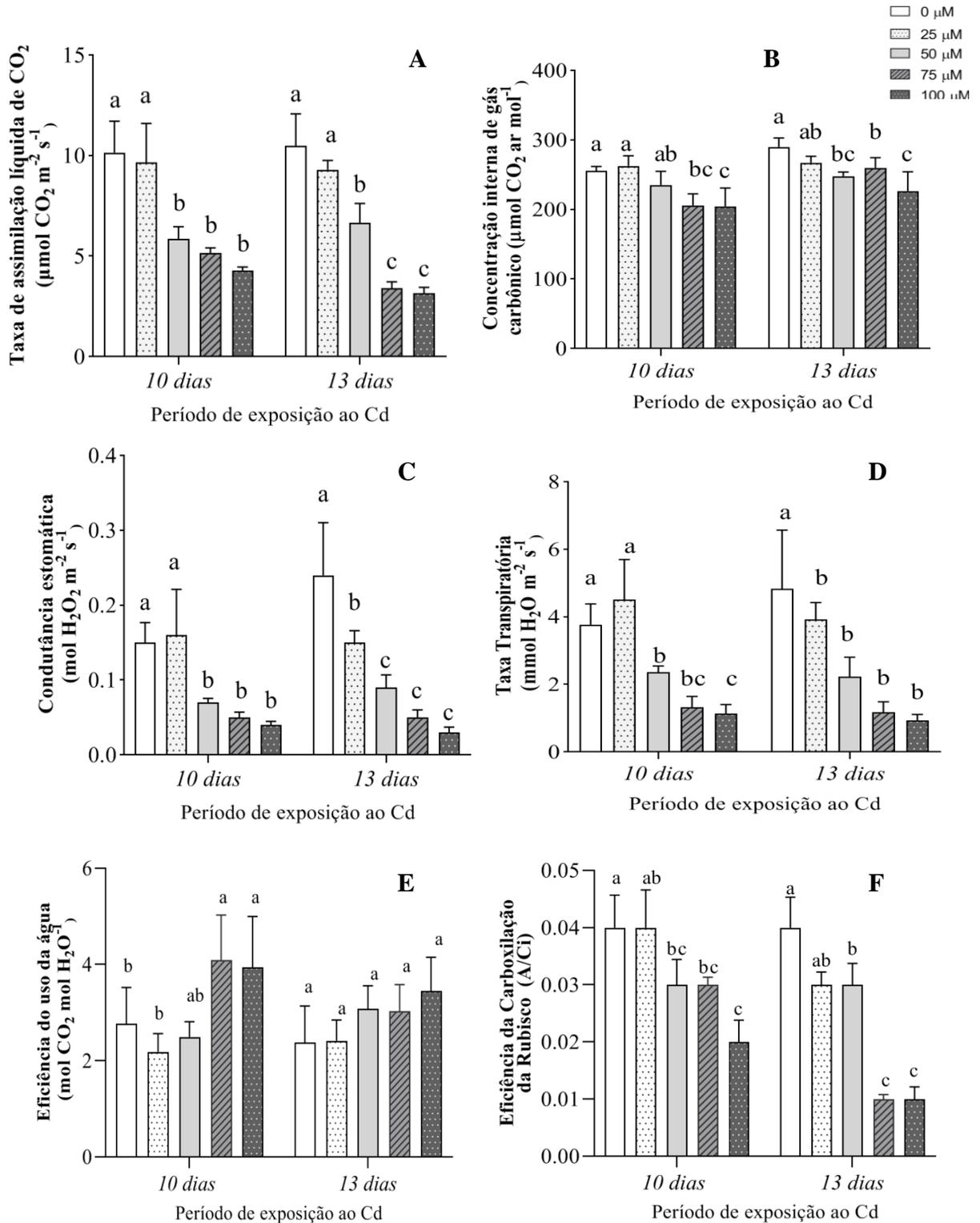
Aos 10 dias de exposição ao Cd, a concentração interna de gás carbônico (Ci) foi reduzida a partir de 75 µM, enquanto aos 13 dias de avaliação, essa redução já foi observada em 50 µM (Figura 3C). Essa redução na Ci pode ter relação com o fechamento dos estômatos, o que está relacionado também com a queda na taxa de transpiração. A eficiência de carboxilação da Rubisco (A/Ci) também reduziu a partir de 50 µM de Cd em ambas avaliações (Figura 3F).

DISCUSSÃO

Os resultados indicaram valores de biomassa e de IR e IPA (Figura 1) em mudas de *P. dubium* maiores que as mudas de *M. scabrella*, por serem naturalmente mais robustas. No entanto, para *P. dubium* as concentrações maiores de Cd na solução nutritiva causou efeitos negativos mais significativos no crescimento do que para *M. scabrella*, visto que nas maiores concentrações, do Cd houve senescência foliar em *P. dubium*, e de maneira geral, a partir de menores concentrações, a morfologia de suas raízes e a fotossíntese já foram afetadas negativamente.

Particularmente, a espécie *M. scabrella* apresentou valores de comprimento de raiz principal maior que o incremento em altura de parte aérea até mesmo no tratamento controle (Figura 1). No entanto, para as duas espécies o crescimento da parte aérea foi menos afetado do que o das raízes com o crescente acréscimo de Cd na solução nutritiva, em comparação com as plantas não expostas ao Cd. Isto pode ser afirmado com base nos aspectos visuais apresentados pelas mudas (Apêndice C) e por meio dos resultados de inibição de crescimento (Figura 1C, 1D), possivelmente porque as raízes são a parte da planta que estavam diretamente em contato com o Cd na solução. Corroborando com este resultado, Guimarães et al. (2008) relataram o fato de que é comum que o teor de Cd seja maior nas raízes do que nas folhas. O aumento de Cd na solução não afetou significativamente a MSPA e MSR de *M. scabrella* em comparação ao controle, já para *P. dubium* houve uma redução na MSPA e MSR somente a partir de 75 µM de Cd (Figura 1).

Figura 3 - Taxa fotossintética (A), condutância estomática de vapores de água (B), concentração interna de CO₂ (C), taxa transpiratória (D), eficiência do uso da água (E) e eficiência de carboxilação da Rubisco (F) de plantas de *P. dubium* após 10 e 13 dias de exposição a diferentes concentrações de Cd em sistema hidropônico.



*Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos, dentro de cada espécie, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. As barras representam média±desvio padrão.

Fonte: A autora (2020).

No entanto, a partir de 25 μM , ocorreu uma redução no incremento em crescimento de raízes e parte aérea (IR e IPA) nas plantas de ambas as espécies. Apesar de ocorrer esta inibição de crescimento de raiz principal, em *M. scabrella* o comprimento total radicular, assim como a área superficial radicular só foram reduzidos em 100 μM em relação ao controle, possivelmente pela quantidade de raízes secundárias emitidas na presença de Cd (Figura 2B e Apêndice C), o que poderia explicar o fato da exposição ao Cd impactar mais no incremento em crescimento da raiz principal (IR) em menores concentrações de Cd do que a biomassa (MSR e MSPA) e a relação com seu efeito nas variáveis fotossintéticas, sendo este o processo responsável por produção de biomassa das plantas. Em *P. dubium*, o Cd aos 13 dias afetou a fotossíntese na concentração de 50 μM (Figura 3A), e a MSR e MSPA desta espécie apresentou os menores valores após esta concentração. Apesar de não obtermos resultados destas variáveis fotossintéticas para *M. scabrella*, supõe-se que o mesmo pode ter ocorrido para explicar os valores de MSR e MSPA nesta espécie.

O estresse em plantas, principalmente por metais pesados, acaba por inibir o crescimento apical e a produção de biomassa, visto que inúmeros processos são afetados no interior da planta (DAS; SAMANTARAY; ROUT, 1997). O Cd, ao entrar em contato com os meristemas, pode levar à inibição da multiplicação e divisão celular, reduzindo o crescimento das plantas (DAS; SAMANTARAY; ROUT, 1997). Mesmo em espécies que se mostraram tolerantes ao Cd, como *Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen, *Jatropha curcas* L. e *Hevea brasiliensis* (Willd. Ex ADR de Juss.) Muell. Arg., houve também decréscimo em seu crescimento e desenvolvimento (HUNGRIA et al., 2019; CHAVES; SOUZA 2014; CUPERTINO, 2006), o que explica os valores de MSR não diferirem do controle nas concentrações com Cd na espécie *M. scabrella* (Figura 1B), pois foram emitidas raízes secundárias pelas mudas expostas a estas concentrações (Apêndice C).

Alguns autores relataram como efeitos do estresse ocasionado pelo Cd a inibição da formação de raízes laterais e aumento do diâmetro radicular acompanhado de encurtamento, além do enegrecimento das raízes (PEREIRA et al., 2017; LUX et al., 2011; WÓJCIK; TUKENDORF, 1999; DINAKAR et al., 2009). Entretanto, neste trabalho foi observado que nas plantas submetidas a concentrações menores de Cd, foi inibido o crescimento de raiz principal, mas as raízes secundárias continuaram a se desenvolver, sugerindo uma estratégia de adaptação destas espécies, especialmente *M. scabrella*, diante o estresse causado por concentrações menores de Cd. Com o aumento de concentrações de Cd, progressivamente, as raízes foram escurecendo e as raízes laterais foram desaparecendo, corroborando com o descrito na literatura. Também foi observado decréscimo no diâmetro radicular de *P. dubium*,

enquanto para *M. scabrella* não houve respostas significativas para esta variável com o aumento de Cd na solução.

A morfologia do sistema radicular de *P. dubium* indica que a concentração de 25 μM afeta todas as variáveis (Figura 2A), revelando que apesar de possuir raízes bem robustas, estas se apresentaram mais sensíveis a altas concentrações de Cd. Em *M. scabrella* (Figura 2B) os efeitos do Cd se mostraram significativos somente em 100 μM para algumas variáveis morfológicas do sistema radicular, indicando um sistema radicular mais tolerante ao Cd. A área superficial desta foi responsiva somente à 100 μM , possivelmente pela influência da quantidade de raízes secundárias. Devido o Cd se encontrar nas camadas mais superficiais do solo (KUBIER; WILKIN; PICHLER, 2019), plantas capazes de explorar as diferentes camadas do solo, que apresentem um bom comprimento radicular e com elevado volume de raízes finas, mesmo em condições de toxidez, podem ser indicadas como fitoextratoras de metais (FRANÇA et al., 2006).

Além dos efeitos no crescimento, o Cd também causou efeitos negativos nas variáveis fotossintéticas de *P. dubium* a partir de 50 μM . O Cd pode interferir na atividade fotossintética de várias formas, como mediante a inibição da cadeia de transporte de elétrons do cloroplasto, má formação do cloroplasto, inibição de enzimas do Ciclo de Calvin ou devido à redução da concentração de clorofila, reduzindo a eficiência dos fotossistemas (GUIMARÃES et al., 2008). Os valores de eficiência do uso da água (EUA) foram maiores em 75 e 100 μM de Cd, pois com o estresse causado pelo Cd, as plantas fecharam seus estômatos (decréscimo na condução estomática - GS), o que resultou na redução da taxa de transpiração e fotossíntese. A maior EUA em altas concentrações de Cd em *P. dubium* tem relação com a condutância estomática, uma vez que as plantas mantêm os estômatos fechados por mais tempo, e reduzem a perda de água. No entanto, foi possível evidenciar que em um curto período de tempo de três dias esta eficiência não conseguiu se manter estável. A redução nas variáveis fotossintéticas também foi observada por Gomes (2012) ao estudar 13 espécies lenhosas tropicais, o qual verificou que a fotossíntese da maioria destas espécies foi afetada pela exposição à alta concentração de Cd em cultivo hidropônico.

A menor condutância estomática também está relacionada com o decréscimo da atividade fotossintética. Isto explica porque após três dias de diferença nas avaliações, foram identificadas alterações nas variáveis fotossintéticas, demonstrando que a contínua exposição a este metal interfere na fotossíntese desta espécie e, conseqüentemente, na produção de biomassa (SANDALIO et al., 2001; CHAVES; SOUZA, 2014). A Rubisco é a enzima responsável pela fixação do CO_2 (carboxilação) na fotossíntese, a qual pode ter sua estrutura

desorganizada pelo Cd (KURDZIEL; PRASAD; STRZALKA, 2004), o que interfere em sua eficiência, como visto neste estudo.

No Brasil, o Conselho Nacional do Meio Ambiente por meio da Resolução nº 420/2009 (BRASIL, 2009), estabeleceu valores aceitáveis e máximos de Cd para cada situação específica, sendo que a quantidade de Cd a partir $1,3 \text{ mg Kg}^{-1}$ já oferece riscos, enquanto 3 mg Kg^{-1} no solo já o classifica como contaminado. As concentrações médias de Cd no Brasil em solos não contaminados correspondem a $0,18 \text{ mg Kg}^{-1}$, e solos contaminados a nível mundial podem conter de 5,9 a 531 mg Kg^{-1} de Cd, dependendo da fonte de poluição (KUBIER; WILKIN; PICHLER, 2019). A concentração mínima de Cd utilizada neste estudo foi de $25 \text{ }\mu\text{M}$, o que equivale à $2,81 \text{ mg L}^{-1}$ de Cd, ou seja, já é considerada uma concentração alta, ainda mais quando se considera a exposição da planta em solução nutritiva, onde a disponibilidade do metal é maior comparada ao solo. No caso de *P. dubium*, apesar do Cd ter afetado algumas de suas variáveis de crescimento, em concentrações até $25 \text{ }\mu\text{M}$, esta apresentou um bom desenvolvimento. Já *M. scabrella* tolerou maiores concentrações de Cd (até $50 \text{ }\mu\text{M}$) sem afetar seu crescimento e desenvolvimento radicular.

CONCLUSÃO

As concentrações de cádmio afetaram negativamente o crescimento, a morfologia do sistema radicular e as variáveis fotossintéticas das plantas de *P. dubium*.

Já o crescimento e a morfologia de *M. scabrella* foi satisfatório até $50 \text{ }\mu\text{M}$, sugerindo-se que esta espécie pode ser indicada para recuperação e fitorremediação de solos contaminados com cádmio até esta concentração.

REFERÊNCIAS

ABHILASH, P.C., POWELL, J.R., SINGH, H.B., SINGH, B.K. Plant-microbe interactions: novel applications for exploitation in multipurpose remediation technologies. **Trends in Biotechnology**, v. 30, n. 8, p. 416 – 420, 2012.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). **Toxicological profile for cadmium**. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Services, 2012. Disponível em:

<<https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=48&tid=15>>. Acesso em: 10 jan. 2020.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). **Substance Priority List**, 2015. Disponível em:

<https://www.atsdr.cdc.gov/spl/resources/2015_atsdr_substance_priority_list.html>. Acesso em: 10 jan. 2020.

ALMEIDA, A. A. F.; VALLE, R. R.; MIELKE, M. S.; GOMES, F. P. Tolerance and prospection of phytoremediator woody species of Cd, Pb, Cu and Cr. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 19, n. 2, p. 83-98, 2007.

ARDUINI, I.; GODBOLD, D. L.; ONNIS, A. Cadmium and copper uptake and distribution in Mediterranean tree seedlings. **Physiologia Plantarum**, v. 97, n.1, p. 111-117, 1996.

ATAFAR, Z.; MESDAGHINIA, A.; NOURI, J.; HOMAEE, M.; YUNESIAN, M.; AHMADIMOGHADDAM, M.; MAHVI, A. H. Effect of fertilizer application on soil heavy metal concentration. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 160, p. 83- 89, 2010.

BRASIL, **Resolução CONAMA nº 420**, de 28 de dezembro de 2009.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instruções para análise de sementes de espécies florestais**, de 17 de janeiro de 2013, Brasília: MAPA, 2013. 98 p.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas. Embrapa Florestas, v. 1, 2003.

CHAVES, L. H. G.; SOUZA, R.S. Crescimento, distribuição e acumulação de cádmio em plantas de *Jatropha curcas*. **Revista de Ciências Agrárias** [online], vol. 37, n.3, p. 286-291, 2014.

CHAVEZ, E.; HE, Z. L.; STOFFELLA, P. J.; MYLAVARAPU, R. S.; LI, Y. C.; MOYANO, B.; BALIGAR, V. C. Concentration of cadmium in cacao beans and its relationship with soil cadmium in southern Ecuador. **Science of the total Environment**, v. 533, p. 205–214, 2015.

CUPERTINO, I. C. F. S. **Respostas morfofisiológicas e nutricionais de plantas jovens de seringueira *Hevea brasiliensis* [(Willd. Ex. Adr. de Juss.) Muell.-Arg.] cultivadas na presença de alumínio, cádmio, níquel e zinco**. 2006. 116 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

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

DINAKAR, N., NAGAJYOTHI, P.C., SURESH, S., DAMODHARAM, T., SURESH, C. Cadmium induced changes on proline, antioxidant enzymes, nitrate and nitrite reductase in *Arachis hypogaea* L. **Journal of Environmental Biology**, v. 30, n. 2, p. 289–294, 2009.

FERNANDES, C. G.; PAVANI, C. D.; OMORI, W. P.; SOUZA, J. A. M. Biorremediação de solos contaminados por cádmio. Cap 2. In: **Tópicos Especiais em Genética Aplicada**, v. 3, 2016.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**. vol. 38, n. 2, p. 109-112, 2014.

FORBES, E. A.; POSNER, A. M.; QUIRK, J. P. The specific adsorption of divalent Cd, Co, Pb, and Zn on goethite. **European Journal of Soil Science**, v. 27, n. 2, p. 154 -166, 1976.

FRANÇA, M. G. C; ROSSIELLO, R. O. P.; RAMOS, F. T. ; ZONTA, E. Root growth and proton efflux rates of rice seedlings in a greenhouse environment. **Acta Botânica Brasilica** [online], v. 20, n.1, p. 25-30, 2006.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants without soils**. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, 347p., 1950.

HUNGRIA, L. C.; OLIVEIRA, E. S; SAMPAIO, I. M. G.; SOUZA, E. S.; FERNANDES, A. R. Tolerância de plantas de Jambu (*Acmella oleracea*) cultivadas em solo contaminado por cádmio. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 5, n. 11, p. 26211-26219, 2019.

GOMES, L. M. C. **Respostas fisiológicas, bioquímicas e moleculares de plantas jovens de espécies lenhosas tropicais expostas ao cádmio**. 2012. 112 p. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular), Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, Bahia, 2012.

GUIMARÃES, M. A.; SANTANA, T. A.; SILVA, E. V.; ZENZEN, I. L.; LOUREIRO, M. E. Toxicidade e tolerância ao cádmio em plantas. **Revista Trópica– Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadina, v. 1, n. 3, p. 58-68, 2008.

GUO, H.; CHEN, H.; HONG, C.; JIANG, D.; ZHENG, B. Exogenous malic acid alleviates cadmium toxicity in *Miscanthus sacchariflorus* through enhancing photosynthetic capacity and restraining ROS accumulation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 141, p. 119-128, 2017.

KUBIER, A.; WILKIN, R. T.; PICHLER, T. Cadmium in soils and groundwater: A review. **Applied Geochemistry**, v. 108, p. 1-16, 2019.

KURDZIEL, B. M.; PRASAD, M. N. V.; STRZALKA, K. Photosynthesis in heavy metal stressed plants. In: PRASAD, M.N.V. **Heavy metal stress in plants: From biomolecules to ecosystems**. Ed 2, p.146-181, 2004.

LUX, A.; MARTINKA, M.; VACULIK, M.; WHITE, P. J. Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, p. 21-37, 2011.

MARIANO, D. C.; OKUMURA, R. S. Aspectos agronômicos, usos pelo homem e mecanismos da fitorremediação: uma revisão. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente, Maringá**, v. 5, n. edição especial, p. 85-101, 2012.

MARQUES, T. C. L. L. S. M.; SOARES, A. M.; GOMES, M. P.; MARTINS, G. Respostas fisiológicas e anatômicas de plantas jovens de eucalipto expostas ao cádmio. **Revista Árvore, Viçosa**, v. 35, n.5, p. 997- 1006, 2011.

MARQUES, D. M; SILVA, A. B.; MANTOVANI, J. R.; PEREIRA, D. S.; SOUZA, T. C. Growth and physiological responses of tree species (*Hymenaea courbaril* L., *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. and *Myroxylon peruiferum* L. F.) exposed to different copper concentrations in the soil. **Revista Árvore, Viçosa**, v. 42, n. 2, p. 1- 11, 2018.

MARQUES, D. M; PEREIRA, D. S.; SILVA, A. B.; MANTOVANI, J. R.; MAGALHÃES, P. C.; SOUZA, T. C. Root morphology and leaf gas exchange in *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. (Caesalpinioideae) exposed to copper-induced toxicity. **South African Journal of Botany**, v. 121, p. 186–192, 2019.

OLIVEIRA, D. L.; MOREIRA, S. O. L.; ROCHA, C.; MOREIRA, P. C. Plantas Nativas do Cerrado: uma alternativa para fitorremediação. **Estudos, vida e saúde, Goiânia**, v. 36, n. 11/12, p. 1141-1159, 2009.

PEREIRA, A. S.; CORTEZ, P. A.; ALMEIDA, A. A. F.; PRASAD, M. N. V.; FRANCA, M. G. C.; CUNHA, M.; JESUS, R. M.; MANGABEIRA, P. A. O. Morphology, ultrastructure, and element uptake in *Calophyllum brasiliense* Cambess. (Calophyllaceae J. Agardh) seedlings under cadmium exposure. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, p. 15576 – 15588, 2017.

PRASAD, M. N. V. Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants. **Environmental and Experimental Botany**, v.35, n.4, p.525-545, 1995.

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

SHEORAN, V.; SHEORAN, A. S.; POONIA, P. Factors Affecting Phytoextraction: A Review. **Pedosphere**, v. 26, n. 2, p. 148-166, 2016.

SILVA, R. F.; LUPATINI, M.; ANTONIOLLI, Z. I.; LEAL, L. T.; MORO JUNIOR, C. A. 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.

SILVA, E. P.; ARMAS, R. D.; FERREIRA, P. A. A.; DANTAS, M, K, L; GIACHINI, A. J.; NICOLEITE, E. R.; GONZÁLEZ, A. H.; SOARES, C. R. F. S. Soil attributes in coal mining areas under recovery with bracatinga (*Mimosa scabrella*). **Letters in Applied Microbiology**, v. 68, n. 6, p. 497-504, 2019.

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

STORCK, L. GARCIA, D. C.; LOPES, S. J. ESTEFANEL, V. **Experimentação vegetal**. 3. ed. Santa Maria, RS: Editora da UFSM. 2016. 198p.

WÓJCIK, M.; TUKENDORF, A. Cd-tolerance of maize, rye and wheat seedlings. **Acta Physiologiae Plantarum**, Kraków, v. 21, n.2, p. 99-107, 1999.

CAPÍTULO II

ESTRESSE OXIDATIVO CAUSADO PELO CÁDMIO EM MUDAS DE *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. E *Mimosa scabrella* Benth.

RESUMO

AUTORA: Gerâne Silva Wertonge de Oliveira

ORIENTADORA: Luciane Almeri Tabaldi

O cádmio (Cd) é um metal que se encontra naturalmente no solo em concentrações baixas, mas que ocupa um lugar de destaque nas problemáticas mundiais devido ao aumento da sua disponibilidade ocasionado por diversas atividades poluidoras. Níveis tóxicos de Cd causam efeitos variados nos seres humanos e nas plantas, as quais são a principal via de entrada de Cd na cadeia, devido a sua utilização como recurso alimentar. Certas plantas podem servir como barreiras a esta contaminação. Portanto, é preciso avaliar os limites de tolerância/toxidez, bem como os danos que este metal pode causar nas plantas. As espécies *Peltophorum dubium* e *Mimosa scabrella* são nativas brasileiras, de rápido crescimento e com uma extensa área de abrangência no Brasil. São árvores leguminosas que ocorrem naturalmente em áreas degradadas, o que lhes confere características intrínsecas de tolerância a solos alterados. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do Cd nas variáveis bioquímicas de mudas destas espécies em cultivo hidropônico. Foram conduzidos dois experimentos em períodos distintos para cada espécie: *P. dubium* (janeiro/2019) e *M. scabrella* (maio/2019). Os estudos foram realizados na casa de vegetação e nos Laboratórios de Fisiologia e Nutrição de Plantas do Departamento de Biologia, UFSM, Santa Maria, RS. As mudas das espécies *P. dubium* e *M. scabrella* foram transferidas para o sistema hidropônico para aclimação, o qual era composto por solução nutritiva completa. Após aclimação, foram adicionados os tratamentos com as seguintes concentrações de Cd: 0, 25, 50, 75 e 100 µM. As plantas permaneceram em exposição ao Cd por 14 dias e após foram coletadas para as análises bioquímicas e de quantificação de biomassa total (MST). Os dados foram submetidos à análise de variância e a médias diferenciadas pelo teste de Tukey em 5% de probabilidade de erro. Em *P. dubium*, o efeito do estresse oxidativo causado pelo Cd reduziu os teores de pigmentos, especialmente para clorofilas totais e clorofila *b*, enquanto para *M. scabrella* não houve efeito negativo do Cd sobre essas variáveis. Apesar da atividade da enzima peroxidase (POD) ter sido induzida pelo Cd e sido responsável pela redução dos níveis de H₂O₂, isso não conseguiu evitar a peroxidação lipídica nas duas espécies. No entanto, a peroxidação lipídica não ocasionou danos para a produção de biomassa e pigmentos das plantas de *M. scabrella*, diferentemente do evidenciado para *P. dubium*. Isto sugere que *M. scabrella* se mostrou mais tolerante ao estresse oxidativo causado por este metal.

Palavras-chave: Sistema antioxidante. Peroxidação lipídica. Espécies arbóreas nativas.

ABSTRACT

OXIDATIVE STRESS CAUSED BY CADMIUM IN *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. AND *Mimosa scabrella* Benth. SEEDLINGS

AUTHOR: Gerâne Silva Wertonge de Oliveira

ADVISOR: Luciane Almeri Tabaldi

Cadmium (Cd) is a metal that is naturally found in the soil in low concentrations, but that has occupied a prominent place in global problems due to the increase in its availability caused by various polluting activities. Toxic levels of Cd cause varied effects on humans and plants, which are the main route of entry of Cd in the chain, due to its use as a food resource. Certain plants can serve as barriers to this contamination. Therefore, it is necessary to evaluate the limits of tolerance/toxicity, as well as the damage that this metal can cause in plants. The species *Peltophorum dubium* and *Mimosa scabrella* are native Brazilian, fast growing and with an extensive area of coverage in Brazil. They are leguminous trees that occur naturally in degraded areas, which give them intrinsic characteristics of tolerance to altered soils. Therefore, this study aimed to evaluate the effects of Cd on the biochemical variables of seedlings of these species in hydroponic cultivation. Two experiments were conducted at different periods for each species: *P. dubium* (January/2019) and *M. scabrella* (May/2019). The studies were carried out in the greenhouse and in the Plant Physiology and Nutrition Laboratories of the Department of Biology, UFSM, Santa Maria, RS. The seedlings of the species *P. dubium* and *M. scabrella* were transferred to the hydroponic system for acclimatization, which was composed of a complete nutrient solution. After acclimatization, treatments with the following Cd concentrations were added: 0, 25, 50, 75 and 100 μM . The plants remained on exposure to Cd for 14 days and afterwards were collected for biochemical analysis and quantification of total biomass (MST). The data were subjected to analysis of variance and differentiated means by the Tukey test at 5% probability of error. In *P. dubium*, the effect of oxidative stress caused by Cd reduced the levels of pigments, especially for total chlorophylls and chlorophyll *b*, while for *M. scabrella* there was no negative effect of Cd on these variables. Despite the fact that peroxidase (POD) enzyme activity was induced by Cd and was responsible for the reduction of H_2O_2 levels, this failed to prevent lipid peroxidation in both species. However, lipid peroxidation did not cause damage to the production of biomass and pigments of *M. scabrella* plants, differently from what was evidenced for *P. dubium*. This suggests that *M. scabrella* was more tolerant to oxidative stress caused by this metal.

Keywords: Antioxidant system. Lipid peroxidation. Native tree species.

INTRODUÇÃO

O incremento no conteúdo e disponibilidade de metais pesados vem sendo um dos agravantes da poluição ambiental que tem gerado preocupações a décadas, devido ao aumento de atividades antrópicas que contribuem para este fato (GRATÃO et al., 2005). Dentre os metais tóxicos, o cádmio (Cd) é considerado um dos mais danosos, ocupando o sétimo lugar da Lista Nacional de Prioridade de 2015 da ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), entre os elementos que apresentam ameaças a saúde humana devido a sua toxicidade. A principal entrada de Cd no organismo humano e animal é mediante o suprimento alimentar, pois é um metal que se encontra naturalmente no solo em concentrações baixas, mas que tem se tornado preocupante o aumento da sua disponibilidade devido a diversas atividades poluidoras (ATSDR, 2012).

O Cd provoca diversos efeitos adversos tanto nas plantas como nos animais. Ao atingir altos níveis de contaminação numa área, pode ocorrer a supressão da vegetação, diante as inúmeras consequências que a presença do Cd acarreta nas plantas, prejudicando sua morfologia, fisiologia, estrutura e bioquímica. O Cd diminui o crescimento e a biomassa de parte aérea e raízes (GUO et al., 2017), compete por transportadores de membrana de outros cátions, provoca clorose foliar e reduz a atividade fotossintética (GUIMARÃES et al., 2008).

Níveis tóxicos de Cd causam efeitos variados também nas atividades de enzimas do sistema antioxidante vegetal, podendo inibir ou ativar estas enzimas. A superóxido dismutase (SOD), é responsável por reduzir radicais de oxigênio em H_2O_2 , e a catalase (CAT) e as peroxidases (POD) removem o H_2O_2 (SHAH et al., 2001; EKMEKÇI; TANYOLAÇ; AYHAN, 2008; GUIMARÃES et al., 2008). Devido a interferência no Cd nestas enzimas, ocorre estresse oxidativo pelo aumento da concentração de espécies reativas de oxigênio (ERO). O aumento no conteúdo destas ERO pode interferir em diversos processos celulares, como a peroxidação de lipídeos de membrana, a fotossíntese e consequentemente a proliferação celular (crescimento) (ZHANG; REYNOLDS, 2019).

No entanto, certas plantas também podem servir como barreiras a esta contaminação diante dos mecanismos que exercem ao serem expostas a níveis tóxicos de metais pesados (COBBETT; GOLDSBROUGH, 2002). A fitorremediação é uma alternativa que utiliza plantas e microorganismos para reduzir a quantidade de metais pesados em solos contaminados (GRATÃO et al., 2005). Para isso, além de estudos quanto ao potencial de crescimento das espécies em tais condições, é necessário avaliar os efeitos fisiológicos ocasionados à planta como os danos oxidativos e a atividade de enzimas antioxidantes, a fim

de elucidar quais concentrações limites são toleradas ou causam toxidez para estas espécies e assim propor a utilização destas na revegetação de áreas contaminadas por Cd (SILVA et al., 2010; MILNER; KOCHIAN, 2008), pois plantas só manifestam visualmente os efeitos de toxidez, como a inibição do crescimento e produção de biomassa, após sofrerem danos oxidativos no interior de suas células.

As espécies *Peltophorum dubium* e *Mimosa scabrella* são nativas brasileiras, de rápido crescimento com uma extensa área de abrangência no Brasil. São árvores da família Fabaceae que ocorrem naturalmente em áreas degradadas, o que lhes confere características intrínsecas de tolerância a solos alterados (CARVALHO, 2003; LORENZI, 2016). Já foi verificado em outros estudos a tolerância destas espécies em locais contaminados por outros metais e poluentes orgânicos (SILVA et al., 2011; SOARES et al., 2001; SANTOS et al., 2016; GONÇALVES et al., 2012; SILVA et al., 2019). No entanto, não foram encontrados estudos que esclareçam o comportamento bioquímico/fisiológico destas espécies em exposição a altas concentrações de Cd. Espécies lenhosas na fitorremediação, apesar de apresentarem menor grau de tolerância, em alguns casos, comparado as herbáceas, tem se mostrado viáveis tendo em vista que as lenhosas podem imobilizar por um período maior os metais absorvidos em seus tecidos, por exemplo o caule, retardando seu retorno ao solo (SOARES et al., 2001; CAIRES et al., 2011). Outros benefícios são o rápido crescimento, produção de grande quantidade de biomassa, sequestro de carbono e potencial para uso bioenergético dos subprodutos (ALMEIDA et al., 2007; ABHILASH et al., 2012). Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do Cd em variáveis bioquímicas de *P. dubium* e *M. scabrella*, em cultivo hidropônico.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na casa de vegetação e nos Laboratórios de Fisiologia e Nutrição de Plantas do Departamento de Biologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. Foram conduzidos experimentos nas mesmas condições para as espécies, mas em períodos distintos para cada espécie: *Peltophorum dubium* (em janeiro de 2019) e *Mimosa scabrella* (em maio de 2019). As sementes foram provenientes do Centro de Pesquisas em Florestas (DDPA) de Santa Maria, RS e passaram pelo processo de superação de dormência segundo critérios descritos nas Instruções para Análise de Sementes de Espécies Florestais (BRASIL, 2013) antes da semeadura em substrato.

Nas sementes de *P. dubium*, a superação da dormência foi feita com um corte pequeno e profundo do tegumento, na lateral do terço superior da semente. Após isso foi realizada a assepsia destas, seguida da germinação em papel germitest dentro de placas de petri acondicionadas em câmara de crescimento (25°C). Posteriormente, as sementes germinadas foram semeadas no substrato como estratégia de uniformizar o crescimento entre as mudas. A superação de dormência de *M. scabrella* foi realizada com a imersão das sementes em água a 80°C, retirando a água da fonte de calor e deixando as sementes embebidas por 24 horas nesta água. O processo de pré-germinação em papel germitest não foi possível para esta espécie, portanto após a superação de dormência, já ocorreu a semeadura direta em substrato comercial em bandejas plásticas (20L).

As mudas foram regadas frequentemente com regador e o período de crescimento inicial das mudas foi de 30 dias para *P. dubium* e 50 dias para *M. scabrella*. As mudas homogêneas (com aproximadamente 15 cm de altura) foram transferidas para o sistema hidropônico com aeração constante. Neste sistema as plantas de *P. dubium* ficaram sete dias em aclimação, enquanto que as mudas de *M. scabrella* necessitaram de três semanas para aclimação. O processo de aclimação das mudas ocorreu em solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) 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 (FeSO₄/Na-EDTA). Após o período de aclimação, diferentes concentrações de Cd (CdCl₂.H₂O) foram acrescentadas a solução nutritiva (descrita acima): 0, 25, 50, 75 e 100 μM .

Os experimentos hidropônicos foram conduzidos em delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro repetições (bandeja) por tratamento. Em cada bandeja foram depositadas 16 mudas. A cada sete dias as soluções foram trocadas e o pH ajustado em $4,5 \pm 0,1$. Nos dois experimentos as plantas permaneceram expostas aos tratamentos por 14 dias, quando as mesmas apresentaram sintomas visuais de toxicidade, principalmente na maior concentração de Cd (100 μM).

Variáveis avaliadas

Após 14 dias de exposição ao Cd, foram coletadas as raízes e parte aérea das mudas para determinação das seguintes variáveis:

- Biomassa seca total: em ambos os experimentos três plantas por repetição (raízes e parte aérea) foram coletadas e levadas à estufa de circulação forçada de ar a 65°C, e posteriormente pesadas em balança de precisão (0,0001g).
- Variáveis bioquímicas: amostras frescas de folhas e de raízes foram congeladas (-80°C) e após maceradas com nitrogênio líquido para determinação da concentração de pigmentos, peroxidação de lipídeos de membrana, atividade da enzima guaiacol peroxidase e conteúdo de peróxido de hidrogênio.

Determinação das variáveis bioquímicas

Concentração de pigmentos (clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides)

As clorofilas *a* e *b* e os carotenoides foram extraídos segundo o método de Hiscox; Israelstan (1979) e estimados usando a equação de Lichtenthaler (1987). Neste método, amostras das folhas maceradas (0,05 g) foram incubadas à 65°C com dimetilsulfóxido (DMSO), até ocorrer a extração completa dos pigmentos. Após isso, as absorvâncias da solução foram medidas em espectrofotômetro em 663, 645 e 470 nm para clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides, respectivamente.

Conteúdo de peróxido de hidrogênio

O conteúdo de peróxido de hidrogênio foi determinado de acordo com Loreto; Velikova (2001). Amostras (0,3 g) de raízes e folhas maceradas em nitrogênio líquido foram homogeneizadas em 3,0 mL de 0,1% de ácido tricloroacético (TCA). Após a homogeneização, as amostras foram centrifugadas. Adicionou-se 0,5 mL do sobrenadante em 0,5 mL de tampão fosfato de potássio (10 mM) e 1 mL de KI (1M), e foi realizada a absorvância das amostras em espectrofotômetro a 390 nm. A concentração de H₂O₂ do sobrenadante foi avaliada comparando suas leituras com uma curva padrão de calibração. A concentração de H₂O₂ foi expressa como $\mu\text{mol g}^{-1}$ peso fresco.

Peroxidação de lipídeos de membrana

A peroxidação lipídica foi determinada pela concentração de malondialdeído (MDA), seguindo o método de El-Moshaty et al. (1993). Amostras de folhas e raízes (0,5 g) foram maceradas em nitrogênio líquido e homogeneizadas em 4,0 mL de tampão citrato de sódio (pH 6,5) e centrifugadas. Um mL do sobrenadante foi adicionado a 1 mL de ácido tricloroacético (TCA) 20% (w/v) contendo 0,5% (w/v) de ácido tiobarbitúrico (TBA). A mistura foi aquecida a 95°C por 40 min e então resfriada em banho de gelo por 15 min, sendo

centrifugada a 10.000 x g por 15 minutos. A absorbância do sobrenadante foi lida a 532 e 600 nm (para corrigir a turbidez não específica). A peroxidação lipídica foi expressa como nmol de MDA mg⁻¹ de proteína.

Atividade da enzima guaiacol peroxidase (POD)

As amostras de raízes e folhas (0,5 g) foram homogeneizadas em 3,0 mL de tampão fosfato de sódio (pH 7,8) 0,05 M. Após, o homogeneizado foi centrifugado e o sobrenadante foi utilizado para a determinação da atividade da enzima guaiacol peroxidase conforme ZHU et al. (2004). A atividade da enzima guaiacol peroxidase foi determinada segundo Zeraik, Souza e Fatibello Filho (2008), utilizando-se o guaiacol como substrato.

Conteúdo de proteínas

O conteúdo de proteínas foi determinado segundo Bradford (1976), utilizando albumina sérica bovina como padrão.

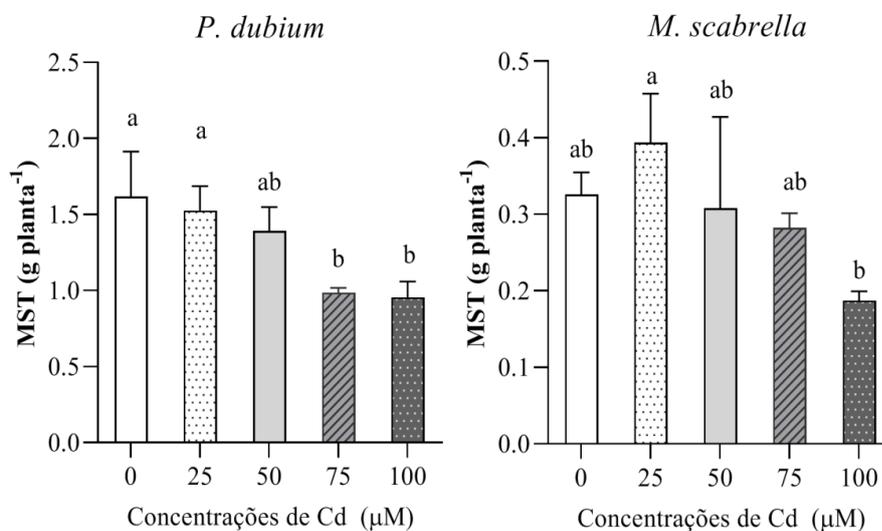
Análise estatística dos dados

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de Normalidade dos erros pelo teste de Shapiro-Wilk e de Homogeneidade de Variâncias mediante o teste de Bartlett (STORCK et al., 2016). Após atendimento dos pressupostos, os dados foram submetidos à análise de variância e a médias diferenciadas pelo teste de Tukey em 5% de probabilidade de erro, utilizando-se o *software* estatístico SISVAR v 5.6 (FERREIRA, 2014).

RESULTADOS

A produção de biomassa seca total de plantas de *P. dubium* foi significativamente reduzida a partir de 75 µM de Cd, enquanto para *M. scabrella*, não houve diferença significativa entre os tratamentos, comparado com o controle (Figura 1). Estes resultados corroboram com os efeitos visuais das plantas principalmente no aspecto das raízes de *P. dubium* (Apêndice C).

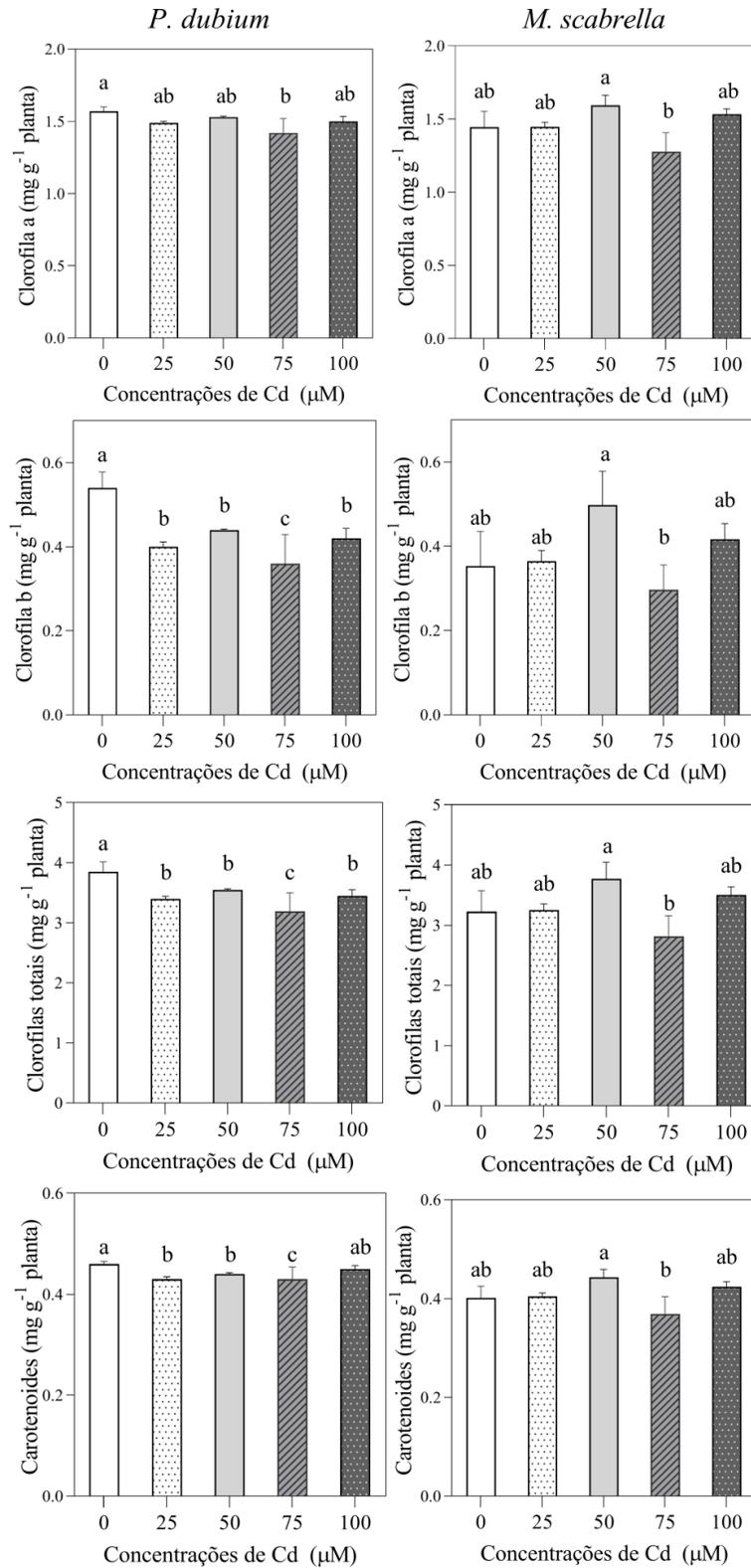
Figura 1 - Biomassa seca total de *P. dubium* e *M. scabrella* após 14 dias de exposição à diferentes concentrações de Cd em cultivo hidropônico.



*Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos, dentro de cada espécie, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. As barras representam média±desvio padrão.
Fonte: A autora (2020).

Nas folhas de *P. dubium* o conteúdo de clorofilas totais decresceu em relação ao controle a partir de 25 µM, porém este efeito não foi intenso e progressivo (Figura 2). O mesmo ocorreu para o conteúdo de carotenoides. No entanto, na maior concentração de Cd (100 µM), o conteúdo de carotenoides foi estatisticamente igual ao tratamento controle ($p < 0,05$). O conteúdo de clorofila *a* diminuiu em 75 µM e o conteúdo de clorofila *b* reduziu com o aumento de Cd a partir de 25 µM (Figura 2). Para *M. scabrella*, o aumento das concentrações de Cd não afetou significativamente o conteúdo de nenhum dos pigmentos em relação ao tratamento controle (Figura 2).

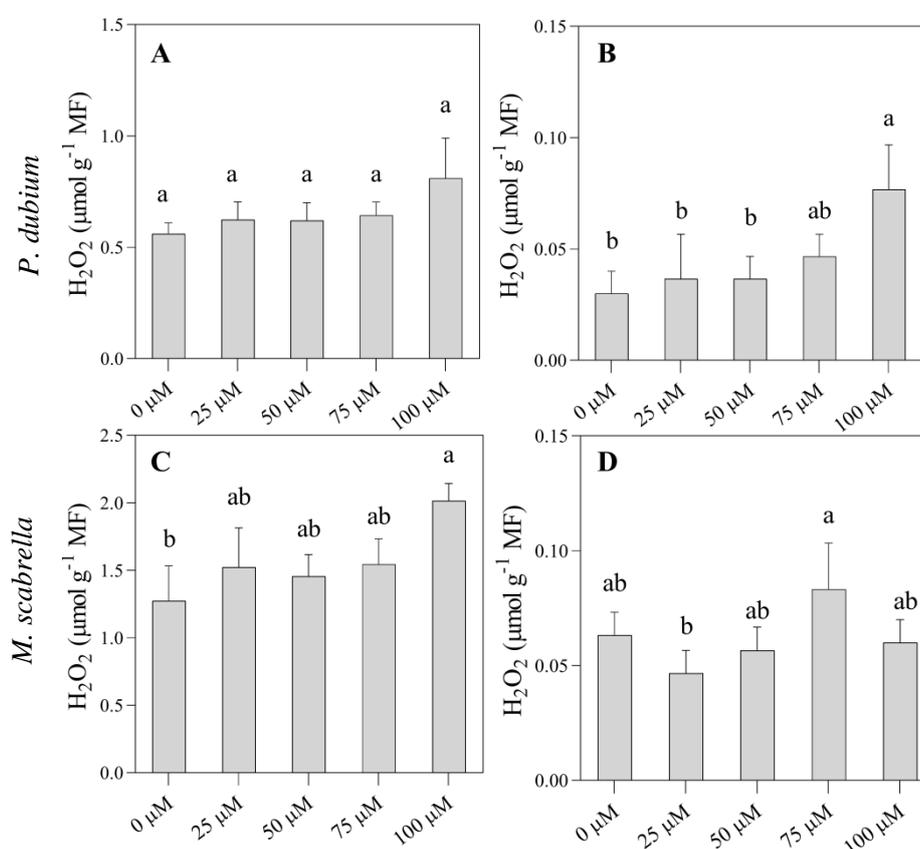
Figura 2 - Conteúdo de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofilas totais e carotenoides de folhas de plantas de *P. dubium* e *M. scabrella* expostas por 14 dias a diferentes concentrações de Cd em cultivo hidropônico.



*Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos, dentro de cada espécie, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. As barras representam média±desvio padrão.
Fonte: A autora (2020).

O conteúdo da espécie reativa de oxigênio (ERO) peróxido de hidrogênio (H_2O_2) na parte aérea das duas espécies foi maior que o conteúdo nas raízes, até mesmo no tratamento controle (Figura 3A, 3C). Na parte aérea de *P. dubium* o Cd não aumentou a produção de H_2O_2 , ao contrário de suas raízes, nas quais 100 μM de Cd promoveu um aumento no conteúdo de H_2O_2 (Figura 3A, 3B). Para *M. scabrella*, foi observado um aumento no conteúdo de H_2O_2 em 100 μM de Cd na parte aérea (Figura 3C). Por outro lado, nas raízes, não houve diferença significativa, comparado com o controle, na produção de H_2O_2 (Figura 3D).

Figura 3- Conteúdo de H_2O_2 em parte aérea (A) e raízes (B) de mudas de *P. dubium* e em parte aérea (C) e raízes (D) de mudas de *M. scabrella* expostas por 14 dias a diferentes concentrações de Cd em cultivo hidropônico.



*Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos, dentro de cada espécie, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. As barras representam média \pm desvio padrão.

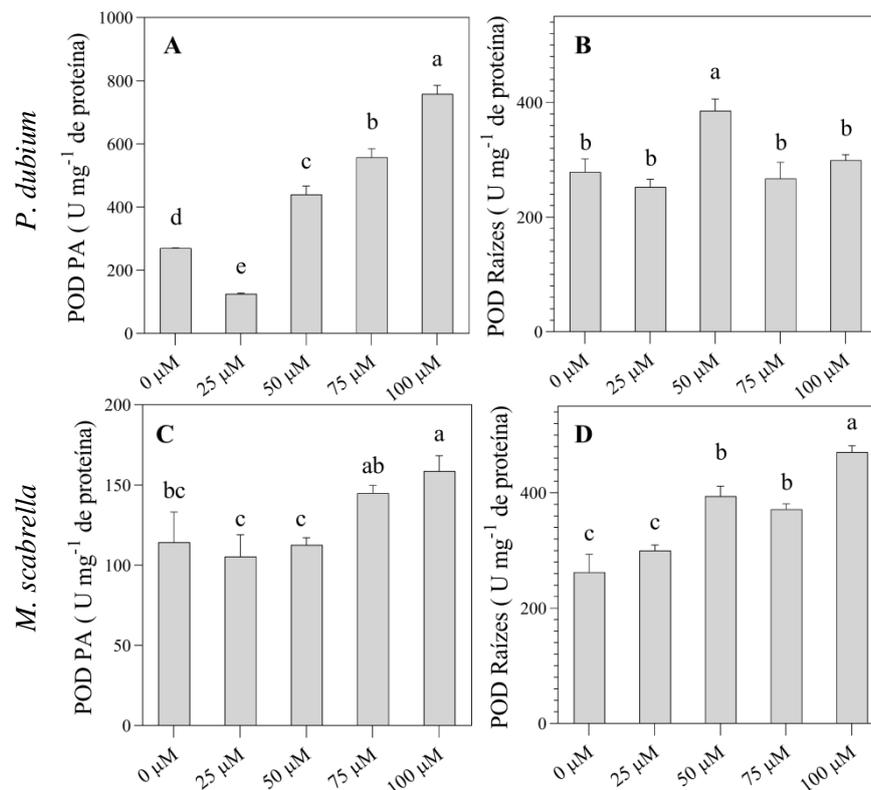
Fonte: A autora (2020).

Assim como ocorrido nos resultados de H_2O_2 , também foram observados maiores valores de atividade da enzima guaiacol peroxidase (POD) na parte aérea de *P. dubium* comparado as suas raízes. O contrário foi constatado para *M. scabrella*, onde a atividade da POD nas raízes foi aproximadamente o dobro de sua atividade na parte aérea.

Na parte aérea de *P. dubium*, a atividade de POD reduziu em 25 μM e após aumentou progressivamente com as concentrações de Cd, onde apresentou maior atividade em 100 μM (Figura 4A). Nas raízes desta espécie, sua maior atividade foi em 50 μM , comparado com o controle (Figura 4B). Estes resultados corroboram com os valores de conteúdo de H_2O_2 , visto que esta enzima degrada o H_2O_2 na planta.

Em *M. scabrella*, os maiores valores de atividade da POD na parte aérea foram observados em 100 μM (Figura 4C), no entanto este aumento não foi capaz de reduzir o conteúdo de H_2O_2 nesta mesma concentração (Figura 3C). A atividade da POD nas raízes aumentou também com as concentrações de Cd a partir de 50 μM , o que permitiu que, nas raízes dessa espécie, o conteúdo de H_2O_2 mantivesse sem alterações em relação ao controle com o acréscimo de Cd (Figura 4D).

Figura 4 - Atividade da enzima guaiacol peroxidase (POD) em parte aérea (A) e raízes (B) de mudas de *P. dubium* e em parte aérea (C) e raízes (D) de mudas de *M. scabrella* expostas por 14 dias a diferentes concentrações de Cd em cultivo hidropônico.



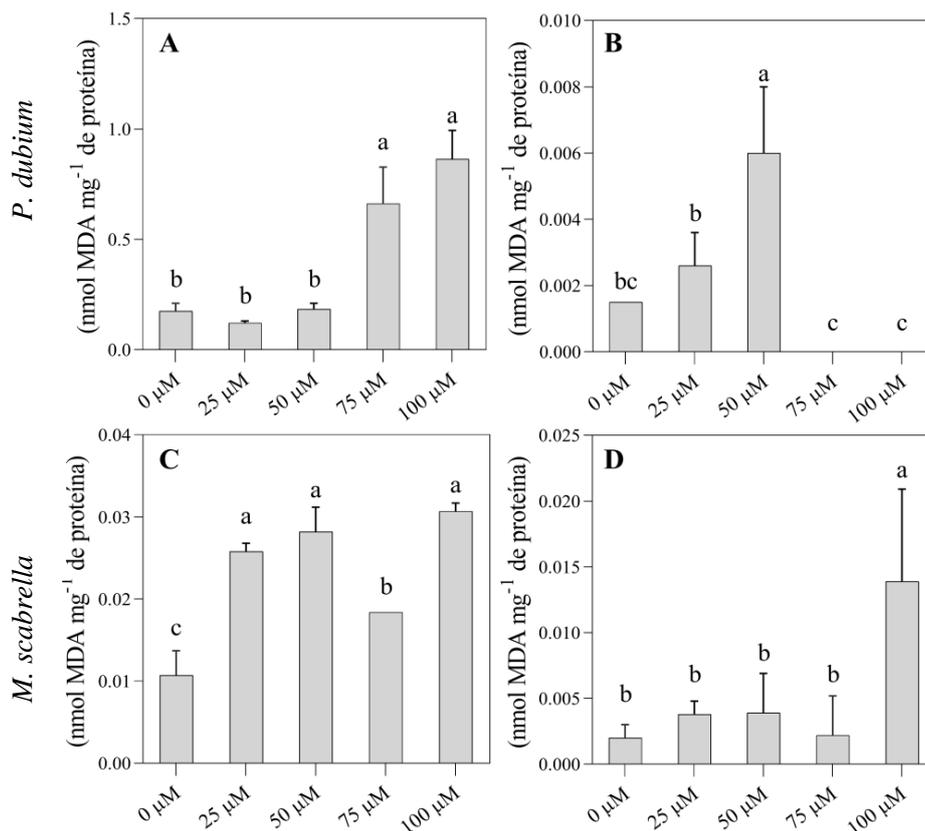
*Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos, dentro de cada espécie, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. As barras representam média \pm desvio padrão.

Fonte: A autora (2020).

A peroxidação lipídica na parte aérea de *P. dubium* aumentou de forma significativa a partir de 75 μM (Figura 5A). Já em suas raízes, a máxima concentração de malondialdeído (MDA), um dos produtos da peroxidação lipídica, foi observada em 50 μM de Cd, comparado com o controle. Por outro lado, nas concentrações 75 e 100 μM este teor chegou a zero (Figura 5B).

Na parte aérea de *M. scabrella* a peroxidação lipídica já foi acentuada a partir de 25 μM , diferindo do controle em todas as concentrações de Cd. Nas raízes dessa espécie foi observado um aumento significativo na peroxidação lipídica somente na concentração de 100 μM de Cd, em relação ao controle.

Figura 5 - Peroxidação de lipídios de membrana na parte aérea (A) e raízes (B) de mudas de *P. dubium* e em parte aérea (C) e raízes (D) de mudas de *M. scabrella* expostas por 14 dias a diferentes concentrações de Cd em cultivo hidropônico.



*Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos, dentro de cada espécie, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. As barras representam média \pm desvio padrão.

Fonte: A autora (2020).

DISCUSSÃO

A exposição ao cádmio (Cd) causou efeitos negativos na produção de biomassa total de *P. dubium* a partir de 75 μM , enquanto que para *M. scabrella* não foram observados efeitos negativos sobre a produção de biomassa total das plantas (Figura 1). O Cd pode causar este decréscimo no crescimento e produção de biomassa da planta, devido aos efeitos variados nas membranas, afetando a absorção de água e nutrientes, além de inibir a divisão celular dos meristemas (GUO et al., 2017; DAS; SAMANTARAY; ROUT, 1997). Sendo o processo responsável pela produção de biomassa, a fotossíntese também é afetada pelo Cd, uma vez que este metal pode inibir a cadeia de transporte de elétrons do cloroplasto ou causar sua má formação nos cloroplastos, inibir de enzimas do Ciclo de Calvin ou reduzir da concentração de pigmentos (AGUIAR et al., 2011; GUIMARÃES et al., 2008).

Em *P. dubium* ocorreu redução também no conteúdo de clorofila *a* somente em 75 μM , sendo o teor de clorofila *b*, clorofilas totais e carotenoides afetados a partir de 25 μM (Figura 2). Esse efeito negativo do Cd sobre as clorofilas pode ser devido ao fato que o Cd tem influência direta em enzimas relacionadas à biossíntese de clorofilas e na estrutura das clorofilas (QIAN et al., 2009; GUIMARÃES et al., 2008). Este decréscimo no conteúdo de clorofilas pode estar relacionado com a taxa fotossintética das plantas, o que também está interligada com o decréscimo na produção de biomassa (visto em *P. dubium*). Gomes (2012) também observou decréscimo no teor de clorofilas e aumento da atividade de peroxidases em seu estudo com espécies arbóreas em exposição a alta concentração de Cd em solução nutritiva.

O conteúdo dos pigmentos fotossintéticos em *M. scabrella* não foi afetado pelo acréscimo de Cd na solução nutritiva (Figura 2), supondo que o Cd não afetou diretamente os fotossistemas e a síntese destas moléculas nesta espécie, ou que não houve maior translocação deste elemento para a parte aérea. Esse resultado sugere uma maior tolerância dessa espécie ao Cd.

O conteúdo de carotenóides não diferiu entre as concentrações de Cd em *M. scabrella* e teve um aumento na concentração 100 μM em *P. dubium* em relação às demais concentrações, se igualando ao controle (Figura 2). Esse resultado, provavelmente, se deve ao fato que estes pigmentos geralmente são menos afetados que as clorofilas pelos metais pesados (PRASAD, 1995). Os carotenóides além de funcionarem como pigmentos antena para absorção de luz, também atuam como pigmentos fotoprotetores do sistema fotossintético. Eles protegem as clorofilas, evitando a formação de oxigênio singleto (uma espécie reativa de

oxigênio (ERO)), e também são antioxidantes não enzimáticos, devido a capacidade de supressão de ERO e de radicais livres (CARDOSO, 1997). O aumento do seu teor é provavelmente um mecanismo estratégico para combater o efeito tóxico do estresse oxidativo gerado sob estresse por Cd. Em mudas de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh, tratadas com crescentes concentrações de Cd em solução nutritiva, foram observados resultados similares, com redução de clorofilas totais e aumento de carotenoides (MARQUES et al., 2011).

O conteúdo de H_2O_2 não foi significativo com o aumento de Cd na parte aérea de *P. dubium*, comparado com o controle (Figura 3A). Estes resultados de conteúdo de H_2O_2 podem estar relacionados com a atividade da enzima guaiacol peroxidase (POD) (Figura 4A), a qual foi ativada a partir da concentração de 50 μM de Cd na parte aérea dessas plantas. Isso porque os danos causados pelo estresse oxidativo podem ser minimizados pela indução da atividade de enzimas antioxidantes como a POD, SOD, CAT, entre outras, a fim de degradar ou transformar estas moléculas em formas menos reativas (BLOKHINA; VIROLAINEN; FAGERSTEDT, 2002). A enzima POD catalisa a redução do H_2O_2 em H_2O , contornando assim os seus danos (KAWANO, 2003; GOLDBERG et al., 1986). Neste trabalho, a relação entre o aumento da atividade da POD e a redução do conteúdo de H_2O_2 foi observada principalmente em *P. dubium*. Nas raízes das plantas de *M. scabrella*, esse comportamento também foi observado, uma vez que o aumento na atividade da POD evitou o acúmulo em excesso do H_2O_2 (Figura 3D, 4D). No entanto, para a parte aérea dessa espécie, o aumento na atividade da POD em 100 μM de Cd não foi suficiente para evitar uma maior produção de H_2O_2 nesta concentração de Cd (Figura 3C, 4C).

As ERO incluem tanto os radicais livres (radical superóxido e hidroxila) quanto moléculas como peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio singlete (1O_2) (BLOKHINA; VIROLAINEN; FAGERSTEDT, 2002). Essas são produzidas pelas plantas em condições normais de crescimento, no entanto em condições de estresse, neste caso pela fitotoxidez por metais pesados em concentrações crescentes, seu conteúdo pode aumentar (DAVEY et al., 2005; MOBIN; KHAN, 2007). O H_2O_2 é um composto estável e uma importante molécula sinalizadora para a planta, mas o aumento do conteúdo resulta em estresse oxidativo, o que desencadeia a peroxidação lipídica, relacionada com o aumento de MDA (GILL; TUTEJA, 2011; SMIRNOFF, 1993). O que lhe confere a característica de indutor de dano oxidativo é o fato do H_2O_2 participar das reações de produção (de Fenton ou de Haber-Weiss) do radical livre OH^\bullet (hidroxila). Este é considerado a ERO mais danosa e reativa para as células pois pode alterar qualquer estrutura celular que se encontre próxima, sendo o principal iniciador do

processo de peroxidação lipídica, causando mutações no DNA e RNA e provocando danos em proteínas (BARBOSA et al., 2010; COTINGUIBA et al., 2013; BARBOSA et al., 2014.)

Apesar do Cd, em geral, se acumular em maiores concentrações nas raízes, a peroxidação lipídica de membranas foi maior na parte aérea do que na raiz das duas espécies (Figura 5), fato que também ocorreu para outras espécies como *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh e *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen (MARQUES et al., 2011; PEREIRA et al., 2018). A peroxidação lipídica é um processo metabólico natural sob condições aeróbicas (BLOKHINA; VIROLAINEN; FAGERSTEDT, 2002). Essa causa fluidez nas membranas, modificando sua permeabilidade aos íons (QUEIROZ et al., 1998). Este dano à membrana pode estar relacionado com as ERO H_2O_2 , radical hidroxila e ânion superóxido. Uma maneira de amenizá-lo é através da ativação de enzimas antioxidantes, como a POD, a superóxido dismutase e a catalase (PRASAD, 1995).

Como vimos, neste estudo há uma relação entre a ativação da enzima POD com o conteúdo de H_2O_2 , pois na maioria das concentrações o Cd não afetou a sua atividade, sendo até maior nas concentrações mais altas de Cd. No entanto, nestas mesmas concentrações, em alguns momentos esse aumento de POD não foi suficiente para a redução de H_2O_2 . Pode-se dizer que a atividade da POD, apesar de reduzir os níveis de H_2O_2 , não conseguiu evitar a peroxidação de lipídeos, indicada neste estudo pela concentração de MDA. No entanto, para a espécie *M. scabrella*, o dano em lipídios de membrana não ocasionou redução na produção de biomassa total das plantas (Figura 1), enquanto para *P. dubium*, a maior peroxidação lipídica afetou de forma negativa e mais intensa as plantas, ocasionando redução na produção de biomassa.

CONCLUSÃO

O Cd causou estresse oxidativo em mudas de *P. dubium* mesmo nas baixas concentrações, tendo como efeito a redução dos teores de massa seca total e pigmentos, e aumento da peroxidação lipídica. Por outro lado, a peroxidação lipídica não ocasionou danos à produção de biomassa e pigmentos das plantas de *M. scabrella*, diferentemente do evidenciado para *P. dubium*. Isto sugere que *M. scabrella* se mostrou mais tolerante ao estresse oxidativo causado por este metal.

REFERÊNCIAS

- ABHILASH, P.C., POWELL, J.R., SINGH, H.B., SINGH, B.K. Plant-microbe interactions: novel applications for exploitation in multipurpose remediation technologies. **Trends in Biotechnology**, v. 30, n. 8, p. 416 – 420, 2012.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). **Toxicological profile for cadmium**. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Services, 2012. Disponível em: <<https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=48&tid=15>>. Acesso em: 10 jan. 2020.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). **Substance Priority List**, 2015. Disponível em: <https://www.atsdr.cdc.gov/spl/resources/2015_atsdr_substance_priority_list.html>. Acesso em: 10 jan. 2020.
- ALMEIDA, A. A. F.; VALLE, R. R.; MIELKE, M. S.; GOMES, F. P. Tolerance and prospection of phytoremediator woody species of Cd, Pb, Cu and Cr. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 19, n. 2, p. 83-98, 2007.
- BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.
- BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n.3, p. 453-460, 2014.
- BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K. V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. **Annals of Botany**, Oxford, v. 91, p. 179-194, 2002.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantity of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochem.**, v. 72, p. 248-254, 1976.
- CAIRES, S. M.; FONTES, M. P. F.; FERNANDES, R. B. A.; NEVES, J. C. L.; FONTES, R. L. F. Desenvolvimento de mudas de cedro-rosa em solo contaminado com cobre: tolerância e potencial para fins de fitoestabilização do solo. **Revista Árvore**, Viçosa, v.35, n.6, p.1181-1188, 2011.
- CARDOSO, S. L. Fotofísica de carotenóides e o papel antioxidante de β -caroteno. **Química nova**, v. 20, n.5, 1997.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas. Embrapa Florestas, v. 1, 2003.
- COBBETT, C.; GOLDSBROUGH, P. Phytochelatins and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 53, p.159 - 182, 2002.

COTINGUIBA, G.G.; SILVA, J. R. N.; AZEVEDO, R. R. S.; ROCHAB, T. J. M.; SANTOS, A. F. Método de Avaliação da Defesa Antioxidante: Uma Revisão de Literatura. **Cient. Ciênc. Biol. Saúde**, v. 15, n. 3, p.231-237, 2013.

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

DAVEY, M.W.; STALS, E.; PANIS, B.; KEULEMANS, J.; SWENNEN, R. L. High-throughput determination of malondialdehyde in plant tissues. **Analytical Biochemistry**, v. 347, n.2, p. 201–207, 2005.

EKMEKÇI, Y.; TANYOLAÇ, D.; AYHAN, B. Effect of cadmium on antioxidant enzyme and photosynthetic activities of leaves of two maize cultivars. **Journal of Plant Physiology**, v. 165, n. 6, p. 600-611, 2008.

EL-MOSHATY, F. I. B.; PIKE, S. M.; NOVACKY, A. J.; SEHGAL, O. P. Lipid peroxidation and superoxide productions in cowpea (*Vigna unguiculata*) leaves infected with tobacco rings virus or southern bean mosaic virus. **Journal Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.43, n.15, p.109- 119, 1993.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**. vol. 38, n. 2, p. 109-112, 2014.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Cadmium stress tolerance in crop plants: probing the role of sulfur. **Plant Signaling e Behavior**, v. 6, p. 215-222, 2011.

GOLDBERG, R.; IMBERTY, A.; LIBERMAN, M.; PRAT, R. Relationship between peroxidatic activities and cell plasticity. In: Greepin H, Penel C, Gasper JT, editors. **Molecular and Physiological Aspects of Plant Peroxidases**. Switzerland: University of Geneva, p.209-220, 1986.

GOMES, L. M. C. **Respostas fisiológicas, bioquímicas e moleculares de plantas jovens de espécies lenhosas tropicais expostas ao cádmio**. 2012. 112 p. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular), Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, Bahia, 2012.

GONÇALVES, P. J. R. O; VIEIRA, L. C.; NOGUEIRA, A. V; CORSEUIL, H. X.; MEZZARI, M.P. Tolerance of tree reforestation species (*Schizolobium parahyba*, *Mimosa scabrella* and *Enterolobium contortisiliquum*) to Gasoline and Diesel Phytotoxicity Assays. **Journal of Bioremediation & Biodegradation**, S7:004, p. 1-8, 2012.

GUO, H.; CHEN, H.; HONG, C.; JIANG, D.; ZHENG, B. Exogenous malic acid alleviates cadmium toxicity in *Miscanthus sacchariflorus* through enhancing photosynthetic capacity and restraining ROS accumulation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 141, p. 119-128, 2017.

GUIMARÃES, M. A.; SANTANA, T. A.; SILVA, E. V.; ZENZEN, I. L.; LOUREIRO, M. E. Toxicidade e tolerância ao cádmio em plantas. **Revista Trópica– Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadina, v. 1, n. 3, p. 58-68, 2008.

GRATÃO, P. L.; PRASAD, M. N. V.; CARDOSO, P. F.; LEA, P. J.; AZEVEDO, R. A. Phytoremediation: green technology for the clean up of toxic metals in the environment. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v.17, n.1, p.53-64, 2005.

HISCOX, J.D.; ISRAELSTAM, G.F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Can. Journal of Botany**, v.57, n.4, p.1132-1334, 1979.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants without soils**. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, 347p., 1950.

KAWANO, T. Roles of the reactive oxygen species-generating peroxidase reactions in plant defense and growth induction. **Plant Cell Reports**, v.21, n.9, p.829-837, 2003.

LICHTENTHALER, H.K. Chlorophylls and carotenoids pigments of photosynthetic Bio membranes. **Methods in Enzymology**, v.148, n.10, p.350-382, 1987.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**, Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 1992.

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, n.9, p.1781-1787, 2001.

MARQUES, T. C. L. L. S. M.; SOARES, A. M.; GOMES, M. P.; MARTINS, G. Respostas fisiológicas e anatômicas de plantas jovens de eucalipto expostas ao cádmio. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 35, n.5, p. 997- 1006, 2011.

MOBIN, M.; KHAN, N. A. Photosynthetic activity, pigment composition and antioxidative response of two mustard (*Brassica juncea*) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. **Journal of Plant Physiology**, v. 164, n.5, p. 601-610, 2007.

MILNER, M. J.; KOCHIAN, L. V. Investigating heavy-metal hyperaccumulation using *Thlaspi caerulescens* as a model system. **Annals of Botany**, v. 102, n.1, p. 3- 13, 2008.

PEREIRA, A. S.; DORNELES, A. O. S.; BERNARDY, K.; SASSO, V. M.; BERNARDY, D.; POSSEBOM, G.; ROSSATO, L. V.; DRESSLER, V. L.; TABALDI, L. A. Selenium and silicon reduce cadmium uptake and mitigate cadmium toxicity in *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen plants by activation antioxidant enzyme system. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 19, p. 18548 -18558, 2018.

PRASAD, M. N. V. Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants. **Environmental and Experimental Botany**, v.35, n.4, p.525-545, 1995.

QIAN, H.; LI, J.; SUN, L.; CHEN, W.; SHENG, G. D.; LIU, W.; FU, Z. Combined effect of copper and cadmium on *Chlorella vulgaris* growth and photosynthesis related gene transcription. **Aquatic Toxicology**, v.94, n.1, p.56– 61, 2009.

QUEIROZ, C. G. S.; ALONSO, A.; MARES-GUIA, M. L.; MAGALHÃES, A. C. Chilling-induced changes in membrane fluidity and antioxidant enzyme activities in roots of (*Coffea arabica* L.) seedlings. **Biologia Plantarum**, v. 41, p. 403-413, 1998.

SANTOS, A. S. **Cultivo de espécies vegetais com água do rio doce contaminada com rejeito de mineração**. 2016. 25 p. Monografia (Especialização em Meio Ambiente) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais, Campus São João Evangelista, 2016.

SHAH, K. KUMAR, R. G. VERMA, S. DUBEY, R. S. Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. **Plant Science**, v.161, n.6, p.1135-1144, 2001.

SILVA, R. F.; ANTONIOLLI, Z. I.; LUPATINI, M.; TRINDADE, L. L.; SILVA, A. S. Tolerância de mudas de canafístula (*Peltophorum dubium* (SPRENG.) TAUB.) inoculadas com *Pisolithus microcarpus* a solo com excesso de cobre. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 20, n. 1, p. 147-156, 2010.

SILVA, R. F.; LUPATINI, M.; ANTONIOLLI, Z. I.; LEAL, L. T.; MORO JUNIOR, C. A. 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.

SILVA, E. P.; ARMAS, R. D.; FERREIRA, P. A. A.; DANTAS, M, K, L; GIACHINI, A. J.; NICOLEITE, E. R; GONZÁLEZ, A. H.; SOARES, C. R. F. S. Soil attributes in coal mining areas under recovery with bracatinga (*Mimosa scabrella*). **Letters in Applied Microbiology**, v. 68, n. 6, p. 497-504, 2019.

SMIRNOFF, N. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. **New Phytologist**, Oxford, v. 125, n. 1, p. 27-58, Sept. 1993.

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

STORCK, L.; GARCIA, D. C.; LOPES, S. J.; ESTEFANEL, V. **Experimentação vegetal**. 3. ed. Santa Maria, RS: Editora da UFSM. 2016. 198p.

ZERAIK, A. E.; SOUZA, F.S .; FATIBELLO-FILHO, O. Desenvolvimento de um spottest para o monitoramento da atividade da peroxidase em um procedimento de purificação. **Química Nova**, v.31, n.3, p.731-734, 2008.

ZHU, Z.; WEI, G.; LI, J.; QIAN, Q.; YU, J. Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Plant Science**, v.167, n. 3, p.527-533, 2004.

ZHANG, H.; REYNOLDS, M. Cadmium exposure in living organisms: A short review. **Science of the Total Environment**, v. 678, p. 761-767, 2019.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo esclareceu o efeito do cádmio (Cd) em duas importantes espécies florestais. Os resultados dos efeitos do Cd no crescimento, na fotossíntese e no estresse oxidativo destas duas espécies apresentados em capítulos separados, corroboram entre si. Foi possível perceber que apesar de *P. dubium* apresentar mais rusticidade e raízes maiores, esta espécie se mostrou mais sensível ao Cd em comparação a *M. scabrella*.

P. dubium teve suas variáveis fotossintéticas afetadas negativamente, assim como a morfologia do sistema radicular, incremento em crescimento e biomassa e teor de pigmentos reduzidos, bem como o aumento da peroxidação lipídica mesmo em baixas concentrações de Cd. Por outro lado, *M. scabrella* teve estas mesmas variáveis afetadas somente a partir de 75 μM ou algumas nem foram afetadas negativamente pelo Cd. Além de apontar distinções quanto a tolerância destas espécies, este estudo contribui para entender o comportamento das espécies arbóreas nativas, ainda pouco estudadas, na presença do Cd.

Solos agrícolas precisam ser recuperados rapidamente, o que torna-se um desafio para a fitorremediação. A escolha de espécies de crescimento rápido, como estas, se dá justamente devido a necessidade de recuperação acelerada e cobertura do solo (COUTINHO; BARBOSA, 2007). Existem muitos solos inutilizáveis para uso agrônômico, onde é difícil o manejo de espécies até mesmo acumuladoras de metais. Estes locais, por exemplo, são solos agrícolas com excesso de aplicação de herbicidas e fertilizantes (o que torna inviável a produção), áreas atingidas pela contaminação com petróleo, áreas onde ocorreram desastres ambientais e necessitam de recuperação após o impacto ambiental, áreas de minérios e lixões.

O que limita a utilização de plantas herbáceas nesse locais contaminados seria a contaminação secundária após a o fim do ciclo destas. Como muitos metais, como o Cd, tendem a se acumular nas raízes e tronco das espécies arbóreas e arbustivas, a contaminação poderia ser menor. Portanto o estudo da utilização de espécies arbóreas em conjunto com outras espécies ciclo curto seriam interessantes, devido a recuperação ser lenta e necessitar de mais um ciclo de cultivo.

No caso de plantas fitoextratoras de metais é necessário a colheita destas. O interesse na utilização dos subprodutos, caso os indivíduos cresçam e fiquem robustos, não poderiam se aplicar a utilização para fins alimentares como frutos, folhas ou pólen devido a contaminação aos animais e ao homem (ANDRADE; TAVARES; MAHLER, 2007)). Possíveis alternativas seriam a redução do volume biomassa por processos térmicos, físicos, químicos e microbianos e a queima da biomassa que poderia gerar energia e extração de metais das

cinzas (LAMEGO; VIDAL, 2007) Outra sugestão seria o uso da madeira para produção de móveis, mas estudos deveriam ser previamente elaborados a fim de comprovar a eficácia.

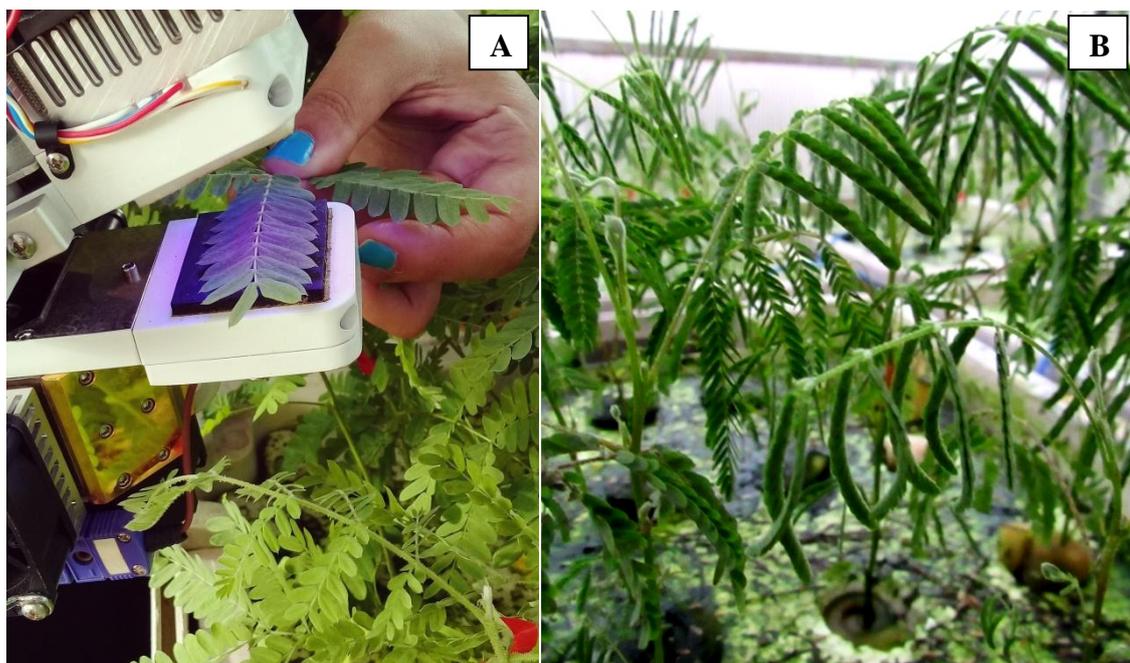
Estudos envolvendo experimentos hidropônicos de curto prazo como este se tornam interessantes em vista da possibilidade de uma análise mais rápida quanto à toxicidade do metal, pré-avaliando o potencial destas espécies para uso na fitorremediação (GONÇALVES et al., 2012). Neste estudo se considerou os efeitos do Cd separadamente para as espécies em questão, mas para comprovar-se a eficácia de utilização destas espécies, seriam necessárias pesquisas de aplicabilidade destas em área contaminada, visto que seriam avaliados não somente os efeitos do Cd na espécie, mas uma série de intempéries como interação com outros metais pesados e poluentes orgânicos no solo, a estrutura do solo, a falta de cobertura vegetal, a luminosidade e irrigação, por exemplo. Estes fatores poderiam interferir nos processos de remediação pelo fato de alterar a biodisponibilidade e solubilidade do Cd. Portanto é necessário que outros estudos sejam realizados, com testes em solo e por um período de tempo mais prolongado, assim como o consórcio com outras espécies e até com outras técnicas de biorremediação. Em relação as estratégias de tolerância utilizadas por estas espécies, são necessários melhores entendimentos quanto aos teores de Cd absorvidos e acumulados por elas, bem como ao comportamento de translocação deste metal entre os órgãos das espécies. Portanto, análises futuras de determinação da concentração de cádmio nos tecidos e análises anatômicas da parte aérea e raízes destas espécies serão realizadas futuramente.

Os resultados obtidos neste estudo contribuem para a realização de pesquisas futuras e escolha de espécies adequadas para o plantio em locais contaminados por metais pesados.

APÊNDICE



APÊNDICE A- Plantas de *Peltophorum dubium* (A) e *Mimosa scabrella* (B) durante o período de aclimação no sistema hidropônico em aeração constante.



APÊNDICE B- Procedimento de avaliação da fotossíntese em *P. dubium* (A); Mecanismo foliar de *M. scabrella* que impossibilitou a determinação das variáveis fotossintéticas.



APÊNDICE C- Mudas de *Peltophorum dubium* (A) e de *Mimosa scabrella* (B e C) após 14 dias de exposição a diferentes concentrações de Cd em solução nutritiva.