

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

KELLY NERY BIGHI

**FITORREMEDIAÇÃO INDUZIDA DE CHUMBO COM FEIJÃO-
DE-PORCO (*Canavalia ensiformis* (L.) D.C.)**

ALEGRE
ESPÍRITO SANTO
2016

KELLY NERY BIGHI

**FITORREMEDIÇÃO INDUZIDA DE CHUMBO COM FEIJÃO-
DE-PORCO (*Canavalia ensiformis* (L.) D.C.)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal, na área de Solos e Nutrição de Plantas. Orientador: Prof. D.Sc. Diego Lang Burak.

ALEGRE
ESPÍRITO SANTO
2016

KELLY NERY BIGHI

**FITORREMEDIÇÃO INDUZIDA DE CHUMBO COM FEIJÃO-
DE-PORCO (*Canavalia ensiformis* (L.) D.C.)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal na área de concentração Solos e Nutrição de Plantas.

Aprovada em 30 de maio de 2016

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Sc. Diego Lang Burak
Centro de Ciências Agrárias e Engenharias - UFES
Orientador

Prof. Dr. Sc. Otacílio José Passos Rangel
Instituto Federal do Espírito Santo– IFES (Campus de Alegre)

Prof. Dr. Sc. Felipe Vaz Andrade
Centro de Ciências Agrárias e Engenharias - UFES

Prof. Dr. Sc. Renato Ribeiro Passos
Centro de Ciências Agrárias e Engenharias - UFES

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

B592 Bighi, Kelly Nery, 1990-
Fitorremediação induzida de chumbo com feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* (L.) D.C.) / Kelly Nery Bighi. – 2016.
75 f. : il.

Orientador: Diego Lang Burak.
Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias.

1. Feijão-de-porco. 2. Chumbo. 3. Ácido etilenodiaminotetraacético. 4. Giberelina. 5. Fitorremediação. I. Burak, Diego Lang. II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 63

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre olhar por mim, projetando seus planos em seu momento, permitindo que eu entendesse seus propósitos e trilhasse seu caminho;

A minha mãe, pelo apoio, mesmo sem entender o que eu estava fazendo, nunca mediu esforços para me ajudar ou tornar meu dia mais agradável e afável;

A minha irmã, Kamila, e meu padrasto, Pedro Alexandre, por estarem sempre ao meu lado, torcendo por mim e me incentivando;

Ao meu orientador, Diego Lang Burak, pela compreensão e bom humor ao lidar com os imprevistos ocorridos. Pela confiança, amizade e orientação ao longo desses anos, seu apoio foi essencial;

Aos profs. Felipe Vaz Andrade, Renato Ribeiro Passos e Eduardo de Sá Mendonça, que estiveram ao meu lado me auxiliando e proporcionando todo apoio necessário. Sou muito grata por terem feito parte dessa trajetória;

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo financiamento da bolsa;

A Universidade Federal do Espírito Santo, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, pela oportunidade concedida;

Ao Weslen Canzian, pelo carinho e companheirismo, por estar ao meu lado durante todo esse período e fazer os meus dias mais alegres;

Aos amigos do laboratório de rotina, pessoas maravilhosas que tive a graça de conhecer e que nunca deixam um dia passar sem um sorriso e uma brincadeira, a nossa grande família. Em especial a Camila, pela ajuda, paciência, carinho e grande amor dedicado;

Aos amigos da pós-graduação que direta ou indiretamente me ajudaram nessa trajetória, principalmente ao Abel, Eduardo, Marjorie, Paula, Cristiano, Ariany e Lucas, pela amizade e Ramires, Fabiano, Amanda, Lais, Victor, José e Carlos pelo auxílio ao longo do experimento.

RESUMO GERAL

BIGHI, Kelly Nery. Universidade Federal do Espírito Santo. Maio de 2016. **Fitorremediação induzida de chumbo com feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* (L.) D.C.)**. Orientador: Dr. Sc. Diego Lang Burak.

Objetivou-se com este trabalho, analisar o potencial do feijão-de-porco em extrair chumbo em um solo artificialmente contaminado e verificar se a aplicação de EDTA e giberelina induz a uma maior fitoextração, bem como analisar a influência do chumbo em alguns parâmetros morfológicos e fisiológicos da planta. O primeiro experimento foi um fatorial completo com seis doses de chumbo (0; 200; 400; 600; 800 e 1000 mg kg⁻¹), aplicadas no solo, associadas a seis doses de EDTA (0; 180; 360; 540; 720 e 890 mg kg⁻¹). O feijão-de-porco permaneceu cultivado em casa de vegetação, durante 60 dias, após esse período, pôde-se observar o seu elevado potencial em absorver o chumbo presente no solo, porém acumulando-o em seu sistema radicular. A aplicação do EDTA aumenta o transporte de Pb para a parte aérea da planta, aumentando assim a eficácia na fitorremediação. A dose de 600 mg kg⁻¹ de chumbo associada 890 mg kg⁻¹ de EDTA permitiu a melhor relação parte aérea/total do Pb absorvido. O segundo experimento consistiu na aplicação de uma única dose de chumbo no solos, 1200 mg kg⁻¹, no qual o feijão-de-porco foi cultivado sob três concentrações de giberelina (50; 100 e 150 mg L⁻¹) associada a ausência ou presença de 890 mg kg⁻¹ de EDTA, a planta foi cultivada em casa de vegetação durante 60 dias. A aplicação somente da giberelina na planta proporcionou resultados inferiores estatisticamente à aplicação conjunta do EDTA e o GA₃, de modo que a interação entre a aplicação dos produtos permitiu uma maior absorção de chumbo, principalmente na dose de 50 mg L⁻¹ de giberelina, que se mostrou estatisticamente superior às demais doses, quanto a absorção de Pb e seu transporte para a parte aérea.

Palavras-Chave: Feijão-de-porco, chumbo, EDTA, giberelina, fitorremediação.

GENERAL ABSTRACT

BIGHI, Kelly Nery. Universidade Federal do Espírito Santo. May, 2016. **Phytoremediation induced lead with *Canavalia ensiformis* (*Canavalia ensiformis* (L.) D.C.)**. Advisor: Dr. Sc. Diego Lang Burak.

This work aimed to analyze the jack beans potential to extract lead from artificially contaminated soil and check the application of EDTA and gibberellin induces greater phytoextraction and analyze the influence of lead in some morphological parameters and physiological plant. The first experiment was a factor of six lead levels (0; 200; 400; 600; 800 and 1000 mg kg⁻¹), applied to the soil, combined with six doses of EDTA (0; 180; 360; 540; 720 and 890 mg kg⁻¹). The jack beans remained cultivated in a greenhouse for 60 days after that period, it can be observed that the species has a high potential to absorb lead in the soil, but tends to accumulate it in their root system. The application of EDTA increases Pb transport to the aerial part of the plant, thereby increasing efficiency in phytoremediation. The dose of 600 mg kg⁻¹ associated with lead 890 mg kg⁻¹ EDTA allowed the best ratio of air / total Pb absorbed. The second experiment consisted in the application of a single dose of lead in soil, 1200 mg kg⁻¹, which *Canavalia ensiformis* was grown under three concentrations of gibberellin (50; 100 and 150 mg L⁻¹) associated with the absence or presence of 890 mg kg⁻¹ of EDTA, the plant was grown in a greenhouse for 60 days. The only application of gibberellins in the plant gave inferior results statistically to the joint application of EDTA and GA₃, so that the interaction between the application of the products has enabled greater lead absorption, mainly in the dose of 50 mg L⁻¹ of gibberellin, which was statistically superior to other doses, as the absorption of Pb and transport to the shoot.

Keywords: jack beans, EDTA, gibberellin, phytoremediation.

FITORREMEDIAÇÃO INDUZIDA DE CHUMBO COM FEIJÃO-DE-PORCO
(Canavalia ensiformis (L.) D.C.)

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	vi
GENERAL ABSTRACT.....	vii
CAPÍTULO I –	7
Fitorremediação, uma alternativa à redução de chumbo no solo	7
1. INTRODUÇÃO.....	7
2. METAIS PESADOS	8
2.1 Chumbo.....	9
2.1.1 Chumbo no solo	10
2.1.2 Chumbo na planta.....	11
3. FITORREMEDIAÇÃO	12
3.1 Plantas fitorremediadoras	14
3.1.1 Feijão-de-porco (<i>Canavalia ensiformis (L.) D.C.</i>).....	15
3.2 Fitoextração Induzida.....	16
3.2.1 EDTA (Ácido etilenodiaminotetraacético)	17
3.2.2 Giberelina (Ácido giberélico).....	18
4. LITERATURA CITADA	21
CAPÍTULO II.....	28
 Eficiência do feijão-de-porco (<i>Canavalia ensiformis (L.) D.C.</i>) na fitorremediação em diferentes concentrações de Chumbo e EDTA	28
1. INTRODUÇÃO.....	30
2. MATERIAL E MÉTODOS	31
2.1. Índices avaliados	33
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
3.1 Relação Solo-Planta	34
3.2 Planta.....	36

3.3 Balanço Nutricional.....	45
4. CONCLUSÕES	47
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
CAPÍTULO III	52
Influência do ácido giberélico (GA₃) associado ao EDTA na absorção de chumbo pelo feijão-de-porco (<i>Canavalia ensiformis</i> (L.) D.C.)	52
1. INTRODUÇÃO.....	54
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	55
2.1 Montagem do experimento.....	55
2.2. Índices avaliados	57
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
3.1 Solo	58
3.2. Planta.....	59
3.3. Balanço Nutricional.....	65
4. CONCLUSÕES	66
APÊNDICE	71

CAPÍTULO I

Fitorremediação, uma alternativa à redução de chumbo no solo

1. INTRODUÇÃO

A liberação de resíduos industriais na atmosfera, assim como a mineração e o crescente uso de fertilizantes e pesticidas promovem o aumento das concentrações de metais pesados nos solos, que podem ser direcionados para a biosfera com efeitos não perceptíveis, em curto prazo, à exposição humana (ALLOWAY, 2013). Metais pesados podem ser essenciais ao desenvolvimento das plantas e tóxicos em altas concentrações, como é o caso de alguns micronutrientes como cobre, ferro, manganês, molibdênio, cobalto e o zinco, ou mesmo não possuir nenhuma função biológica, como cádmio, cromo, arsênio, chumbo, selênio, mercúrio e prata (ALLOWAY, 1990).

Segundo a Agência para o Registro de Substâncias Tóxicas e Doenças (ATSDR, 2013), vinculada ao governo americano, metais pesados como o As, Hg, Pb e Cd estão entre as 10 substâncias mais tóxicas, sendo o Pb, o segundo lugar dessa lista, necessitando de prioridade no monitoramento ambiental. Considerando a grande contaminação dos cursos d'água por metais pesados, no Brasil praticamente não há rios ou reservatórios de água próximos aos centros urbanos que não estejam contaminados com metais pesados (PASCALICCHIO, 2002).

Muitas plantas possuem, naturalmente, tolerância a metais pesados, absorvendo-os de modo que não as prejudiquem, como é o caso das plantas fitorremediadoras (SOUZA et al, 2011). Neste contexto, a fitorremediação torna-se uma alternativa simples e de baixo custo no processo de retirada de metal pesado do solo, por utilizar plantas que possuam capacidade de extrair tais elementos do solo, estando ou não associada a micro-organismos da rizosfera (PIRES et al., 2003).

Segundo Zacchini et al. (2008), a eficiência da fitorremediação está associada não só à disponibilidade do metal presente na matriz do solo, como também às características da planta fitorremediadora, tais como a capacidade de acumular metais pesados, essencial e não essencial, rápido crescimento e a capacidade para translocar metais absorvidos para a parte aérea. A adição de agente quelante pode potencializar a fitorremediação por permitir que elementos pouco solúveis como alguns metais pesados (Pb, por exemplo) estejam mais disponíveis à absorção, solubilizando, desta forma, o

metal pesado em formas mais disponíveis e amenizando seu efeito tóxico no interior da planta (PEREIRA, 2005).

Segundo Jiang et al. (2003), a fitoextração pode ser conduzida de duas formas principais: a primeira, utilizando espécies de plantas hiperacumuladoras, devido à alta capacidade de acumulação de metais, porém, com baixa produção de biomassa (fitoextração natural); a segunda ocorre pelo uso de plantas de alta produção, que podem absorver quantidade relativamente alta de metais, quando a mobilidade de metais no solo é elevada, devido à aplicação de agentes químicos (fitoextração quimicamente induzida).

Plantas cultivadas em solos contaminados com metais pesados, comumente, apresentam uma reduzida taxa de crescimento e baixa produção de biomassa. Nesse sentido, a absorção do metal pode ser potencializada pela aplicação de reguladores de crescimento que possuam a capacidade de estimular a produção de biomassa pela planta, permitindo que a mesma absorva mais elementos que se encontrem disponíveis na solução do solo como os metais pesados. A aplicação de reguladores de crescimento permite que a planta aumente sua área foliar, conseqüentemente, área fotossintética e área de absorção de nutrientes e água, devido à estimulação da divisão celular (HADI et al., 2010; TAIZ e ZEIGER, 2013).

Dentre as espécies com elevado potencial fitorremediador, o feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*) possui tolerância à presença de metais pesados no solo, além de absorvê-los em grande quantidade sem que a absorção afete drasticamente sua produção de biomassa (PIRES, 2003).

2. METAIS PESADOS

É natural que se encontrem pequenas proporções de metais pesados no solo, uma vez que são componentes da estrutura dos minerais, que por meio de seu intemperismo os disponibilizam ao solo. Este processo de transferência de metais pesados ao solo é lento e realizado em baixas concentrações, no entanto, vários são os fatores que podem promover aumento nas concentrações destes elementos no solo como a aplicação excessiva de agroquímicos e fertilizantes, rejeitos industriais e atividades de mineração (SOARES, 2004; ALLOWAY, 2013).

Ramalho et al. (2000), encontraram valores de cádmio, chumbo e manganês acima dos padrões para as amostras de águas retiradas do córrego e de açudes da microbacia de Caetés, RJ, por consequência do uso intensivo de agroquímicos na região. Cotta et al.

(2006), também observaram valores elevados de chumbo, zinco e cobre em sedimentos do rio Betari, no Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (SP), devido à presença de rejeitos de mineração atuante nas proximidades do local e de outras minas abandonadas. Similarmente foram encontradas altas concentrações de metais pesados em sedimentos do parque que refletem a contribuição natural do local e a contribuição industrial das mineradoras, e mesmo naquelas que já foram desativadas, os efeitos ambientais dessa atividade continuam presentes. Uma vez que os principais meios de contaminação por metais pesados estão associados aos rejeitos e efluentes industriais, de mineração e aplicação de agroquímicos, estes efluentes não podem ser tratados em conjunto com o esgoto doméstico, de modo a evitar possíveis contaminações, já que alguns metais pesados são substâncias altamente tóxicas e não compatíveis com a maior parte dos tratamentos biológicos de efluentes (AGUIAR e NOVAES, 2002).

2.1 Chumbo

O chumbo é um dos elementos mais potencialmente ameaçadores à saúde humana, principalmente das crianças, estando em segundo lugar em uma lista de 275 substâncias tóxicas que são consideradas prioritárias para o controle nos Estados Unidos, ficando atrás apenas do arsênio (ATSDR, 2015). Uma das formas de contaminação de cursos de água e solos próximos aos centros urbanos ocorre pela queima de combustíveis que apresentam chumbo em sua composição. Sua presença também é evidente em inseticidas, fertilizantes, baterias, plásticos, cabos metálicos, tintas, dentre outros produtos que o possui devido à sua capacidade de resistir à corrosão e ser um metal resistente (FREITAS et al., 2009; DRUMM et al., 2014).

No entanto, este metal é altamente prejudicial à saúde humana, seu efeito é acumulativo. A ingestão contínua e acúmulo deste elemento no organismo altera a produção de hemoglobina e afeta alguns processos bioquímicos cerebrais, levando a alterações psicológicas e comportamentais. A substituição do Ca^{2+} pelo íons Pb^{2+} , também é um fator de risco, principalmente porque os íons são similares em tamanho e valência ocorre a substituição, ou a absorção aumenta na formação do osso, como é o caso de crianças. Neste caso, o chumbo permanecerá estocado no organismo humano e em caso de enfermidade ou em idade avançada o mesmo se dissolve na corrente sanguínea e pode ocasionar intoxicação (SILVA e FRUCHTENGARTEN, 2005).

2.1.1 Chumbo no solo

A presença de chumbo no solo pode ocorrer de forma natural, devido ao intemperismo de minerais como a galena, anglesita, cerussita, piromorfita e mimetesita, que apresentam o Pb em sua composição (KABATA-PENDIAS e PENDIAS, 2000), ou por ações antrópicas que promovam a deposição do metal nos solos. Dentre essas ações pode-se citar a deposição atmosférica, provinda de atividades industriais (DRUMM et al., 2014), extrações de mineração (ANDRADE et al., 2009), lodo de esgoto (NOGUEIRA et al., 2008), aplicação de inseticidas e fertilizantes em lavouras (ALLOWAY, 2013).

O chumbo apresenta uma baixa mobilidade no perfil do solo, devido à grande capacidade do solo em adsorvê-lo, o que propicia que a maior parte do Pb depositado em sua superfície esteja localizada nas camadas mais superficiais. No entanto, se esta capacidade for ultrapassada, se ocorrer alterações no pH do solo ou se o metal formar compostos organo-metalicossolúveis, o Pb pode ser lixiviado e sofrer percolação ao longo do perfil, atingindo o lençol freático (ABREU, ABREU e ANDRADE, 1998).

O chumbo no solo pode estar adsorvido de formas diferentes, sua adsorção ocorre preferencialmente na forma específica, porém pode variar em função do pH e da natureza da fase sólida (PIERANGELI et al., 2001). Adsorção não específica são formadas a partir de ligações eletrostáticas nos sítios de troca, por íons trocáveis, são reversíveis e mais fracas que a adsorção específica, que se forma quando o Pb é incorporado à fase inorgânica, através de ligações covalentes (McBRIDE, 1994). Variações pequenas de pH podem causar modificações na disponibilidade de chumbo, segundo Smith et al. (1995), citados por Zeitouni (2003), em pH 6 a 8 o chumbo pode formar complexos insolúveis, com elementos presentes do solo ou com a matéria orgânica, já na faixa de pH de 4 a 6 os complexos orgânicos se tornam mais solúveis e mais passíveis a lixiviação.

A caulinita e os óxidos de ferro e alumínio, por exemplo, têm um importante papel na mobilidade e disponibilidade do metal pesado, uma vez que o mesmo fica retido em sua superfície de forma específica ou não específica (AMARAL SOBRINHO et al., 1998). Os solos têm uma grande afinidade por acumular o chumbo externamente inserido, no entanto, a distribuição do mesmo na superfície do solo é correlacionada com a sua fração granulométrica e composição mineralógica (KABATA-PENDIAS E PENDIAS, 2000).

Os óxidos/hidróxidos e substâncias húmicas possuem uma maior capacidade de adsorção do Pb (PIERANGELI et al., 2001), mas, a distribuição do metal pesado no perfil do solo não é algo uniforme, uma vez que o mesmo pode estar associado a hidróxidos, principalmente os de Fe e Mn, assim como a carbonatos de cálcio e fósforo. Dessa forma, o fosfato adicionado a um solo contaminado com Pb faz com que a concentração do metal em sua fração disponível seja ligeiramente reduzida (KABATA-PENDIAS e PENDIAS, 2000).

2.1.2 Chumbo na planta

Embora o chumbo não seja essencial ao desenvolvimento das plantas, ele é facilmente absorvido via apoplasto no sistema radicular na forma bivalente (Pb^{+2}), essa absorção ocorre de acordo com cada espécie e é influenciada pelo pH e capacidade de troca de cátions do solo. A absorção do chumbo, geralmente, ocorre por canais catiônicos no interior das raízes, que levam o metal ao endoderma para ser transportado ao xilema. Entretanto, as raízes têm a capacidade de restringir esse transporte acumulando quantidades elevadas do contaminante em seu interior, devido à atuação do endoderma como uma barreira a este transporte, podendo esta ser a razão do maior acúmulo do metal no sistema radicular das plantas (LANE e MARTIN, 1977).

Nem todas as plantas possuem o mesmo mecanismo de distribuição do metal, o que pode variar com a espécie ou com o ambiente em que as mesmas estão inseridas. Plantas que absorvem metais pesados do solo tendem a acumulá-lo em maiores concentrações em suas raízes, em contrapartida, plantas que estão submetidas à poluição atmosférica têm o acúmulo do metal mais evidenciado em sua parte aérea (MORAES, 2011).

O Pb, quando absorvido, exerce influência negativa no processo de crescimento da planta, uma vez que nem todas possuem mecanismos de tolerância à absorção do mesmo. Para algumas plantas, a presença do metal pesado no solo, mesmo em baixas concentrações, pode acarretar mudanças em sua fisiologia, morfologia e estrutura, influenciando desta forma no crescimento do sistema radicular, na produção de clorofila *a* e *b*, inibição da divisão celular dentre outros parâmetros que podem ser considerados indicadores de fitotoxidez da planta (KABATA-PENDIAS E PENDIAS, 2000; SHARMA e DUBEY, 2005).

O chumbo no interior de uma planta não tolerante pode acarretar mudanças na sua fisiologia, obstruir canais de fluxo de água e nutrientes, o que, conseqüentemente, altera

o balanço hídrico da planta, assim como a sua nutrição, causando uma redução em suas funções fisiológicas, dessa forma as taxas de crescimento e respiração são afetadas, refletindo em clorose, diminuição da área foliar e produção de biomassa. O chumbo no interior das células também pode desorganizar os cloroplastos, inibir a síntese de clorofila e carotenoides (SHARMA e DUBEY, 2005).

Abreu et al. (2013) observaram reduções progressivas nas concentrações de pigmentos em girassóis, à medida que aumentavam as concentrações de chumbo no solo (0; 0,2; 0,4; 0,6 e 8 mM L⁻¹ de PbNO₃), reduzindo as concentrações de clorofila *a*, clorofila *b*, carotenoides e clorofila total, respectivamente, em 43, 50, 36 e 45%. Tal fato pode ser explicado pela interferência do Pb na absorção de elementos indispensáveis para a biossíntese da clorofila, como o ferro e o magnésio. Silva et al. (2013) observaram em girassol que a concentração de 414,4 mg L⁻¹ de Pb acarretou uma redução de 62% no diâmetro do colo, 44% no número total de folhas produzidas e em 57% da área foliar.

No entanto, existem espécies que possuem mecanismos de tolerância a metais pesados e que os acumulam em seu interior sem que prejudique seu desenvolvimento. Souza et al. (2011) observaram, em mucuna-preta que a medida que a concentração de metal pesado no solo era aumentada, ocorria um incremento linear na concentração de chumbo acumulado, tanto na parte aérea quanto no sistema radicular da planta, sem que isso afetasse a síntese de clorofila *a* e *b*, a área foliar e as concentrações de carotenoides.

3. FITORREMEDIAÇÃO

Um dos problemas ambientais mais sérios da atualidade é a poluição química da natureza, proveniente de rejeitos residenciais e industriais (AGUIAR e NOVAES, 2002). Dentre os processos utilizados para retirar ou imobilizar contaminantes presentes no solo, destaca-se a biorremediação, que consiste na utilização de organismos vivos, como microrganismos e plantas para descontaminar solos que apresentem altas concentrações de elementos contaminantes (GAYLARDE et al., 2005). A biorremediação pode ser realizada de duas formas: pela utilização de bactérias e fungos micorrizos no processo de estabilização, estímulo ou aumento da absorção do contaminante pela planta (VAMERALI et al., 2010); ou pela fitorremediação.

A fitorremediação é o processo de tratamento do solo contaminado, no qual se faz uso da vegetação, associada ou não a microrganismos, como agente extrator do metal

pesado do solo, ou qualquer outro contaminante. A planta pode extrair, estabilizar transferir, ou degradar o elemento encontrado no solo, através de subprocessos de fitoextração, fitoestabilização, fitovolatilização e fitodegradação (MA et al., 2011).

A fitoestabilização consiste no uso de plantas capazes de mobilizar o contaminante presente no solo em seu sistema radicular, de modo que a mobilidade do elemento seja reduzida, mesmo que por um curto período de tempo, prevenindo assim a lixiviação e reduzindo a disponibilidade do mesmo. A fitovolatilização é a menos eficiente, uma vez que consiste na utilização de plantas para tornar volátil o elemento químico presente no solo. A fitodegradação ocorre pela degradação do elemento absorvido no interior da planta, através de processos metabólicos do tecido vegetal, ou pela decomposição através de enzimas liberadas externamente pelas plantas. Contudo, a fitoextração é a técnica mais promissora na remoção do contaminante, uma vez que ocorre a absorção do elemento pela planta e posterior translocação para parte aérea, o que permite a retirada do material do ambiente desejado (ALKORTA et al. 2004; NASCIMENTO e XING, 2006; MA et al., 2011).

Segundo a CETESB (2015), uma área pode ser considerada contaminada quando for comprovada contaminação por qualquer substância, em que seus valores estejam acima dos valores limites de concentração, seja causado pela deposição, acúmulo, acidente ou até mesmo por presença natural do elemento, havendo assim a necessidade de prevenir ou intervir na área afetada. Para a CETESB (2015), os valores orientadores para o Pb no solo para o estado de São Paulo, em mg kg^{-1} , referem-se a 72 para ações de prevenção, e 150, 240 e 4400 para os valores de intervenção agrícola, residencial e industrial, respectivamente.

Neste contexto, a fitorremediação vem como uma alternativa eficiente, simples e de baixo custo no processo de retirada de metais pesados, por utilizar organismos vivos como microrganismos e plantas, que tenham a capacidade de extrair tais elementos do solo (PIRES et al., 2003). Dentre as técnicas de extração de metais pesados do solo, como a remoção da camada de solo contaminada e o bombeamento e tratamento da água, a fitorremediação tem sido a mais empregada, porque a revegetação com plantas fitoextratoras mobiliza os contaminantes do solo, pela transferência de metais pesados para a parte aérea da planta, sem que haja grandes investimentos financeiros e requerimento de mão de obra (SANTOS, 2015).

Apesar de ser uma das melhores técnicas para descontaminação dos solos, a fitorremediação apresenta algumas dificuldades, por ser um processo lento, exigindo

que em alguns casos seja indispensável mais de um ciclo da cultura para se obter os resultados esperados. É de suma importância que as espécies usadas para esta finalidade tenham um potencial fitorremediador, portanto, é importante o conhecimento de seu comportamento, bem como as características do solo local e a acessibilidade das raízes da planta ao local contaminado (CARNEIRO et al., 2001; PIRES et al., 2003; ANDRADE et al., 2009).

Quando se pensa em espécies destinadas à produção de alimentos deve-se tomar ainda mais cuidado, porque estes metais podem ser consumidos posteriormente pelos seres humanos, prejudicando sua saúde. Rangel et al. (2006) trabalhando com milho cultivado em solo contaminado com Cu, Mn, Ni, Pb e Zn, observaram acúmulo maior dos metais que foram observados nas folhas, deixando os grãos de milho com valores aceitáveis.

Em muitos casos de fitorremediação, a presença das micorrizas potencializa a absorção da planta. Silva et al. (2006) trabalhando com braquiária em solo contaminado com metal pesado, observaram que a presença das micorrizas diminuiu a toxidez, permitindo que a planta tivesse um maior crescimento e maior extração de metais pesados do solo. Carneiro et al. (2001) trabalhando com braquiária e mostarda observaram valores satisfatórios quando inoculadas micorrizas nas plantas cultivadas em solo contaminado com metais pesados, a presença da inoculação proporcionou maiores acúmulos de Zn, Cd e Pb na planta, em menores proporções na parte aérea.

3.1 Plantas fitorremediadoras

Para que o mecanismo de remediação seja eficiente é importante a escolha de espécies aptas a tolerar e imobilizar os metais pesados presentes no solo, sendo de grande importância uma alta produção de massa seca da parte aérea, onde as maiores concentrações de metais pesados devem ser encontradas. Plantas capazes de fitorremediar contaminantes, como os metais pesados, podem imobilizá-los por meio da absorção direta transferindo-os para seu interior, processo de fitoextração (SCRAMIN et al., 2001; ANDRADE et al., 2009).

Segundo Lasat (2002) plantas fitorremediadoras devem apresentar alta tolerância ao metal, capacidade de absorção e translocação de altas concentrações do metal da raiz para a parte aérea e apresentar alta produção de biomassa. Carneiro et al. (2002) trabalharam com diferentes espécies herbáceas em solo contaminado com zinco e cádmio, em que os autores observaram diferentes comportamentos quanto ao potencial

fitorremediador, encontrando espécies hiperacumuladoras, tolerantes e também espécies bastante sensíveis à presença destes elementos no solo. Marques et al. (2000), no entanto, não conseguiram encontrar, em nenhuma das vinte espécies arbóreas trabalhadas, o potencial de acumuladoras, ratificando a necessidade de se conhecer o potencial fitorremediador das espécies antes de destiná-las a fitorremediação.

Segundo Baker (1981), as plantas que se desenvolvem em ambientes contaminados com metais pesados podem ser classificadas em três categorias: acumuladoras, nas quais a maior concentração do metal é encontrada na parte aérea da planta, independente da concentração do metal no solo; indicadoras, em que são absorvidos altos níveis de contaminante, no entanto o transporte para a parte aérea da planta é regulado; e as exclusoras, em que o contaminante é absorvido em baixas quantidades mesmo sobre uma gama de concentração no solo, até que seja atingido o nível crítico da planta e seu mecanismo interno de regulação se rompa e o transporte seja feito sem restrições.

A importância em conhecer o potencial fitoextrator das espécies se estende também às lenhosas, que apesar de serem menos tolerantes à presença de metais pesados do que as herbáceas, o seu período de retorno ao solo é menor, principalmente, se o contaminante for acumulado no caule. Soares et al. (2001), estudando vinte espécies lenhosas observaram que algumas delas possuem capacidade fitoextratora e de retenção de Zn e Cd no caule.

Após a extração dos metais ter ocorrido, uma grande preocupação é no destino que se dará à planta. Uma das alternativas é a colheita desse material e posterior processamento e queima, em que o peso e o volume do material podem ser reduzidos anteriormente por meio de processos químicos ou físicos. As cinzas podem ser manejadas como um minério e a contaminação metálica extraída, processo que tem mais eficácia, quando se trabalha com um ou dois metais. A queima deste material se torna mais economicamente viável, quando o valor do metal é mais atrativo como o caso do Cu, Zn e Ni.

3.1.1 Feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* (L.) D.C.)

O feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* (L.) DC) é uma leguminosa herbácea, anual e de porte ereto, com um crescimento inicial rápido, que apresenta um ciclo rápido de 170 a 200 dias, levando de 90 a 100 dias para florescer. É uma espécie

bastante rústica a condições climáticas e de fertilidade do solo, além de ser uma espécie que promove uma completa cobertura do solo (RODRIGUES et al., 2004).

Dentre as espécies destinadas à fitorremediação, o feijão-de-porco vem ganhando destaque pela sua grande capacidade de tolerar e acumular metais pesados. Romeiro et al. (2007) trabalhando com *Canavalia ensiformis* cultivada em hidropônia, concluíram que a espécie é hiperacumuladora de chumbo, principalmente no sistema radicular. Almeida et al. (2008) também observaram que o feijão-de-porco possui uma alta capacidade em acumular chumbo sem que este afete seu crescimento até a dose de 1000 mg kg⁻¹, no entanto, os autores observaram que com o aumento das doses de chumbo a raiz da planta foi adquirindo uma coloração escura, atribuída ao fato do metal inibir a divisão e diferenciação celular das raízes.

Melo (2006), também pôde observar que, mesmo em altas concentrações de arsênio, o feijão-de-porco permaneceu crescendo e absorvendo o metal, apesar deste acúmulo ser mais evidente no sistema radicular da planta e a planta apresentar sintomas de toxidez. Além do arsênio e chumbo, há também relatos do feijão-de-porco resistindo e absorvendo cádmio, sem que a germinação fosse afetada, contudo, em concentrações mais elevadas, houve redução no seu crescimento (ROSSI, 2007).

3.2 Fitoextração Induzida

As plantas naturalmente liberam em suas raízes açúcares, ácidos e mucilagem, que modificam o complexo do solo em torno das raízes, alterando o pH e a disponibilidade de nutrientes, liberando por suas raízes agentes quelantes naturais como o ácido cítrico e ácido acético (TAIZ e ZEIGER, 2013). Essas substâncias liberadas permitem uma maior disponibilidade de elementos fortemente retidos no solo para a absorção das plantas, assim como o Pb, no entanto, nem sempre esta pequena quantidade é suficiente para que o processo de fitorremediação tenha o máximo de eficiência. Neste contexto, é necessário que sejam aplicados no solo ou na planta agentes que permitam induzir a fitorremediação.

Atualmente várias pesquisas vêm testando a atuação do EDTA como um complexante de Pb no solo, deixando-o disponível na solução do solo e conseqüentemente mais facilmente absorvido pelas plantas. No entanto, a aplicação de EDTA pode causar uma redução no crescimento da planta, uma vez que a maior absorção, do metal induzida pelo agente quelante, interfere no crescimento da planta e reduz sua produção de massa seca da parte aérea. A combinação do EDTA com a

aplicação da giberelina permite que o crescimento da planta não seja reduzido em consequência do aumento da concentração de metais no solo, principalmente porque este hormônio atua estimulando o alongamento do caule e divisão celular (HADI et al., 2010; TAIZ e ZEIGER, 2013).

3.2.1 EDTA (Ácido etilenodiaminotetraacético)

A forte adsorção do Pb pelos coloides do solo, permite que por muitas vezes o Pb presente no solo não se encontre de forma disponível para as plantas, neste contexto, a presença de agentes quelantes permite que o metal retido na superfície do coloide fique disponível para absorção das plantas, facilitando assim a fitorremediação. Huang et al. (1997) observaram que dentre diversos agentes quelantes testados, o EDTA foi o que apresentou valores mais satisfatórios quanto à disponibilidade do chumbo para as plantas, além de ajudar na translocação do metal para a parte aérea da planta.

O EDTA é um agente quelante orgânico, cuja função no processo de remediação e fitorremediação, consiste na formação de quelatos orgânicos estáveis, formados a partir da ligação com íons polivalentes, estabilizando o Pb em complexos menos tóxicos. Atualmente trabalhos vêm sendo desenvolvidos avaliando a aplicabilidade do EDTA com o chumbo na formação de quelatos, que permitam uma maior absorção do metal pela planta (FIORI et al., 2011).

O chumbo, apesar de não ser um elemento essencial, é facilmente absorvido pelas raízes da planta, via apoplasto e acumulado principalmente nos vacúolos, parede celular, espaços intracelulares, vesículas e retículo endoplasmático, sendo que 96% do chumbo absorvido encontra-se preferencialmente nos vacúolos e na parede celular (WIERZBICKA e ANTOSIEWICZ, 1993). Altas concentrações de chumbo interferem na estrutura da parede celular, danificando-a e permitindo que parte do metal encontrado entre na célula, causando interferência em seu funcionamento e consequentemente redução de suas funções (WIERZBICKA e ANTOSIEWICZ, 1993). A complexação com o EDTA inativa o potencial contaminante do chumbo, por formar um composto estável da ligação quelato-metal, coordenado por dois ou mais pontos de ligação que envolvem e inativam o Pb (SAIFULLAH et al., 2009).

Dentre os agentes quelante sintéticos usados no processo de fitorremediação, o EDTA tem sido o mais estudado por proporcionar resultados satisfatórios na imobilização e transporte de Pb para a parte aérea da planta, uma vez que evita a

adsorção do elemento com a superfície dos colóides do solo ao formar complexos inorgânicos com o metal (MELO et al., 2006; SAIFULLAH et al., 2009). Porém, doses elevadas do quelato podem acarretar na lixiviação do complexo formado, facilitando a translocação no perfil do solo e conseqüentemente a contaminação de águas subterrâneas. O EDTA permanece por um longo período ativo no perfil do solo, podendo permanecer até 15 anos sem ser biodegradado, tal fato potencializa os riscos de lixiviação e contaminação de outras áreas, principalmente se associado a elevadas doses, mas também permite que a inatividade do contaminante se estenda a um maior período (FIORI et al., 2011).

Na busca de outro agente quelante orgânico ou inorgânico que proporcione resultados similares aos obtidos pelo EDTA e que possua uma vida ativa menor, novas pesquisas vêm sendo desenvolvidas no ramo da fitorremediação analisando uma complexação menos duradoura, que permita uma menor manutenção na concentração de metal solúvel no solo. O curto período de ação vem associado, porém, a uma menor eficiência do quelato na imobilização do metal. Alguns quelatos orgânicos, por exemplo, possuem um peso molecular menor que o do EDTA, o que lhes favorece uma rápida degradação no solo e uma associação ao metal mais breve ao contaminante, porém, associado a uma menor eficiência na indução da fitorremediação, considerando que sua ação no solo pode durar apenas alguns dias (FREITAS et al., 2009).

Gabos et al. (2009) observaram que a aplicação de EDTA em solo contaminado com chumbo permitiu ao feijão-de-porco um maior acúmulo de Pb em seu interior, devido à maior disponibilidade do metal para a planta, causada pela aplicação do agente quelante no solo, o que ampliou a absorção e o transporte do metal à planta. Pereira (2005) também verificou que a aplicação do agente quelante potencializava a absorção do chumbo ao feijão-de-porco, aumentando a eficiência de absorção em relação ao tratamento sem EDTA em 27, 29, 100, 415 e 692%, para as doses de 100, 200, 350, 1.200 e 2.400 mg kg⁻¹ de Pb. Zeitouni (2003) também observou um aumento de 290% na absorção do chumbo, quando plantas de pimenta, girassol, mamona e tabaco foram cultivadas em solo contaminado com 12 mg kg⁻¹ de Pb e acrescido de 1 mmol de EDTA.

3.2.2 Giberelina (Ácido giberélico)

Os hormônios vegetais são compostos orgânicos produzidos nas plantas em baixas concentrações, que possuem um importante papel no ciclo do vegetal, podendo

inibir e modificar as respostas das plantas, atuando em seu crescimento e desenvolvimento, influenciando em sua germinação, crescimento vegetativo, florescimento, frutificação, senescência e abscisão. Assim, os reguladores vegetais têm sido preconizados nas diversas etapas de propagação das plantas (CASTRO e VIEIRA, 2001; TAIZ e ZEIGER, 2013). Outras funções importantes atribuídas aos hormônios vegetais são a regulação da intensidade e da orientação do crescimento, da atividade metabólica, do transporte, do estoque e da mobilização de materiais nutritivos (LARCHER, 2006).

Atualmente, oito grupos de substâncias são considerados hormônios vegetais: auxinas, giberelinas, citocininas, etileno, ácido abscísico, brassinoesteroides, jasmonatos e salicilatos (TAIZ e ZEIGER, 2013). Os reguladores vegetais atuam diretamente na estrutura celular da planta, mas, especificamente, na membrana plasmática, onde se localizam os receptores proteicos. Entre as derivadas do giberelano, a GA₁ e GA₃ são as mais encontradas e mais eficientes. As giberelinas são compostos vegetais que têm um esqueleto de gibano e que estimulam a divisão celular ou a alongação celular, ou ambos (PALEG, 1965). É um grupo de hormônios vegetais conhecido por exercer a função de regulador de muitas fases do desenvolvimento de plantas (YAMAGUCHI, 2008). Atualmente são conhecidas mais de 136 giberelinas, sendo que as giberelinas GA₁, GA₃, GA₄, GA₅ e GA₇ apresentam alta atividade biológica, destacando-se que a giberelina bioativa presente em uma determinada espécie é acompanhada por uma dúzia ou mais de giberelinas que são, provavelmente, precursores inativos ou produtos desativados das formas ativas (TAIZ e ZEIGER, 2013).

O ácido giberélico (GA₃) possui um importante papel no ciclo de vida das plantas, influenciando em sua germinação, crescimento e desenvolvimento, alongamento dos entrenós e desenvolvimento de flores e frutos, sendo que sua síntese é realizada em regiões de crescimento, localizando-se em sementes, frutos, ápices de caule e raiz (VIEIRA et al, 2010; TAIZ e ZEIGER, 2013).

Alguns trabalhos vêm utilizando giberelina como estimulador de crescimento para plantas que se encontram em locais com contaminação de metais pesados, para que um maior crescimento venha associado também a um maior acúmulo do metal no tecido vegetal. Hadi et al. (2010) observaram em planta de milho que a aplicação de GA₃ aumentou o acúmulo de chumbo no interior da planta, assim como aumentou a taxa de transpiração, permitindo maior acúmulo de contaminantes e de nutrientes. Os autores

associaram o GA₃ com o EDTA e verificaram maior acúmulo do metal em relação às substâncias isoladas.

4. LITERATURA CITADA

ABREU, C. A.; ABREU, M. F.; ANDRADE, J. C. Distribuição de chumbo no perfil de solo avaliada pelas soluções de DTPA e Mehlich-3. **Bragantia**. Campinas, v. 57 n.1 1998.

ALLOWAY, B.J. **Heavy metals in soils**. New York; Wiley, 339p. 1990.

ALLOWAY, B. J. Heavy metals in soils: Trace metals and metalloids in soils and their bioavailability. **Environmental Pollution** v. 22, 2013.

ALKORTA, I.; HERNÁNDEZ-ALLICA, J.; BECERRIL, J.M.; AMEZAGA, I.; ALBIZU, I.; GARBISU, C. Recent findings on the phytoremediation of soils contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc, cadmium, lead, and arsenic. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* **Kluwer Academic Publishers**. 3: 71–90, 2004.

ALMEIDA, E.L.; MARCOS, F.C.C.; SCHIAVINATO, M.A.; LAGÔA, A.M.M.A.; ABREU, M.F. Crescimento de feijão-de-porco na presença de chumbo. **Bragantia**, Campinas, v.67, n.3, p.569-576, 2008.

AGUIAR, M.R.M.P.; NOVAES, A.C. Remoção de metais pesados de efluentes industriais por aluminossilicatos. **Química Nova**, v. 25, p. 1145-1154, 2002.

AMARAL SOBRINHO, N. M. B.; VELLOSO, A. C. X.; COSTA, L. M.; OLIVEIRA, C. Mobilidade de metais pesados em solo tratado com resíduo siderúrgico ácido. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 22, p. 345-353, 1998.

ANDRADE, C. A. B.; SCAPIM, C. A.; BRACCINI, A. de L.; MARTORELLI, D. T. Produtividade, Crescimento e partição de matéria seca em duas cultivares de feijão. **Acta scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 4, p. 683-688, 2009.

BAKER, A.J..M. Accumulators and excluders strategies in the response of plants to heavy metals. **Plant Nutrition**, 3:643-654, 1981.

CARNEIRO, M.A.C.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S. Comportamento de espécies herbáceas em misturas de solo com diferentes graus de contaminação com metais pesados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 11, p. 1629-1638, nov. 2002.

CARNEIRO, M.A.C.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S. Estabelecimento de plantas herbáceas em solo com contaminação de metais pesados e inoculação de fungos micorrizicosarbusculares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. V. 36, n. 12, p. 1443-1452, 2001.

CASTRO, P. R. C; VIEIRA, E. L. Ação de bioestimulante na germinação de sementes, vigor das plântulas, crescimento radicular e produtividade de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v.23, n.2, p.222-228, 2001.

COTTA, J. A.O.; REZENDE, M.O.O.; PIOVANI, M.R. Avaliação do teor de metais em sedimento do Rio Betari no Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira - Petar, São Paulo, Brasil. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 40-45, 2006.

DRUMM, F. C.; GERHARDT, A. E.; FERNANDES, G. D.; CHAGAS, P.; SUCOLOTTI, M. S.; KEMERICH, P. D. C. Poluição atmosférica proveniente da queima de combustíveis derivados do petróleo em veículos automotores. **REGET**. v. 18, n. 1, p. 66-78, abr. 2014,

FIORI, A.A.; ABREU, M.F.; COSCIONE, A.R.; ANDRADE, C.A.; ABREU, C.A. Degradabilidade dos agentes quelantes EDTA e EDDS após aplicação no solo. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 2, p.424-431, 2011.

FREITAS, E. V. S.; NASCIMENTO, C. W. A.; GOULART, D. F.; SILVA, J. P. S. Disponibilidade de cádmio e chumbo para milho em solo adubado com fertilizantes fosfatados. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**. v.33, p.1899-1907, 2009.

GABOS, M.B.; ABREU, C.A.; COSCIONE, A. R. EDTA assisted phytoremediation of a Pbcontaminated soil: metal leaching and uptake by jack beans. **ScientiaAgrícola**. (USP. Impresso), v. 66, p. 506-514, 2009.

GAYLARDE, C.C.; BELLINOSO, M.L.; MANFIO, G.P. Biorremediação: Aspectos biológicos e técnicos da biorremediação de enobióticos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. n.34 – Janeiro/junho, 2005.

HADI, F.; BANO, A. FULLER, M.P. The improved phytoextraction of lead (Pb) and the growth of maize (*Zea mays* L.): the role of plant growth regulators (GA3 and IAA) and EDTA alone and in combinations. **Chemosphere**, v. 80, p. 457-462, 2010.

HUANG, J. W.; CHEN, J.; BERTI, W. R.; CUNNINGHAM, S.D. Phytoremediation of lead-contaminated soils: role of synthetic chelates in lead phytoextraction. **Environmental Science and Technology**, v. 31, p. 800-805, 1997.

JIANG, X.J.; LUO, Y.M.; ZHAO, Q.G.; BAKER, A.J.M.; CHRSTIE, P.; WONG, M.H. Soil Cd availability to India mustard and environmental risk following EDTA addition to Cd-contaminated soil. **Chemosphere**, Oxford, v. 50, p. 813-818, 2003.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soil and plants**. 4. ed. Boca Raton: CRC press, Florida. 501p. 2010.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soil and plants**. 3. ed. Boca Raton: CRC press, Florida. 331p. 2000.

LANE, S. D.; MARTIN, E. S. A histochemical investigation of lead up take in *Raphanussativus*. **New Phytol.** v.79, p. 281-286, 1977.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima, 2006. p.295-338.

LASAT, M.M. Phytoextraction of toxic metals: A review of biological mechanisms. **Journal of Environmental Quality**, v.31, p.109-120, 2002.

MA, Y. Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. **Biotechnology Advances**, Osford, v. 29, p. 248-258, 2011.

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

MCBRIDE, M. B. **Environmental chemistry of soils**. New York, Oxford University, 1994. 406p.

MELO, E.E.C.; NASCIMENTO, C. W. A; SANTOS, A. C. Q. Solubilidade, fracionamento e fitoextração de metais pesados após aplicação de agentes quelantes. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 30, p.1051-1060, 2006.

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

NOGUEIRA, T. A. R.; FRANCO, A.; HE, Z.; BRAGA, V. S.; FIRME, L. P.; ABREU-JUNIOR, C. H. Short-term usage of sewage sludge as organic fertilizer to sugarcane in a tropical soil bears little threat of heavy metal contamination. *Journal of Environmental Management Annu Rev Plant Physio*, v. 116, p. 291–322, 1965.

PASCALICCHIO, A.E. **Contaminação por metais pesados: Saúde pública e medicina ortomolecular.** São Paulo: Annablume, 2002.

PEREIRA, B.F.F. **Potencial fitorremediador das culturas de feijão-de-porco, girassol e milho cultivadas em latossolo vermelho contaminado com chumbo.** Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical/Gestão de Recursos Agroambientais) - Instituto Agrônômico (IAC). Campinas, 2005.

PIERANGELI, M.A.P.; GUILHERME, L.R.G.; CURTI, N.; SILVA, M.L.N.; OLIVEIRA, L.R.; LIMA, J.M. Concentração total e capacidade máxima de adsorção de chumbo em Latossolos brasileiros. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.25, p.279-288, 2001.

PIRES, F. R.; SOUZA, C.M.; SILVA, A.A.; PROCÓPIO, S.O.; FERREIRA, L.R. Fitorremediação de solos contaminados com herbicidas. *Planta Daninha*, Viçosa-MG, v.21, n.2, p.335-341, 2003.

RAMALHO, J.F.G.P.; AMARAL SOBRINHO, N.M.B.; VELLOSO, A.C.X. Contaminação da microbacia do Caetés com metais pesados pelo uso de agroquímicos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.35, n.7 p.1289-1303, jul. 2000.

RANGEL, O. J. P.; SILVA, C. A.; BETTIOL, W.; DYNIA, J. F. Efeito de aplicações de lodos de esgoto sobre os teores de metais pesados em folhas e grãos de milho. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 30, p. 583-594, 2006.

RODRIGUES, J.E.L.F.; ALVES, R.N.B.; LOPES, O.M.N.; TEXEIRA, R.N.G.; ROSA, E.S. **A Importância do feijão de porco (*Canavalia ensiformis*DC.) como cultura intercalarem rotação com milho e feijão caupi em cultivo de coqueirais no**

Município de Ponta-de-Pedras/Marajó-PA. Comunicado Técnico- Embrapa. Belém - PA. n.96, julho, 2004.

ROMEIRO, S.; LAGÔA, A.M.M.A.; FURLANI, P.R.; ABREU, C.A.; PEREIRA, B.F.F. Absorção de chumbo e potencial de fitorremediação de *Canavalia ensiformes* L. **Bragantia**, Campinas, v.66, n.2, p.327-334, 2007.

ROSSI, S.C. **Fisiologia de leguminosas com potencial fitoextrator para o metal pesado cádmio.** Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Agricultura Tropical e Subtropical, Instituto Agrônomo, Campinas, 2007.

SAIFULLAH; MEERS, E.; QADIR, M.; DE CARITAT, P.; TACK, F.M.G.; DU LAING, G.; ZIA, M.H. EDTA-assisted Pb phytoextraction. **Chemosphere**. 74, p. 1279-1291, 2009.

SANTOS, G.C.G.; RODELLA, A.A. Efeito da adição de fontes de matéria orgânica como amenizantes do efeito tóxico de B, Zn, Cu, Mn e Pb no cultivo de *Brassica juncea*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, p. 793-804, 2007.

SANTOS, N.M.; ACCIOLY, A.M.A.; NASCIMENTO, C.W.A.; SILVA, I.R.; SANTOS, J.A.G. Biodisponibilidade de chumbo por extratores químicos em solo tratado com ácidos húmicos e carvão ativado. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 4, p. 663-668, out-dez, 2015.

SCRAMIN, S.; SKORUPA, L. A.; MELO, I. S. Utilização de plantas na remediação de solos contaminados por herbicidas – levantamento da flora existente em áreas de cultivo de cana-de-açúcar. In: MELO, I. S. et al. **Biodegradação**. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, p. 369-371, 2001.

SHARMA, P.; DUBEY, R.S. Lead toxicity in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 17, p. 35-52, 2005.

SILVA, P.C. C.; JESUS, F.N.; ALVES, A.C.; JESUS, C.A.S.; SANTOS, A.R. Crescimento de plantas de girassol cultivadas em ambiente contaminado por chumbo. **Biosciences Jobs**, Uberlândia, v. 29, n. 1, p. 1576-1586, nov. 2013.

SILVA, C.A.M.; LIGIA FRUCHTENGARTEN, L. **Riscos químicos ambientais à saúde da criança.** *Jornal de Pediatria*, v. 81, n. 5, 2005.

SILVA, S.; SIQUEIRA, J.O. E SOARES, C.R.F.S. Fungos micorrízicos no crescimento e na extração de metais pesados pela braquiária em solo contaminado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 12, p. 1749-1757, 2006.

ZACCHINI, M., PIETRINI, F., SCARASCIA MUGNOZZA, G., IORI, V., PIETROSANTI, L.; MASSACCI, A. Metal tolerance, accumulation and translocation in poplar and willow clones treated with cadmium in hydroponics. **Water, Air, and Soil Pollution**, 197, 23–34.2009.

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

SOARES, M.R. **Coefficiente de distribuição (K_D) de metais pesados em solos do estado de São Paulo**. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiros, Piracicaba, 2004.

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

TAIZ; L; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**.5 ed. Porto Alegre: ARTMED, 2013. 820 p.

VAMERALI, T., BANDIERA, M., MOSCA, G. Field crops for phytoremediation of metal-contaminated land. A review. **Environmental Chemistry Letters**. 8, 1-17. 2010.

VIEIRA, E.L.; SOUZA, G.S.; SANTOS, A.R.; SANTOS SILVA, J. dos. **Manual de Fisiologia Vegetal**. São Luis: EDUFMA. 2010. 230 p.

ZACCHINI, M., PIETRINI, F., SCARASCIA MUGNOZZA, G., IORI, V., PIETROSANTI, L., & MASSACCI, A. Metal tolerance, accumulation and translocation in poplar and willow clones treated with cadmium in hydroponics. **Water, Air, and Soil Pollution**, 197, 23–34.2009.

ZEITOUNI, C. F. **Eficiência de espécies vegetais comofitoextratoras de cádmio, chumbo, cobre, níquel e zinco de um Latossolo Vermelho Amarelo**

distrófico. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Sutropical/ Gestão de Recursos Agroambientais) - Instituto Agronômico, Campinas. 2003.

WIERZBICKA, M.; ANTOSIEWICZ, D. How lead caneasilyenterthefoodchain – a study of plant roots. **The Science of the total environment**, Washington, v.1, p.423 - 429, 1993.

YAMAGUCHI, S. **Gibberellin metabolism and its regulation**. V. 59, p. 225-251, 2008.

CAPITULO II

Eficiência do feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* (L.) D.C.) na fitorremediação em diferentes concentrações de Chumbo e EDTA

*Resumo: A forte adsorção do chumbo com solo e sua menor translocação na planta, dificulta sua fitorremediação que pode ser potencializada utilizando-se o agente quelante para disponibilizar o Pb na solução do solo e estimular a translocação do metal para a parte aérea. Neste contexto, objetivou-se com este estudo analisar o comportamento do feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*) na absorção de Pb e translocação do Pb quando submetido a diferentes concentrações de Pb no solo e de doses de EDTA. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, durante 60 dias, nos meses de setembro e outubro de 2015. O delineamento utilizado foi um fatorial completo com blocos ao acaso, com seis doses de chumbo (0; 200; 400; 600; 800 e 1000 mg kg⁻¹) em combinação com seis doses de EDTA (0; 180; 360; 540; 720 e 890 mg kg⁻¹). Ao final do experimento foram avaliados parâmetros morfológicos e fisiológicos da planta, além das concentrações de chumbo na planta, conteúdos, relação conteúdo parte aérea/total e a eficiência da planta em retirar o metal encontrado no solo. Foi possível observar a redução de alguns parâmetros morfológicos, devido à elevação nas doses de Pb no solo. A aplicação do EDTA influenciou positiva e significativamente na absorção e relação do conteúdo da parte aérea/total de Pb, de forma que os melhores índices foram obtidos nas concentrações mais elevadas do agente quelante. Maiores conteúdos na parte aérea foram encontrados em maiores níveis de contaminação e maiores doses de EDTA. A melhor relação do conteúdo de chumbo da parte aérea/total foi obtida na condição de 600 mg kg⁻¹ de Pb e 890 mg kg⁻¹ de EDTA.*

Palavra-chave: Canavalia ensiformis, chumbo, EDTA, fitoextração.

CHAPTER II

Efficiency of jack beans (*Canavalia ensiformis* (L.) DC) in phytoremediation in different concentrations of lead and EDTA

*Abstract: Strong adsorption of lead in soil and its higher accumulation in the root system, hampers an efficient phytoremediation process. In order to enhance this process, the chelating agent is used to provide the Pb in the soil solution and stimulate translocation of metal to the shoot. In this context, the aim of this study was to analyze the jack beans (*Canavalia ensiformis*) the behavior and the absorption of Pb when subjected to different Pb concentrations in soil and the application of doses of a chelating agent. The experiment was conducted in a greenhouse for 60 days in September and October 2015. The design was a full factorial with randomized blocks with six lead doses (0, 200, 400; 600; 800 and 1,000 mg kg⁻¹) combined with six doses of EDTA (0; 180; 360; 540; 720 and 890 mg kg⁻¹). At the end of the experiment were assessed morphological and physiological parameters of the plant and the concentration of lead in the plant, based on data one can calculate the content ratio of air / and total plant efficiency of removing metal found in soil . It was observed a reduction of some morphological parameters due to increase in Pb in soil. EDTA application influenced positively and significantly the absorption and ratio of content of air / total Pb, so that the best indices were obtained at higher concentrations of chelator. Greater content in the shoot was found in higher levels of contamination and higher doses EDTA. The best ratio of shoot lead content / total was obtained under the condition of 600 mg kg⁻¹ of Pb and 890 mg kg⁻¹ EDTA.*

Keyword: *Canavalia ensiformis*, lead, EDTA, phytoextraction.

1. INTRODUÇÃO

Plantas fitorremediadoras possuem naturalmente tolerância à presença de metais pesados no solo e capacidade de absorvê-los em altas concentrações, de forma que exerçam pouca influência em seu desenvolvimento (SOUZA et al., 2011). Apesar de muitos metais pesados não serem essenciais ao desenvolvimento da planta, sua presença no solo nem sempre é um fator determinante ao mau desenvolvimento da planta. A fitorremediação torna-se uma alternativa eficiente, simples e de baixo custo no processo de descontaminação do solo por metais pesados, por consistir na despoluição de água e solo contaminados, por meio da utilização de organismos vivos como microrganismos e plantas, que possuam capacidade de extrair tais elementos do solo (PIRES et al., 2003).

A fitoextração de metais pesados pelas plantas pode ser potencializada pelo uso de agentes quelantes no solo. Estes agentes quando aplicados permitem que elementos pouco solúveis, como alguns metais pesados, estejam mais disponíveis à absorção pelas plantas, (PEREIRA, 2005). Gabos et al. (2009) trabalhando com a aplicação de EDTA em solo contaminado com Pb, verificaram que o feijão-de-porco acumulou mais Pb em seu interior devido à maior disponibilidade do metal à planta, causada pela aplicação do agente quelante no solo, principalmente, porque a aplicação do EDTA favoreceu a mobilidade do metal no solo. Pereira (2005) também relatou que a aplicação do agente quelante potencializava a absorção do chumbo pelo feijão-de-porco, aumentando em sete vezes a concentração do mesmo em sua parte aérea. Adicionalmente, o efeito tóxico minimizado pela complexação com EDTA, facilita o transporte interno na planta (MOREIRA e MOREIRA, 2004).

Como desvantagens da aplicação de agentes complexantes tem sido relatada a sua persistência no solo facilitando a maior mobilidade de metais no perfil do solo e possível contaminação de recursos hídricos (FIORI et al., 2011). De forma alternativa, outros complexantes podem ser utilizados, contudo, baixa eficiência, menor disponibilização de metais e baixo custo fazem do EDTA a opção mais viável (FREITAS et al., 2009). Estudos direcionados para a otimização das doses de EDTA em diferentes níveis de contaminação nos quais o feijão-de-porco torna-se mais eficiente para fitorremediação são escassos motivando o objetivo do presente estudo: analisar o comportamento da planta, quanto a seus parâmetros fisiológicos e morfológicos, quando cultivada em condição de contaminação artificial do solo. Além de analisar o potencial da *Canavalia ensiformis* em fitorremediar um solo

artificialmente contaminado com diferentes teores de chumbo na presença do agente quelante EDTA, de modo a estimar qual nível de contaminação permitirá uma maior eficiência no processo de fitorremediação pelo efeito sinérgico entre planta e o EDTA.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação e obedeceu a um delineamento em blocos ao acaso, em arranjo fatorial completo de 6x6, sendo: seis doses de chumbo (0, 200, 400, 600, 800 e 1000 mg kg⁻¹ de Pb), seis doses do agente quelante EDTA (0; 180; 360; 540; 720 e 890 mg kg⁻¹), com quatro repetições, totalizando 144 unidades experimentais.

O solo foi coletado a uma profundidade de 0,20 a 0,40 m de um Argissolo Vermelho Amarelo, localizado na área experimental de Centro de Ciências Agrárias de Alegre, no distrito de Rive - ES. Após a coleta, o solo foi seco ao ar e passado em peneira com malha de 2 mm para a obtenção da terra fina seca ao ar (TFSA), para que procedesse a caracterização química e física do mesmo (Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização química e física do Argissolo Vermelho Amarelo, coletado a uma profundidade de 0,2 a 0,4m, antes da aplicação dos tratamentos

pH H ₂ O	P -----mg dm ⁻³ -----	K -----	Na -----	Ca -----	Mg cmol _c dm ⁻³ -----	Al -----
5,03	2,20	60,00	6,00	0,91	0,47	0,45
H +Al -----	SB -----	T -----	T -----	V -----	M -----	
4,12	1,57	2,02	5,69	27,54	22,30	
Areia Total -----	Silte -----	Argila -----	Classificação	Ds kg dm ⁻³	Dp g cm ⁻³	
46	4	50	Textura Argilosa	1,13	2,70	

O solo foi caracterizado quimicamente quanto ao: pH em H₂O 1: 2,5 (v/v) de solo: solução; Ca²⁺ e Mg²⁺, extraídos em solução de KCl 1 mol L⁻¹ e determinados por espectrometria de absorção atômica; Al³⁺ extraído em solução de KCl 1 mol L⁻¹ e determinado por titulometria; K e Na e P extraídos em Mehlich-1 e determinados, respectivamente, por fotometria de chama e colorimetria (EMBRAPA, 1997). A acidez potencial (H + Al) foi extraída por acetato de cálcio 0,5 mol L⁻¹ a pH 7,0 e determinada

por titulometria (EMBRAPA, 1997). A caracterização física do solo foi realizada por análise granulométrica de agitação lenta, obtendo-se as frações silte e argila pelo método da pipeta (ALMEIDA et al., 2012); densidade do solo (Ds) pelo método da proveta e densidade de partículas (Dp) pelo método do balão volumétrico (EMBRAPA, 1997). A partir dos resultados de Ds e Dp, calculou-se o volume total de poros (VTP).

Após as análises químicas, o solo recebeu o calcário dolomítico (PRNT igual a 97,07%) em amostras de 3 dm³ de TFSA com base no método de saturação de bases descrito em Prezotti et al. (2007). Os cálculos para adequação da saturação por bases consideraram a elevação da mesma a 70% conforme a necessidade da cultura do feijoeiro com irrigação, considerando não haver recomendação específica de adubação e calagem para leguminosa de adubação verde e por ser o feijoeiro uma leguminosa de ciclo semelhante à espécie cultivada no experimento. O solo recebeu o corretivo de pH e permaneceu incubado por 15 dias, quando aplicado o calcário o solo foi umedecido com água deionizada até os 60% do Volume Total de Poros (VTP).

Após incubação, novamente preparou-se TFSA para adubação com fosfato de potássio, segundo as recomendações de Novais et al. (1991), adaptado, com fósforo (200 mg kg⁻¹ de solo) e potássio (250 mg kg⁻¹ de solo). A aplicação de nitrogênio (100mg kg⁻¹ de solo) foi realizada por meio do parcelamento do nitrato de amônio aos 7, 14 e 21 dias após a germinação das sementes. Após incubação com os macronutrientes durante um período de 10 dias, aplicou-se diferentes doses de Pb na forma de PbCl₂ permanecendo incubado por 20 dias. Após este período preparou-se TFSA para condução dos experimentos em vasos de polietileno com capacidade para 3 dm³. Os vasos tiveram o fundo vedado para que a perda por lixiviação fosse evitada.

Um dia antes da sementeira, as sementes de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* (L.) D.C.) foram embebidas em água para facilitar a germinação. Com o auxílio de uma pinça, cinco sementes foram dispostas de forma equidistante no interior do vaso a uma profundidade de 3 cm. Após 13 dias da germinação, foi procedido o desbaste, restando apenas uma planta por vaso. Logo após a sementeira, e ao longo dos 60 dias de condução do experimento, foi realizada diariamente a manutenção da umidade do solo a 60% do VTP.

Trinta dias após a emergência das plantas foi adicionado ao solo o EDTA dissódico conforme cada tratamento. Tal período foi escolhido devido ao crescimento do feijoeiro ser mais intensificado entre o período de 30 a 45 dias após a germinação,

devido a uma maior área fotossintética e por comportamentos fisiológicos da planta (ANDRADE et al., 2009).

Os solos de todas as unidades experimentais foram avaliados antes e após o experimento, em relação aos teores de Na, K, Ca, Mg e P, segundo metodologia EMBRAPA (1997). Amostras antes e após o experimento foram utilizadas para avaliação do Pb pelo cloreto de cálcio a 10 mmol L⁻¹ (NOVOZAMSKY et al., 1993) e para avaliar o Pb prontamente disponível e o extrator Mehlich-1 foi utilizado para avaliar o Pb disponível. Com o intuito de comparar a capacidade de absorção do metal pela planta com os extratores químicos do solo, foi realizada a correlação entre concentrações na planta e concentrações no solo extraídas pelo Mehlich-1 e cloreto de cálcio, e os coeficientes testados pelo Teste t, em 5% de probabilidade.

Após 60 dias foram analisados nas plantas: altura e diâmetro do colo, mensuradas e avaliadas as concentrações de clorofila total, clorofila *a* e *b*. Após 60 dias foram analisados: altura (H); diâmetro (D); concentrações de clorofila *a* e *b* e total (CA, CB, CT), com o auxílio de um clorofiLOG CFL1030. Posteriormente, as plantas foram seccionadas em parte aérea e raiz e com o auxílio de um integrador Licor 3100, medida a área foliar (AF), em seguida lavadas em água deionizada e secas em estufa a 65°C, até obter o peso constante (72 horas). O material seco foi triturado em moinho tipo Wiley, digerido em forno de micro-ondas, com 10 mL de HNO₃ e 0,5g de material vegetal (ABREU, 1998), e analisadas as concentrações de: P, por colorimetria; K e Na, por fotometria de chama; Pb, Ca e Mg, por espectrofotômetro de absorção atômica.

As análises estatísticas foram feitas pelo sistema para Análises Estatísticas e Genéticas (SAEG), as projeções das superfícies de resposta dos modelos foram obtidas pelo programa STATISTICA 7.0.

2.1. Índices avaliados

O índice de produção relativa (PR) permite analisar a influência do metal sobre a produção de massa seca da planta, comparando-se a planta desenvolvida sem o contaminante, que foi calculado segundo a equação:

$$(1) \quad PR\% = \frac{\text{massa seca produzida com a dose de Pb} \times 100}{\text{Massa seca produzida na ausência de Pb}}$$

Relação parte aérea: total de chumbo no interior da planta, analisando-se a transferência da raiz para a parte aérea.

$$(2) \quad T (\%) = \frac{QPA \text{ (mg.vaso}^{-1}\text{)} \times 100}{QAR \text{ (mg.vaso}^{-1}\text{)}}$$

Em que:

QPA= quantidade de Pb acumulado na parte aérea, em mg.vaso⁻¹; e

QAR= quantidade total de Pb acumulado na planta, em mg.vaso⁻¹.

A eficiência da remoção de chumbo do solo pela planta, por meio da razão entre o conteúdo do metal encontrado na parte aérea e a quantidade total de chumbo no solo.

$$(3) \quad \text{Eficiência (\%)} = \frac{QPA \text{ (mg.kg}^{-1}\text{)} \times 100}{QT \text{ (mg.vaso}^{-1}\text{)}}$$

Em que:

QPA= Acúmulo de Pb na parte aérea, em mg.vaso⁻¹;

QT= Acúmulo total de Pb no solo, em mg.vaso⁻¹.

3.RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Relação Solo-Planta

Os teores dos elementos no solo após o cultivo apresentaram uma redução devido à absorção dos elementos pela planta, com exceção do sódio que aumentou devido à aplicação do EDTA dissódico no solo (Tabela 2). No entanto, tal aumento, segundo Souza et al (2011) não prejudica o desenvolvimento da planta, de modo que valores inferiores a 50 mmol Kg⁻¹ de cloreto de sódio (equivalente a 2925 mg dm⁻³ de sódio), não diminuíram o potencial de água nas folhas do feijoeiro *Vigna unguiculata*, assim como a turgescência da planta e seus teores de clorofila.

Tabela 2. Características do solo após receber calagem, adubação e a aplicação do chumbo. (A) Solo antes do cultivo de feijão-de-porco, (B) Solo após o cultivo do feijão-de-porco

(A)					
pH	P	K	Na	Ca	Mg
H ₂ O	----- mg dm ⁻³ -----			----- cmol _c dm ⁻³ -----	
6,34	51,35	570	15	2,4	1,03
(B)					
pH	P	K	Na	Ca	Mg
H ₂ O	----- mg dm ⁻³ -----			----- cmol _c dm ⁻³ -----	
5,84	44,06	395	124	2,3	0,96

Conhecer as concentrações de metais pesados disponíveis no solo é importante para o monitoramento do risco aos organismos vivos. A baixa correlação obtida entre o extrator Mehlich-1 e a concentração de chumbo absorvido pela planta ($r = 0,61$) e uma melhor correlação com o cloreto de cálcio ($r = 0,83$), permite supor que a planta, durante seu ciclo, tem a capacidade de absorção mais relacionada ao Pb prontamente disponível.

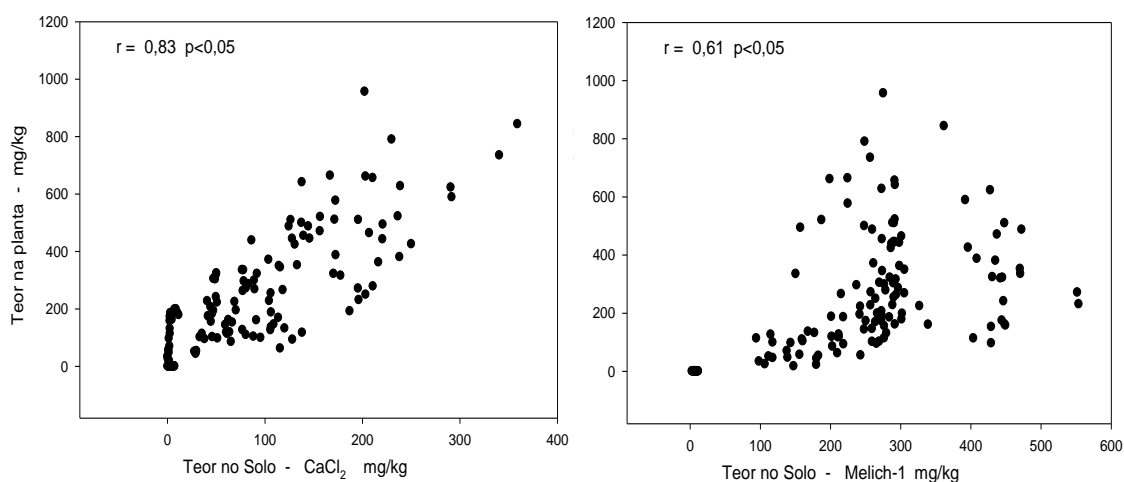


Figura 1. Relação entre concentrações no solo extraídas por dois extratores e concentrações na planta de feijão-de-porco aos 60 dias de cultivo em solo contaminado com chumbo

Segundo Abreu et al. (2002), o Mehlich-1 é capaz de estimar a quantidade de Pb disponível à absorção, uma vez que sua solução diluída de ácidos fortes tem a capacidade de extrair do solo, o chumbo complexado ou adsorvido, assim como os mais fracamente ligado aos coloides. Gonçalves Jr. et al (2004) em seu trabalho com milho,

puderam verificar a melhor correlação com a absorção de Cu pela planta por este extrator obtendo um valor de 0,9951.

Já o CaCl_2 tem sido sugerido como o mais eficiente por não interferir no pH natural do solo, de forma que induz a uma troca catiônica entre o Pb, que se encontra associado na forma de cátion trocável ou complexado fracamente na matéria orgânica, pelo Ca^{2+} (HOUBA et al., 1997). Tem-se postulado que a concentração de 0,01 mol/L de CaCl_2 é a mais apropriada pela similaridade com a força iônica das soluções na maioria dos solos (HOUBA et al., 2000). A quantificação da forma trocável tem sido importante ao estimar a disponibilização para as plantas de alguns metais, uma vez que os extratores salinos têm sido mais efetivos em relacionar as concentrações de metais pesados absorvidos pelas plantas (KRISHNAMURTI et al., 2000).

3.2 Planta

Dentre os parâmetros morfológicos e fisiológicos analisados, as doses de Pb e EDTA não resultaram em efeito significativo sobre as variáveis altura, diâmetro, clorofilas *a*, *b* e total. Dentre os índices, a eficiência de remoção de Pb, que avalia a retirada do Pb do solo diretamente para parte aérea, não se ajustou aos modelos testados.

Não foi observada coloração escura nas folhas, nem folhas atrofiadas e senescentes, sintomas típicos de toxidez por chumbo na parte aérea da planta (KABATA - PENDIAS, 2010). Porém, observou-se o escurecimento das raízes em plantas cultivadas em maiores concentrações de chumbo (Figura 2). Almeida et al. (2008), também observaram o escurecimento das raízes de feijão-de porco, cultivado em uma concentração máxima de $1000 \mu\text{molL}^{-1}$ de chumbo em solução nutritiva. Silva et al. (2015) em sua pesquisa consideram que o Pb no interior da planta afeta a formação radicular e promove o escurecimento da raiz ao promover o rompimento da parede celular.

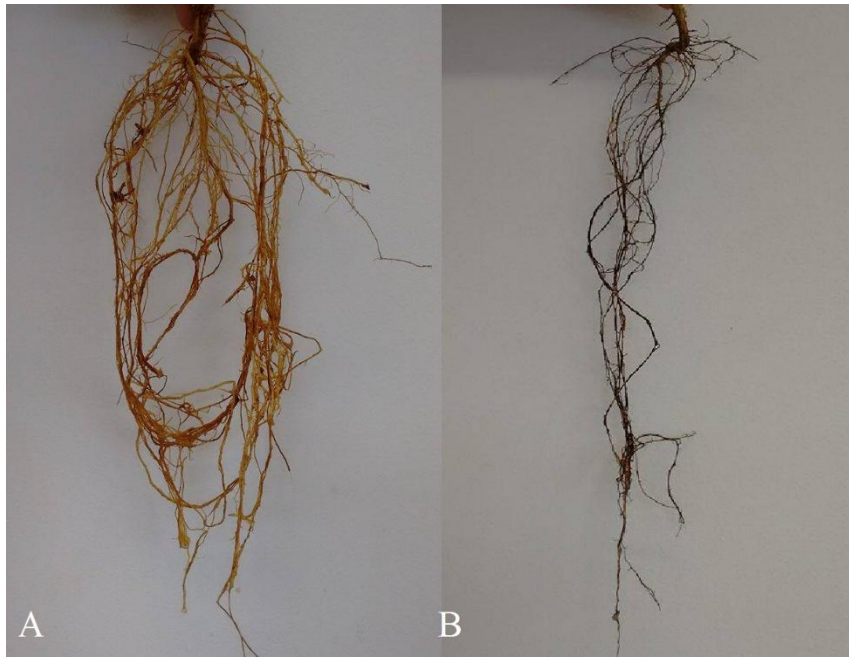


Figura 2. Raiz de feijão-de-porco nas concentrações de (A) 200 e (B) 1000 mg Kg⁻¹ de chumbo, após 60 dias de cultivo

Dentre as variáveis significativamente afetadas pelas doses de Pb e EDTA, pode-se observar que o aumento da concentração de chumbo no solo promoveu uma redução na área foliar do feijão-de-porco, de modo que ocorreu um decréscimo de mais de 65% entre a menor e a maior concentração de chumbo (Figura 3, o EDTA) no entanto, não afetou significativamente a área foliar. Para o desenvolvimento da planta essa redução diminui a interceptação solar e absorção da radiação. Dessa forma, pode-se considerar que a área foliar é de grande influência na produção e transpiração da planta (TOEBE et al, 2012; FAVARIN et al, 2002).

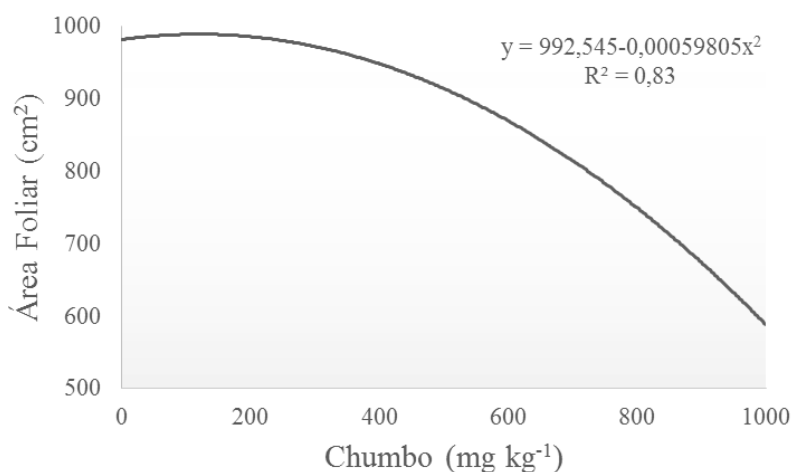


Figura 3. Área foliar das plantas de feijão-de-porco após 60 dias de cultivo, em solo artificialmente contaminado com chumbo.

Conseqüentemente, diminuindo-se a área foliar observou-se a redução da massa seca da parte aérea (Figura 4), assim como o índice de produção relativa da espécie diminuiu com aumento das concentrações de Pb (Figura 5), resultando em comportamentos similares entre tais parâmetros.

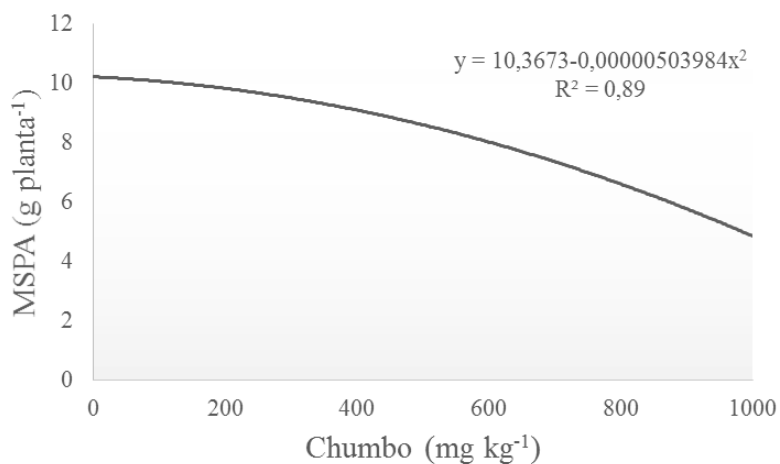


Figura 4. Massa seca da parte aérea de feijão-de-porco após 60 dias de cultivo, em solo artificialmente contaminado com chumbo

A redução dos parâmetros segue um comportamento quadrático, de modo que acima do valor de intervenção agrícola de 180 mg kg⁻¹ (CETESB, 2000), observa-se uma redução aproximada de 20% da massa seca da parte aérea e de 50% na produção relativa da espécie, considerando a dose mais elevada de Pb. O efeito mais expressivo

do chumbo, na massa seca da parte aérea e na produção relativa é confirmado pela falta de significância do EDTA.

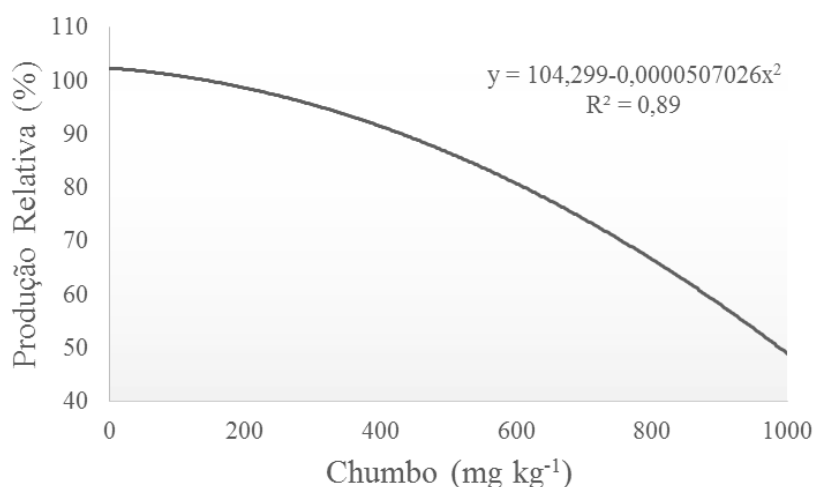


Figura 5. Produção relativa da planta de feijão-de-porco após 60 dias de cultivo, em solo artificialmente contaminado com chumbo

Romeiro et al. (2007), também observaram que a presença de Pb no solo afeta significativamente a massa seca da parte aérea do feijão-de-porco, de modo que após 28 dias de contato da planta com a dose máxima de 400 mmol L⁻¹ de Pb, ocorreu uma redução de quase 80% na produção de massa seca da parte aérea. Gabos et al. (2009) em seu estudo também observaram uma pequena influência na massa seca do feijão-de-porco cultivado em solo contendo 1200 mg kg⁻¹ de Pb associado à aplicação de 0,5 g kg⁻¹ de EDTA, porém o agente quelante não expressou significância na interação com o metal, de modo que a massa seca não tenha sido afetada pela aplicação do EDTA.

A interação entre a aplicação de EDTA e o Pb no solo, foi observada nos teores de chumbo presentes na raiz (Tabela 3) e folha (Tabela 4) de feijão-de-porco. As concentrações no caule foram significativas apenas para a aplicação do Pb (Tabela 5).

Segundo Raskin et al. (1994), uma planta pode ser considerada hiperacumuladora de Pb quando possuir a capacidade de extração superior a 1000 mg kg⁻¹ de Pb em sua massa seca. No presente estudo, pode-se observar, que nas maiores concentrações de Pb, a planta de feijão-de-porco expressa a característica de hiperacumuladora de Pb, em seu sistema radicular, atingindo valores de até 3994 mg kg⁻¹. Todavia, o maior teor de Pb foi observado na raiz, de modo que na folha e no caule tais valores foram inferiores, o que pode ser considerado uma desvantagem da espécie

no processo de fitoextração do contaminante, uma vez que é desejável a maior proporção de Pb ser encontrada na parte aérea da planta (ALKORTA et al., 2004).

Tabela 3: Concentração de Pb na raiz de feijão-de-porco, aos 60 dias de cultivo em solo artificialmente contaminado com Pb e o coeficiente de variação dos dados (%)

Pb (mg kg ⁻¹)	Concentração de Chumbo na Raiz (mg kg ⁻¹)					
	----- EDTA (mg kg ⁻¹) -----					
	0	180	360	540	720	890
0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
200	217 ± 34	162 ± 37	162 ± 8	147 ± 6	144 ± 23	100 ± 16
400	461 ± 106	419 ± 71	348 ± 21	396 ± 63	279 ± 22	198 ± 46
600	1173 ± 47	1000 ± 170	946 ± 199	911 ± 219	872 ± 140	645 ± 39
800	1479 ± 148	1394 ± 56	1342 ± 161	1414 ± 354	1363 ± 286	1232 ± 234
1000	3733 ± 261	3300 ± 165	3205 ± 673	2895 ± 579	2820 ± 592	2379 ± 119

A capacidade da espécie em acumular a maior proporção de Pb extraído em seu sistema radicular também foi observada por Romeiro et al. (2007) e Almeida et al. (2008), que ao trabalharem com feijão-de-porco cultivado em solo e em solução nutritiva, respectivamente, observaram haver forte capacidade da raiz em acumular e restringir o transporte do Pb para a parte aérea, de modo que a planta não evite a absorção, apenas limite o transporte.

Tabela 4: Concentração de Pb na folha de feijão-de-porco, aos 60 dias de cultivo em solo artificialmente contaminado com Pb e o desvio padrão

Pb (mg kg ⁻¹)	Concentração de Chumbo na Folha (mg kg ⁻¹)					
	----- EDTA (mg kg ⁻¹) -----					
	0	180	360	540	720	890
0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
200	3 ± 0,5	33 ± 5,6	92 ± 12	119 ± 28,9	113 ± 12,4	82 ± 18
400	11 ± 1,2	66 ± 7,9	126 ± 18,9	139 ± 25	210 ± 25,2	241 ± 26,5
600	26 ± 3,9	100 ± 20	186 ± 20	292 ± 38	289 ± 46	378 ± 30
800	55 ± 13,2	99 ± 19	218 ± 48	369 ± 81	452 ± 85	579 ± 110
1000	24 ± 4,8	134 ± 11	140 ± 27	301 ± 42	372 ± 56	564 ± 113

Tabela 5: Concentração de Pb na caule de feijão-de-porco, aos 60 dias de cultivo em solo artificialmente contaminado com Pb e o coeficiente de variação dos dados (%)

Pb (mg kg ⁻¹)	Concentração de Chumbo no Caule (mg kg ⁻¹)
0	0 ± 0
200	12 ± 3,4
400	34 ± 7,1
600	85 ± 13,6
800	122 ± 12,2
1000	168 ± 23,5

Segundo Kabata - Pendias (2010), a concentração de Pb considerada como tóxica, para a maioria das plantas, varia de 30 a 300 mg kg⁻¹ de Pb no tecido foliar. No presente estudo, foram encontrados valores máximos de 689 mg kg⁻¹ na folha, nas maiores doses de Pb e do EDTA. Assim como no presente estudo, Pereira et al. (2010), observaram que o feijão-de-porco absorveu valores próximos a 600 mg kg⁻¹ de Pb, quando cultivado em solo com 1200 mg kg⁻¹ de Pb e 500 mg kg⁻¹ de EDTA. Os autores também relatam, que mesmo ultrapassando a faixa considerada como tóxica para a maioria das espécies, o feijão-de-porco continua absorvendo Pb quando cultivado em solo com 2400 mg kg⁻¹ de Pb e adicionado EDTA, chegando a valores próximos de 800 mg kg⁻¹, em sua parte aérea. Trabalhos como os de Huang et al. (1997) comprovam a eficácia do EDTA em estimular um maior acúmulo de Pb na parte aérea das plantas. Huang et al. (1997) observaram que a aplicação de 500 mg kg⁻¹ de EDTA em solo contaminado com 2500 mg kg⁻¹ de Pb, permitiu um aumento de 100 para 3000 mg kg⁻¹ de Pb na parte aérea de milho.

O EDTA influenciou na absorção e nas proporções de Pb encontradas no interior da planta. A utilização do EDTA tem sido evidenciada para aumentar a eficiência da fitoextração, uma vez que o quelante aumenta a mobilidade e disponibilidade do metal no solo e seu acúmulo na parte aérea da planta. Freitas (2009) observou um aumento de 36, 48, 63 e 81 vezes a concentração de Pb na parte aérea da planta de milho, respectivamente para as doses de 2, 5, 10 e 20 mmol kg⁻¹ de EDTA no solo, com significativa influência do quelante no teor de chumbo da parte aérea quando comparado ao tratamento controle. Gabos et al (2009) puderam observar o efeito significativo na aplicação do EDTA no transporte de chumbo para a parte aérea da planta de feijão-de-porco.

A presença do agente quelante afetou o conteúdo de chumbo presente na parte aérea e no sistema radicular do feijão-de-porco, de modo que com a aplicação de doses crescentes do EDTA o conteúdo de Pb no sistema radicular diminuíra (Figura 6), assim como o da parte aérea aumentara (Figura 7). Romeiro et al. (2007), também observaram que o feijão-de-porco, quando não cultivado sobre a aplicação de EDTA, tende a acumular o Pb absorvido em seu sistema radicular, limitando a translocação do metal para a parte aérea da planta.

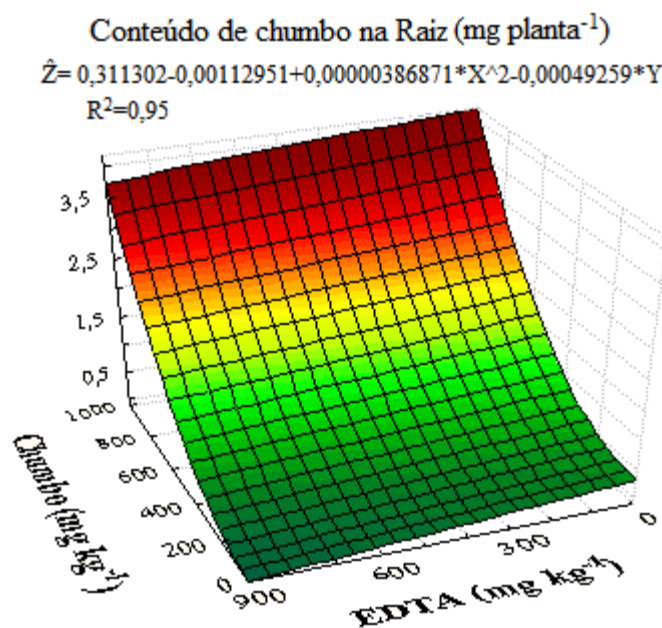


Figura 6. Conteúdo de chumbo na raiz de feijão-de-porco após 60 dias de cultivo em solo contaminado com chumbo. X=Chumbo (mg kg⁻¹); Y=EDTA (mg kg⁻¹)

A aplicação de EDTA no solo estimula um maior direcionamento do Pb para a parte aérea da planta, tal fato foi observado no presente estudo e confirmado por Gabos et al. (2009), em seu trabalho com feijão-de-porco cultivado em solo contaminado com Pb, onde os autores relataram que a aplicação de EDTA no solo permitiu um maior conteúdo de Pb na parte aérea.

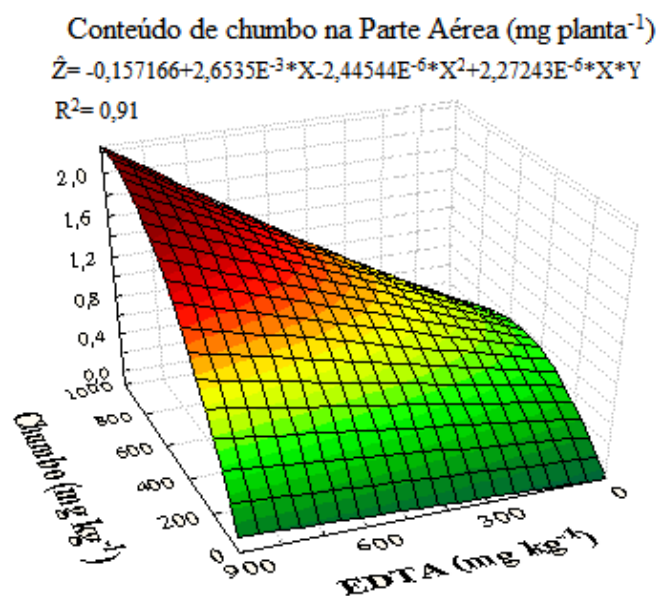


Figura 7. Conteúdo de chumbo encontrado na planta de feijão-de-porco após 60 dias de cultivo em solo contaminado com chumbo. X = Chumbo (mg kg⁻¹); Y = EDTA (mg kg⁻¹)

A partir da comparação entre as porcentagens acumuladas na parte aérea e na raiz, observa-se a forte influência do EDTA no conteúdo de Pb na planta, de modo que com a elevação das doses a porcentagem de Pb presente na raiz diminui e a da parte aérea aumenta, havendo dessa forma um redirecionamento do metal (Tabela 6). Ao aplicar 890 mg kg⁻¹ de EDTA nas plantas cultivadas em solo artificialmente contaminado com 1000 mg kg⁻¹, a porcentagem de Pb acumulado na parte aérea passou de 9 para 52 %, o aumento foi ainda maior na dose de 400 mg kg⁻¹ de Pb, onde foi elevado de 29 para 87%.

Tabela 6: Porcentagem de chumbo acumulado na parte aérea e na raiz (% parte aérea / % raiz) de feijão-de-porco cultivadas em solo artificialmente contaminado com Pb, após 60 dias, sobre influência da aplicação de EDTA no solo

Pb (mg kg ⁻¹)	Chumbo Acumulado na Parte Aérea/Raiz (%)					
	----- EDTA (mg kg ⁻¹) -----					
	0	180	360	540	720	890
200	38/62	65/35	81/19	84/16	84/16	85/15
400	29/71	58/42	72/28	70/30	82/18	87/13
600	33/67	49/51	62/38	67/33	70/30	78/22
800	33/67	37/63	55/45	63/37	69/31	76/24
1000	9/91	19/81	21/79	34/66	38/62	52/48

A proporção parte aérea/total, permite inferir quanto ao poder de redirecionar o total de Pb absorvido para a parte aérea da planta (Figura 8). A combinação entre doses intermediárias de EDTA e Pb, é a que melhor direciona o Pb absorvido para a parte aérea. Apesar das maiores doses de Pb terem promovido um maior acúmulo na parte aérea, aproximadamente 78% do metal pode ser mobilizado para parte aérea em níveis de contaminação de 600 mg kg⁻¹. Na planta, o EDTA atua como facilitador ao transporte e redirecionamento do Pb para parte aérea, por criar um complexo com pelo menos duas ligações com o metal, que o envolve e o deixa na forma inativa no interior da planta, ou seja, o metal se encontra presente, porém, não causa danos ao seu sistema, por se encontrar na forma de um complexo solúvel e estável facilitando seu transporte pela planta, o EDTA, mesmo após ter formado o complexo EDTA:Pb, possui a capacidade de se comportar como um ímã eletrostático, atraindo o Pb presente na solução do solo e transportando no interior da planta (SADAO, 2002; MOREIRA e MOREIRA, 2004).

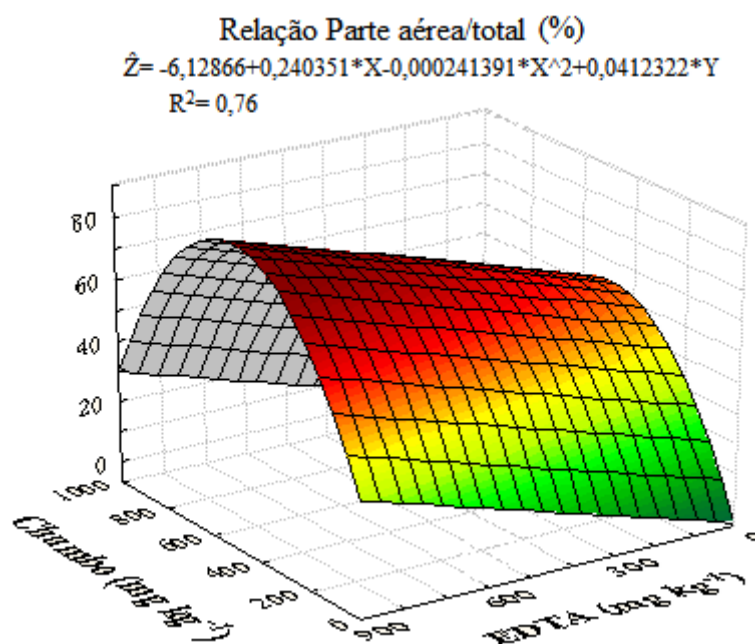


Figura 5. Relação Parte aérea/total do feijão-de-porco após 60 dias, submetido a diferentes doses de Pb e EDTA. X=Pb (mg kg⁻¹); Y=EDTA (mg kg⁻¹)

Acredita-se que a quantidade de EDTA aplicado no solo não tenha sido suficiente para complexar todo o metal adicionado, uma vez que a relação ideal de complexação entre Pb: EDTA é de 1:1 (LINDSAY, 1979) e no presente estudo esta

relação variou conforme os tratamentos, de modo que na maior dose de Pb e de EDTA essa relação tenha sido de 2:1. A ausência do EDTA no solo promove uma menor porcentagem de Pb acumulado na parte aérea da planta, mas quando aplica-se o agente quelante tal valor é aumentado.

A aplicação do EDTA estimula o aumento do Pb na solução do solo, que facilita a absorção do metal e translocação da raiz para a parte aérea, potencializando a absorção pela manutenção do metal na solução do solo (HUANG et al., 1997). Luo et al. (2005) observaram que a aplicação do EDTA, em comparação a outros agentes indutores de fitorremediação como o ácido cítrico e o EDDS, assim como o tratamento controle, obtiveram as maiores taxas de translocação do Pb na planta de milho. Santos et al. (2006), perceberam que ao se aplicar EDTA no solo contaminado com Pb, permitiu um aumento de seis vezes no poder de translocação do elemento, da raiz para a parte aérea.

Não somente a dose de EDTA aplicada, mas também o tempo de cultivo e a quantidade de plantas por área influenciaram nos índices avaliados. Os valores encontrados foram inferiores aos encontrados por Gabos et al. (2009), que obtiveram uma relação parte aérea/total de 77 a 97 %, no entanto, o trabalho foi conduzido com 0,5g kg⁻¹ EDTA e três plantas por vaso. No presente experimento a combinação que apresentou a melhor relação parte aérea /total foi obtida nas maiores doses de EDTA (890 mg kg⁻¹) associadas à dose intermediária de Pb (600 mg kg⁻¹).

3.3 Balanço Nutricional

O Pb, assim como outros metais pesados, pode interferir em um balanço nutricional adequado influenciando na concentração de alguns nutrientes na planta. Foram analisadas as concentrações de fósforo, cálcio, sódio, magnésio e potássio do feijão-de-porco após os 60 dias de cultivo no solo contaminado com as respectivas doses de Pb (Tabela 7). Não foram observados teores de sódio nas folhas. Não foi observada diferença significativa entre diferentes doses de EDTA. Pôde-se observar que as concentrações de fósforo e cálcio foram influenciadas pela presença de Pb no solo, diferentemente do magnésio e potássio que não apresentaram diferença estatística pelo teste de Tukey em 5% de probabilidade.

Tabela 7. Concentrações foliares de macronutrientes na planta de feijão-de-porco aos 60 dias de cultivo em solo contaminado com Pb

Pb (mg kg ⁻¹)	P	Ca	Mg	K
	Valores ideais ¹			
	0,2 - 0,3	1,5 - 2,0	0,4 - 0,7	2,0 - 2,5
0	0,159 ± 0,018 a	0,56 ± 0,06 c	0,31 ± 0,05 a	2,50 ± 0,36 a
200	0,153 ± 0,024 ab	0,78 ± 0,10 b	0,31 ± 0,07 a	2,50 ± 0,27 a
400	0,149 ± 0,015 ab	0,77 ± 0,15 b	0,33 ± 0,03 a	2,55 ± 0,17 a
600	0,146 ± 0,017 ab	0,79 ± 0,06 b	0,33 ± 0,05 a	2,56 ± 0,32 a
800	0,143 ± 0,015 b	0,81 ± 0,09 b	0,34 ± 0,03 a	2,58 ± 0,30 a
1000	0,114 ± 0,019 c	1,42 ± 0,20 a	0,34 ± 0,03 a	2,61 ± 0,37 a

Médias nas colunas seguidas pela mesma letra não diferenciam entre si pelo teste de Tukey em 5% de probabilidade.

¹Prezotti et al (2007).

A maior concentração de Pb no solo induziu a redução das concentrações de fósforo na folha, o que pode ser atribuído à precipitação do macronutriente associado ao metal, uma vez que a combinação do Pb²⁺ com o ânion H₂PO₄⁻ presente de forma livre na solução do solo forma um precipitado insolúvel do metal, em pH acima de 6 (KABATA-PENDIAS E PENDIAS, 2000). O aumento da concentração de Pb no solo pode ter interferido e proporcionado a ligação entre estes elementos, diminuindo a concentração de fósforo absorvido pelas plantas, a dose mais elevada de Pb no solo se mostrou estatisticamente inferior às demais. Uma menor absorção de fósforo pela planta também foi observada por Paiva et al. (2002) que, ao aplicarem Pb no solo, observaram que a absorção do macronutriente era reduzida em mudas de cedro (*Cedrela fissilis* Vell.), possivelmente associada à formação de fosfato de Pb no solo. Porém, não se pode desconsiderar a forte adsorção do fosfato nos colóides do solo, principalmente em solo altamente intemperizado, como é o caso do presente estudo, acarretando assim em uma baixa disponibilidade deste elemento na solução do solo (NOVAIS et al, 2007). Apesar da concentração de fósforo encontrado na folha estar abaixo da recomendada, não foi observado sintomas de deficiência do elemento na planta.

As concentrações de cálcio e magnésio também se estabeleceram abaixo do nível recomendado, porém, assim como para o fósforo, não foram observados sintomas visuais de deficiência destes elementos. As concentrações de magnésio e potássio não foram afetadas significativamente pela aplicação do Pb e EDTA no solo, sendo que as concentrações de potássio se estabeleceram na faixa considerada ideal. O Pb⁺² e o Ca⁺²

competem entre si por sítios de adsorção tanto na planta quanto no solo, porém esta afinidade cálcio com o solo é consideravelmente menor do que o Pb, deixando-o mais disponível na solução do solo e conseqüentemente mais facilmente absorvido pelas plantas. Essa competição por ligações cria um potencial osmótico no interior da planta que favorece a absorção do cálcio (KABATA - PENDIAS, 2010).

4.CONCLUSÕES

- Em decorrência da aplicação de chumbo, ocorreu a redução da massa seca e aérea foliar do feijão-de-porco caracterizada pela toxidez do metal;
- A aplicação do agente quelante EDTA aumentou os conteúdos de Pb na parte aérea, diminuindo-os na raiz e evidenciando o efeito da fitorremediação induzida, favorecendo a translocação do metal;
- Em níveis de contaminação de 600 mg kg^{-1} de Pb, a aplicação de 890 mg kg^{-1} de EDTA proporcionou maior eficiência na mobilização do metal da raiz para a parte aérea da planta.

5.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, C. A. de; ABREU, M. F.; ANDRADE, J. C. Distribuição de chumbo no perfil de solo avaliada pelas soluções de DTPA e Mehlich-3. **Bragantia**. v. 57, n. 1, Campinas 1998.

ABREU, C. A. de; ABREU, M. F.; BERTON, R. S. Análise química de solo para metais pesados. In: **Tópicos em Ciência do Solo, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, v.2, p. 645-692, 2002.

ALKORTA, I.; HERNÁNDEZ-ALLICA, J.; BECERRIL, J.M.; AMEZAGA, I.; ALBIZU, I.; GARBISU, C. Recent findings on the phytoremediation of soils contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc, cadmium, lead, and arsenic. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology Kluwer Academic Publishers*. 3: 71–90, 2004.

ALMEIDA, E.L.; MARCOS, F.C.C.; SCHIAVINATO, M.A.; LAGÔA, A.M.M.A.; ABREU, M.F. Crescimento de feijão-de-porco na presença de chumbo. **Bragantia**, Campinas, v.67, n.3, p.569-576, 2008.

ANDRADE, C. A. B.; SCAPIM, C. A.; BRACCINI, A. de L.; MARTORELLI, D. T. Produtividade, Crescimento e partição de matéria seca em duas cultivares de feijão. **Acta scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 4, p. 683-688, 2009.

FAVARIN, J.L.; NETO, D.D.; GARCIA, A.G.; NOVA, N.A.V.; FAVARIN, M.G.G.V. Equações para a estimativa do índice de área foliar do cafeeiro. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 37, n. 6, p. 769-773, jun. 2002.

FIORI, A.A.; ABREU, M.F.; COSCIONE, A.R.; ANDRADE, C.A.; ABREU, C.A. Degradabilidade dos agentes quelantes EDTA e EDDS após aplicação no solo. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 2, p.424-431, 2011.

FREITAS, E. V. S.; NASCIMENTO, C. W. A.; GOULART, D. F.; SILVA, J. P. S. disponibilidade de cádmio e chumbo para milho em solo adubado com fertilizantes fosfatados. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 33, p. 1899-1907, 2009

GABOS, M. B.; ABREU, C. A.; COSCIONE, A. R. EDTA assisted phytoremediation of a Pbcontaminated soil: metal leaching and uptake by jack beans. **ScientiaAgrícola**. (USP. Impresso), v. 66, p. 506-514, 2009.

GONÇALVES J. R., A.C.; SACON, E.; MONDARDO, E. Capacidade dos métodos extratores e fitodisponibilidade de cobre para cultura do milho cultivado em Argissolo Vermelho-amarelo eutrófico. **Revista Varia Scientia** v. 04, n. 08, p.103-111. 2004.

HUANG, J.W., CHEN J., BERTI W.R., CUNNINGHAM, S.D. Phytoremediation of lead-contaminated soils: role of synthetic chelates in lead phytoextraction. **Environmental Science and Technology**, v. 31, p. 800-805, 1997.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soil and plants**. 4. ed. Boca Raton: CRC press, Florida. 501p. 2010.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soil and plants**. 3. ed. Boca Raton: CRC press, Florida. 331p. 2000.

LUO, C.; SHEN,Z.; LI, X. Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS. **Chemosphere**. V. 59, p. 1–11, 2015;

MOREIRA, F.R.; MOREIRA, J.C. A cinética do chumbo no organismo humano e sua importância para a saúde. **Ciênc. saúde coletiva**. V.9, n.1, Rio de Janeiro, 2004.

NOVAIS, R.F.; NEVES, J.C. L.; BARROS, N.F. Ensaio em ambiente controlado. In: OLIVEIRA, A. J.; GARRIDO, W. E.; ARAÚJO, J. D.; LOURENÇO, S. **Métodos de pesquisa em fertilidade do solo**. EMBRAPA-SAE, Brasília, p.189-254, 1991.

NOVAIS, R.F.; SMYTH, T. J.; NUNES, F.N. Fósforo. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V. V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. **Fertilidade do Solo**. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p.276-374, 2007.

PAIVA, H.N.; CARVALHO, J.G.; SIQUEIRA, J.O. Índice de translocação de nutrientes em mudas de cedro (*Cedrelafissilis*Vell.) e de ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* Mart. Standl.) submetidas a doses crescentes de cádmio, níquel e chumbo. **Revista Árvore**, v.26, p.467-473, 2002.

- PEREIRA, B.F.F. **Potencial fitorremediador das culturas de feijão-de-porco, girassol e milho cultivadas em Latossolo vermelho contaminado com chumbo.** 2005. 68 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical/Gestão de Recursos Agroambientais) - Instituto Agronômico (IAC). Campinas,
- PIRES, F. R.; SOUZA, C.M.; SILVA, A.A.; PROCÓPIO, S.O.; FERREIRA, L.R. Fitorremediação de solos contaminados com herbicidas. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v.21, n.2, p.335-341, 2003.
- PREZOTTI, L. C.; GOMES, J. A., DADALTO, G. G.; OLIVEIRA J.A. **Manual de Recomendação de calagem e adubação para o Estado do Espírito Santo - 5º aproximação.** Vitória, SEEA/Incapar/Cedagro. 305p., 2007.
- RASKIN, I., KUMAR, PBA. N., DUSHENKOV, J.R.; SALT, D. E. Bioconcentration of heavy metals by plants. **Current Opinions Biotechnology**, Philadelphia, v.5, p.285 - 290, 1994.
- ROMEIRO, S.; LAGÔA, A.M.M.A.; FURLANI, P.R.; ABREU, C.A.; PEREIRA, B.F.F. Absorção de chumbo e potencial de fitorremediação de *Canavalia ensiformes* L. **Bragantia**, Campinas, v.66, n.2, p.327-334, 2007.
- SADAO, M. Intoxicação por chumbo. **Revista de Oxidologia**, Jan/Fev/Mar 2002.
- SANTOS, F.S.; HERNÁNDEZ-ALLICA, J.; BECERRIL, J.M.; AMARAL-SOBRINHO, N.; MAZUR, N. & GARBISU, C. Chelate-induced phytoextraction of metal polluted soil with *Brachiaria decumbens*. **Chemosphere**, 62:1454-1463, 2006
- SILVA, E.; SANTOS, P.S.; GUILHERME, M.F.S. Chumbo nas plantas: uma breve revisão sobre seus efeitos, mecanismos toxicológicos e remediação. **Agrarianacademy**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.2, n.3; p. 2015
- SOUZA, E. P.; SILVA, I. F.; FERREIRA, L. E. Mecanismos de tolerância a estresses por metais pesados em plantas. **R. Bras. Agrocência**, Pelotas, v.17, n.2-4, p.167-173, abr-jun, 2011.
- TOEBE, M.; CARGNELUTTI FILHO, A.; CLÁUDIA BURIN, C.; FICK, A.L.; NEU, I.M.M.; CASAROTTO, G.; ALVES, B.M. Modelos para a estimativa da área foliar de feijão de porco por dimensões foliares. **Bragantia**, Campinas, v. 71, n. 1, p.37-41, 2012.

CAPITULO III

Influência do ácido giberélico (GA₃) associado ao EDTA na absorção de chumbo pelo feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* (L.) D.C.)

*Resumo: A adição de agentes quelante e hormônios de crescimento tem sido usada para disponibilizar o Pb na solução do solo e estimular sua translocação para a parte aérea. Neste contexto, objetivou-se analisar a influência da giberelina e do EDTA, no crescimento e absorção de chumbo pela *Canavalia ensiformis* (L.) D.C. cultivada em solo artificialmente contaminação com 1200 mg kg⁻¹ de Pb. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, durante 60 dias, nos meses de setembro e outubro de 2015, em um delineamento em blocos ao acaso com 3 doses de giberelina (50, 100 e 150 mg L⁻¹) associadas a ausência e presença de 890 mg kg⁻¹ de EDTA. Ao final do experimento foram analisados parâmetros morfológicos e fisiológicos, além do conteúdo de chumbo na planta. Com base nos dados pôde-se calcular a proporção de Pb presente na raiz e na parte aérea e a eficiência da planta em retirar o metal encontrado no solo. Com adição de 890 mg kg⁻¹ de EDTA no solo e a aplicação foliar de 50 mg L⁻¹ de giberelina, foi obtido o maior conteúdo de Pb na parte aérea da planta, de modo a se encontrar um acúmulo de 2,61 mg planta⁻¹. A maior eficiência da fitorremediação induzida por complexantes e hormônios vegetais é evidenciada pela interação significativa entre aplicação do EDTA no solo e da giberelina via foliar no aumento dos conteúdos de Pb na planta.*

Palavra-chave: Fitorremediação; feijão-de-porco; EDTA; GA₃.

CHAPTER III

Influence of gibberellic acid (GA₃) associated with EDTA in lead absorption by jack beans (*Canavalia ensiformis* (L.) DC)

*Abstract: Low availability of lead in soil, as well as the highest metal accumulating found on the root system impossible an efficient phytoremediation process. The addition of chelating agents and growth hormone is used to provide the Pb in the soil solution and stimulate its translocation to the shoot. In this context, this study aimed to analyze the influence of gibberellic acid and EDTA, growth and lead uptake by *Canavalia ensiformis* (L.) DC cultivated in soil artificially contaminated with 1200 mg kg⁻¹ of Pb. The experiment was conducted in a vegetation for 60 days in September and October 2015, in a block design at random with 3 doses of gibberellin (50, 100 and 150 mg L⁻¹) associated with absence and presence of 890 mg kg⁻¹ EDTA. At the end of the experiment morphological and physiological parameters were analyzed, in addition to the lead content in the plant. Based on the data we can calculate the proportion of Pb present in roots and shoots and the plant efficiency in removing the metal found in the soil. With addition of 890 mg kg⁻¹ of EDTA in soil and foliar application of 50 mg L⁻¹ gibberellic acid, was obtained higher Pb content in the aerial part of the plant in order to find an accumulation of 2.61 mg plant⁻¹. The greater efficiency of phytoremediation induced complexing and plant hormones is evidenced by the significant interaction between application of EDTA in soil and foliar gibberellin in increasing Pb content in the plant.*

Keyword:Phytoremediation; jack beans; EDTA; GA₃.

1. INTRODUÇÃO

A absorção de chumbo influencia no crescimento da planta, reduzindo suas funções fisiológicas, principalmente em plantas que não possuem tolerância a presença do mesmo. Para algumas plantas mesmo que em baixas concentrações o Pb pode acarretar mudanças em sua fisiologia e morfologia influenciando desta forma no crescimento radicular, na produção de clorofila *a* e *b*, inibição da divisão celular, dentre outros parâmetros que podem ser considerados indicadores de fitotoxidez da planta (SHARMA e DUBEY, 2005).

Grande parte do chumbo presente no solo encontra-se adsorvido nos coloides, a aplicação de agentes quelantes previne a adsorção específica do solo com o metal, aumentando assim sua disponibilidade à absorção pela planta (FIORE et al., 2010). Com a aplicação do EDTA como agente complexante, Gabos et al (2009) em seu trabalho também com feijão-de-porco cultivado em solo contaminado com chumbo, observaram uma redução na produção do crescimento em virtude do complexante permitir um maior acúmulo do metal na parte aérea.

A aplicação de hormônios de crescimento, como a giberelina, incrementa o crescimento das plantas, permitindo que as mesmas apresentem maior desenvolvimento da parte aérea (CAMPOS et al., 2009; TAIZ e ZEIGER, 2013). Deste modo, a combinação do EDTA com a aplicação de hormônio de crescimento pode amenizar o efeito tóxico, de modo que a planta consiga um melhor desempenho na absorção de chumbo do solo, uma vez que a giberelina permite um maior ganho em biomassa, podendo assim estimular uma maior absorção de elementos presentes na solução do solo (HADI et al., 2010).

Dessa forma, no presente estudo objetiva-se analisar a influência de diferentes doses de giberelina, associada ou não com a aplicação do EDTA, no crescimento e absorção de chumbo pela *Canavaliaensiformis* (L.) D.C. cultivada em solo artificialmente contaminado com 1200 mg kg⁻¹ do metal.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Montagem do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em blocos ao acaso, com um arranjo fatorial de 3x2, sendo: três doses de giberelina (50, 100 e 150 mg L⁻¹ de GA₃), na ausência e presença de 890 mg kg⁻¹ de EDTA, com quatro repetições, totalizando 24 unidades experimentais. O solo utilizado foi retirado a uma profundidade de 0,20 a 0,40 m (Argissolo Vermelho Amarelo), localizado na área experimental do Centro de Ciências Agrárias da UFES, em Alegre, no distrito de Rive - ES. O solo foi seco ao ar e peneirado em malha de 2 mm, para obter a terra fina seca ao ar (TFSA), em seguida, foi realizada a caracterização química e física (Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização química e física do solo utilizado no trabalho

pH H ₂ O	P	K	Na	Pb	Ca	Mg	Al
5,03	2,20	60,00	6,00	0	0,91	0,47	0,45
-----mg dm ⁻³ -----							
H +Al	SB	T	T	V	M		
4,12	1,57	2,02	5,69	27,54	22,30		
-----cmol _c dm ⁻³ -----							
----- % -----							
Areia Total	Silte	Argila	Classificação	Ds	Dp		
46	4	50	Textura Argilosa	1,13	2,70		
----- % -----							
-----kg dm ⁻³ -----							
-----g cm ⁻³ -----							

As análises químicas foram: pH em H₂O 1: 2,5 (v/v) de solo: solução; Ca²⁺ e Mg²⁺ extraídos por solução de KCl 1 mol L⁻¹ e determinados por espectrometria de absorção atômica; Al³⁺ extraído por solução de KCl 1 mol L⁻¹ e determinado por titulometria; K e Na e P extraídos por Mehlich-1 e determinados, respectivamente, por fotometria de chama e colorimetria (EMBRAPA, 1997). A acidez potencial (H + Al) foi extraída por acetato de cálcio 0,5 mol L⁻¹ a pH 7,0 e determinada por titulometria (EMBRAPA, 1997). A caracterização física do solo foi realizada por análise granulométrica de agitação lenta, obtendo-se as frações silte e argila pelo método da pipeta (ALMEIDA et al., 2012); densidade do solo (Ds) pelo método da proveta e densidade de partículas (Dp) pelo método do balão volumétrico (EMBRAPA, 1997). A partir dos resultados de Ds e Dp calculou-se o volume total de poros (VTP).

Após as análises químicas concluídas, amostras de 3 dm³ de TFSA foram acondicionadas em sacos plásticos. A correção do pH foi procedida com base no método de saturação de bases descrito em Prezotti et al. (2007). Os cálculos para adequação da saturação por bases foram feitos para sua elevação a 70% conforme a necessidade da cultura do feijoeiro com irrigação, considerando não haver recomendação específica de adubação e calagem para leguminosa de adubação verde e por ser o feijoeiro uma leguminosa de ciclo semelhante à espécie cultivada no experimento.

O solo recebeu o calcário dolomítico (PRNT igual a 97,07%) e foi umedecido com água deionizada até atingir 60% do volume total de poros (VTP), permanecendo em sacolas plásticas durante 15 dias para incubação. Para promover a reação do calcário, a cada 48 horas as sacolas eram abertas para que o CO₂ proveniente da reação de neutralização da acidez fosse liberado, e em seguida novamente fechadas.

Decorridos os 15 dias de incubação, preparou-se a TFSA e adubou segundo as recomendações, adaptadas, de Novais et al (1991), com fósforo (200 mg kg⁻¹ de solo) e potássio (250 mg kg⁻¹ de solo) na forma de fosfato de potássio, permanecendo incubado durante 10 dias. A aplicação de nitrogênio (100 mg kg⁻¹ de solo) foi feita por meio do parcelamento do nitrato de amônio em 7, 14 e 21 dias após a germinação das sementes.

Posteriormente, foram separados 3 dm³ de solo em sacos plásticos, para a aplicação de 1200 mg dm⁻³ de chumbo, por meio de cloreto de chumbo, a incubação com o metal durou 20 dias. Durante todos os processos de incubação e condução do experimento o solo manteve-se saturado com 60% do VTP, com água deionizada. Após os 20 dias de incubação com o metal pesado e obtenção da TFSA, conduziu-se o cultivo do feijão-de-porco, em vasos de polietileno com fundo vedado (capacidade para 3 dm³).

Um dia antes do plantio, as sementes de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* (L.) D.C.) foram embebidas em água para facilitar a germinação. Cinco sementes foram dispostas de forma equidistante no interior do vaso a uma profundidade de 3 cm e após 13 dias da germinação, foi procedido o desbaste, deixando-se apenas uma planta por vaso. Aos 30 dias, após a germinação, ocorreu a aplicação do EDTA, tal período foi escolhido devido ao crescimento do feijoeiro ser mais intensificado entre o período de 30 a 45 dias após a germinação, devido a uma maior área fotossintética e por comportamentos fisiológicos da planta (ANDRADE et al., 2009). A giberelina (GA₃), foi aplicada foliarmente, por meio de uma solução, aos 30, 40 e 50 dias de condução do experimento, conforme cada tratamento.

Os solos de todas as unidades experimentais foram avaliados antes e após o experimento, em relação aos teores trocáveis de Ca, Mg e disponíveis de P, segundo metodologia da EMBRAPA(2011). Amostras de solo obtidas, antes e após o experimento, foram utilizadas para avaliação do Pb pelo cloreto de cálcio a 10 mmol L⁻¹ (NOVOZAMSKY et al., 1993) para avaliar o Pb prontamente disponível e o extrator Melich-1 foi utilizado para avaliar o Pb disponível. Amostras de solo antes do plantio foram digeridas com auxílio de forno micro-ondas utilizando 0,5 g de solo e 12 mL da mistura HNO₃/HCl (3:1) (USEPA 3051), com intuito de verificar a concentração total de chumbo presente no solo.

Ao final do experimento, aos 60 dias, foram analisados: altura (H); diâmetro do colo (D); concentrações de clorofila total (CT), clorofila *a* (CA) e *b* (CB), com o auxílio de um clorofiLOG CFL1030. As plantas foram seccionadas em folha, caule e raiz, com o auxílio de uma tesoura de poda e limpas com água deionizada. Antes de serem secas, as folhas foram passadas em um integrador de área foliar (AF) (Licor 3100). Posteriormente, foram mantidas em estufa, à temperatura de 65°C até obter o peso constante (72 horas), obtendo-se a produção de massa seca da folha (MSPA) e da raiz (MSR). Em seguida, o material foi triturado em moinho tipo Willey, digerido em forno de micro-ondas, com 10 mL de HNO₃ e 0,5 g de material vegetal (ABREU, 1998), e analisadas as concentrações de: P, por colorimetria; K e Na, por fotometria de chama; Pb, Ca e Mg, por espectrofotômetro de absorção atômica. A partir das concentrações de Pb e produção de massa seca da parte aérea e raiz, calculou-se os conteúdos de chumbo.

Os dados foram submetidos à análise de variância e à comparação de médias pelo teste Tukey, em nível de 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas usando o software SAEG.

2.2. Índices avaliados

A produção relativa (PR) permite avaliar a influência do metal sobre a produção de massa seca da planta, comparando-se com a planta desenvolvida sem a aplicação do EDTA e do GA₃. A PR foi calculada segundo a equação:

$$(1) \quad PR\% = \frac{\text{massa seca produzida com aplicação dos tratamentos} \times 100}{\text{Massa seca produzida na ausência dos tratamentos}}$$

A eficiência da remoção de chumbo do solo pela planta de feijão de porco foi calculada por meio da razão entre o conteúdo do metal encontrado na parte aérea e a quantidade total de chumbo presente no solo.

$$(2) \quad \text{Eficiência (\%)} = \frac{QPA \text{ (mg vaso}^{-1}\text{)} \times 100}{QT \text{ (mg vaso}^{-1}\text{)}}$$

Em que:

QPA= Acúmulo de Pb na parte aérea, em mg vaso⁻¹;

QT= quantidade total de Pb, no solo extraído, em mg vaso⁻¹.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Solo

As concentrações dos elementos no solo, após a calagem, adubação e contaminação (Tabela 2, A), apresentaram uma leve redução após o cultivo do feijão-de-porco (Tabela 2B), à exceção do sódio, que aumentou devido à aplicação de 890 mg kg⁻¹ do EDTA dissódico, aos 30 dias de condução do experimento. Embora o teor de sódio no solo tenha elevado com a aplicação do EDTA, não foi verificada a presença do elemento em teores elevados no tecido vegetal.

Tabela 2. Características do solo após receber calagem, adubação e a aplicação do chumbo. (A) Solo antes do cultivo de feijão-de-porco, (B) Solo após o cultivo do feijão-de-porco

(A)						
pH	P	K	Na	Pb	Ca	Mg
H ₂ O	mg dm ⁻³			cmol _c dm ⁻³		
6,04	47,69	551	16	1200	2,4	1,02
(B)						
pH	P	K	Na	Ca		Mg
H ₂ O	mg dm ⁻³			cmol _c dm ⁻³		
		Ausência de EDTA		Presença de EDTA		
5,48	42,72	390	20	145	2,3	1,00

Quanto às concentrações de Pb no solo foi possível observar que a extração Mehlich-1 foi capaz de extrair apenas 23,4% do total de chumbo encontrado no solo. A extração com a solução de CaCl₂, foi ainda menor, extraíndo apenas 0,5% do total de

Pb. Tal valor se justifica pelo baixo poder de extração do cloreto de cálcio, uma vez que este sal tem a capacidade de remover apenas os metais que se encontram na solução do solo e fracamente adsorvidos (ABREU et al., 2002). Tem-se postulado que a concentração de $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de CaCl_2 é a mais apropriada pela similaridade com a força iônica das soluções na maioria dos solos (HOUBA et al., 2000). A extração pelo Mehlich-1 e pelo cloreto de cálcio extrai apenas uma parte do chumbo retido ao solo. O Mehlich-1 é capaz de extrair o metal encontrado nos sítios de troca e uma parte daqueles que se encontram complexados ou adsorvidos pela superfície dos colóides (SANTOS et al., 2015).

3.2. Planta

Dentre as variáveis avaliadas, não foi observada interação significativa entre o EDTA e a giberelina para os parâmetros altura, diâmetro, área foliar, massa seca da raiz e conteúdo de Pb na raiz (Tabela 3).

A aplicação do ácido giberélico (GA_3) influencia diretamente no crescimento da planta, afetando principalmente sua altura, uma vez que se relaciona positivamente ao crescimento do caule, podendo proporcionar assim considerável crescimento (CAMPOS et al., 2009; LAVAGNINI et al., 2014). O GA_3 quando externamente aplicado, provoca a indução do crescimento caulinar, aumentando tanto o número das células como o tamanho, alterando assim as propriedades da parede celular, permitindo que o alongamento e a divisão celular sejam induzidos (LEITE et al., 2003; TAIZ e ZEIGER, 2013).

No presente estudo pôde-se verificar que a concentração mais elevada de giberelina aplicada na planta, proporcionou maior incremento em altura (Tabela 3). Torres e Borges (2013) em seu trabalho com pimenta (*Capsicum frutescens*) testaram três doses de giberelina e observaram que entre as concentrações de 25, 50 e 100 mg L^{-1} , a pulverização do biorregulador obteve o melhor resultado, quanto à variável altura na concentração de 50 mg L^{-1} de GA_3 , porém os autores observaram que a aplicação de giberelina influenciava positivamente no diâmetro da planta, fato não observado no presente estudo, no qual apenas a aplicação de EDTA no solo se mostrou significativa, sendo maior com a aplicação do agente quelante. Jezler et al. (2015), também observaram em seu trabalho com *Mentha arvensis* que a aplicação isolada de Pb no solo, proporcionou um acréscimo em diâmetro da planta. Neste sentido, a possível

disponibilidade do chumbo no solo gerada pela aplicação do EDTA pode ter acarretado uma maior absorção do metal e maior incremento em diâmetro da planta.

Tabela 3. Altura, diâmetro do caule, massa seca da raiz (MSR) e área foliar de plantas de feijão-de-porco cultivadas em solo artificialmente contaminado com 1200 mg kg⁻¹ de Pb, sobre efeito da aplicação de giberelina e EDTA, após 60 dias de cultivo

Dose de GA ₃ (mg L ⁻¹)	Altura (cm)	Área Foliar (cm ²)	
50	85 ab	617 a	
100	72 b	476 b	
150	94 a	467 b	

EDTA (g kg ⁻¹)	Diâmetro (mm)	MSR (g)	Área Foliar (cm ²)
0,00	5,15 b	0,707 b	476 b
0,89	5,68 a	0,803 a	564 a

Médias seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

A redução da área foliar, ao se aplicar doses crescentes de GA₃, apesar de ser considerado um sintoma de toxidez por chumbo, pode também ser reflexo da aplicação do hormônio na planta, que induz a um crescimento acelerado da cultura e acréscimo em altura, no entanto podendo refletir em uma menor área foliar da planta (SANDOVAL, 1999, citado por CARVALHO et al, 2005). Doses de GA₃ não influenciaram significativamente na massa seca da raiz, demonstrando a significância somente da aplicação do EDTA no solo, dessa forma sua presença pode ter favorecido o sistema radicular da planta. Em contrapartida, Gabos et al. (2009) em seu trabalho com feijão-de-porco cultivado em solo contaminado com chumbo percebeu que a aplicação do EDTA promove uma redução na massa seca da raiz.

Tabela 4. Massa seca da parte aérea e produção relativa de plantas de feijão-de-porco cultivadas em solo artificialmente contaminado com 1200 mg kg⁻¹ de Pb, sobre efeito da aplicação de giberelina e EDTA, após 60 dias de cultivo

Dose de GA ₃ (mg L ⁻¹)	MSPA (g planta)		Produção Relativa (%)	
	Ausência de EDTA	Presença de EDTA	Ausência de EDTA	Presença de EDTA
50	3,73 a B	6,15 a A	73,79 a B	121,56 a A
100	4,30 a A	4,56 b A	85,05 a A	90,22 b A
150	3,43 a B	5,03 ab A	67,83 a B	99,56 ab A

Médias seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade. Letras minúsculas, referem-se à comparação entre colunas e letras maiúsculas, comparação entre linhas.

A giberelina, quando aplicada sem o EDTA, não afetou a massa seca da parte aérea e a produção relativa. A aplicação do EDTA promoveu um aumento na MSPA e na PR e na interação entre as duas aplicações destacaram-se as doses de 50 e 150 mg L⁻¹ de GA₃. A aplicação de doses crescentes de giberelina, na ausência do EDTA, permitiu um acréscimo nos valores de clorofila (Tabela 5). Tal fato é explicado por Schippers et al. (2007) ao relatar que a giberelina inibe, juntamente com a citocinina presente na planta, a degradação da clorofila, uma vez que as giberelinas ajudam no retardamento da senescência foliar e degradação da clorofila. Tal fato também foi observado por Ali e Hadi (2015) em seu trabalho com *Parthenium hysterophorus* cultivado em solo contaminado com cádmio, a aplicação de giberelina ocorria um acréscimo significativo nos teores de clorofila, no entanto, os autores relatam que a aplicação do EDTA, diferentemente do presente estudo, não influenciou nos valores de clorofila da planta. O chumbo na planta pode modificar a síntese da clorofila, ao interferir na absorção de Fe e Mg, afetando a produção de moléculas de clorofila (DRAZKIEWICZ, 1994).

Tabela 5. Concentração de clorofila a e b e total do feijão-de-porco cultivadas em solo contaminado por Pb, sobre aplicação de giberelina e EDTA, após 60 dias

Dose de GA ₃ (mg L ⁻¹)	Clorofila a		Clorofila b		Clorofila Total	
	Ausência de EDTA	Presença de EDTA	Ausência de EDTA	Presença de EDTA	Ausência de EDTA	Presença de EDTA
50	25,43 b A	27,87 a A	8,52 b A	9,80 a A	33,95 b A	37,67 a A
100	29,77 a A	28,17 a A	10,23 b A	9,50 a A	40,0 ab A	37,67 a A
150	31,77 a A	28,60 a B	13,40 a A	9,85 a B	45,17 a A	38,45 a B

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade. Letras minúsculas, referem-se à comparação entre colunas e letras maiúsculas, comparação entre linhas.

Não foi observada interação significativa entre a aplicação de EDTA no solo e a aplicação foliar de giberelina no conteúdo de Pb na raiz da planta de feijão-de-porco, ocorrendo significância apenas para a aplicação de EDTA (Tabela 6). Similarmente, Gabos et al. (2009), observaram que o chumbo presente no sistema radicular do feijão-de-porco, após 60 dias de cultivo em solo artificialmente contaminado, foi menor quando se procedeu a aplicação de EDTA, o que foi atribuído à afinidade na ligação do quelante com o metal, que permite um melhor transporte para a parte aérea da planta e menor acúmulo na raiz.

O conteúdo de chumbo na parte aérea da planta aumentou significativamente com a aplicação do EDTA, por consequência da complexação do Pb e seu transporte

após absorção pela raiz. O tratamento em que se obteve o maior conteúdo do Pb na parte aérea da planta foi onde houve a aplicação do EDTA associado a 50 mg L⁻¹ de giberelina, com um acúmulo estatisticamente superior aos demais.

Tabela 6. Conteúdo de chumbo na raiz(R) e parte aérea (PA), e porcentagem de chumbo acumulado na parte aérea e na raiz de feijão-de-porco cultivadas em solo contaminado com 1200 mg kg⁻¹ de Pb, após 60 dias, sobre influência da aplicação de giberelina e EDTA

EDTA (g kg ⁻¹)		Conteúdo de chumbo na raiz (mg planta ⁻¹)	
0,00		3,28 a	
0,89		3,14 b	

GA ₃ (mg L ⁻¹)	Conteúdo de Pb na parte aérea (mg planta ⁻¹) EDTA (g kg ⁻¹)		Conteúdo de Pb PA/R (%) EDTA (g kg ⁻¹)	
	0	0,89	0	0,89
50	0,35 a B	2,61 a A	10/90	45/55
100	0,41 a B	1,24 c A	11/89	28/72
150	0,38 a B	1,96 b A	11/89	42/58

Médias seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade. Letras minúsculas, referem-se à comparação entre colunas e letras maiúsculas, comparação entre linhas.

É observado que a aplicação do EDTA promoveu um redirecionamento do metal do sistema radicular, permitindo que o Pb seja transportado para a parte aérea (Tabela 6). A formação do quelato permite que por meio de pelo menos duas ligações que ocorrem entre o metal e o agente quelante, o contaminante fique de forma inativa no interior da planta, uma vez que se encontra em forma de um complexo solúvel e estável (SADAO, 2002; MOREIRA e MOREIRA, 2004). No entanto, acredita-se que a quantidade de EDTA aplicado no solo não tenha sido suficiente para complexar todo o metal adicionado, uma vez que a relação de complexação entre Pb: EDTA é de 1:1 (LINDSAY, 1979) e no presente estudo esta relação foi elevada para 2:1. A ausência do EDTA no solo promove uma menor porcentagem de Pb acumulado na parte aérea da planta, no entanto quando aplica-se o agente quelante tal valor é aumentado e observa-se que o chumbo, exceto na dose de 100 mg L⁻¹, encontrado na parte aérea aumenta de 10 a 11 para 45 e 42 %.

Quando observada apenas a aplicação da giberelina, sem a presença de chumbo, Matos et al. (2015), Modesto et al. (1996) e Souza e Borges (2014), perceberam um comportamento diferente do que o encontrado no presente estudo, ao compararem a aplicação da giberelina nas doses de 50, 100 e 150 mg L⁻¹ obtiveram que as melhores respostas foram obtidas nas concentrações de 100 e 150 mg L⁻¹, tal fator foi

atribuído ao maior crescimento das espécies estudadas. Segundo Taiz e Zeiger (2013), a giberelina aplicada exogenamente na planta proporciona uma maior divisão celular, alongamento do caule, além de estimular o alongamento das células aumentando assim, a permeabilidade da parede celular. Estudos como o de Wierzbicka e Antosiewicz (1993), comprovam que o Pb ao ser absorvido pela planta acumula-se principalmente no vacúolo e na parede celular e em altas concentrações interfere na estrutura da parede celular, danificando-a e tendo acesso ao interior da célula, alterando e reduzindo suas funções.

No presente estudo, a dose de 50 mg L⁻¹ de giberelina apresentou os melhores resultados de conteúdo de chumbo na parte aérea, na presença do EDTA, porém não se diferenciou estatisticamente dos demais quanto ao acumulado do metal no sistema radicular. Estes resultados sugerem que a aplicação da giberelina, nas duas maiores doses, possa ter aumentado a permeabilidade da parede celular, como proposto por Taiz e Zeiger (2013), e o Pb aplicado, ao se localizar na parede celular da planta e ali encontrar uma maior permeabilidade, possa ter influenciado nas funções da mesma ao ter acesso ao interior das células, assim como evidenciado por Wierzbicka e Antosiewicz (1993).

Lopes et al. (2007) observaram que o EDTA facilita a entrada do Pb no interior da planta ampliando seu poder de translocação e reduzindo seu potencial contaminador, permitindo assim um maior acúmulo do metal na parte aérea da planta, contudo parte do Pb pode ser absorvida na forma não complexada. Os autores relatam que a associação do quelante com a giberelina promove a formação de um complexo que é translocado no interior da planta. A interação significativa entre a aplicação de giberelina e EDTA no cultivo do feijão-de-porco em solo com 1200 mg kg⁻¹ de Pb no solo, foi novamente observada na eficiência da planta em absorver o Pb do solo (Tabela 7).

Tabela 7. Índice de translocação de chumbo no solo para a parte aérea da planta de feijão-de-porco e da eficiência da mesma em absorver o chumbo encontrado no solo, sobre efeito da aplicação do EDTA e da giberelina

Giberelina (mg L ⁻¹)	Eficiência %	
	EDTA (g kg ⁻¹)	
	0,00	0,89
50	0,0120 a B	0,0807 a A
100	0,0128 a B	0,0369 c A
150	0,0125 a B	0,0619 b A

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade. Letras minúsculas, referem-se à comparação entre colunas e letras maiúsculas, comparação entre linhas.

A eficiência da planta em absorver o chumbo encontrado no solo foi potencializada pela aplicação do EDTA, juntamente com a dose de 50 mg L⁻¹ de giberelina, que se diferiu estatisticamente das demais doses aplicadas e proporcionou uma maior extração do metal pela planta. O sinergismo da aplicação dos dois agentes indutores da fitorremediação aumentou o poder de extração do Pb. Hadi et al. (2010) também observaram que a aplicação conjunta do EDTA e do GA₃ permitiu à planta de milho, quando cultivada em solo contaminado com chumbo, uma maior absorção do metal.

Hadi et al. (2010), também observaram que a aplicação do EDTA proporcionou uma maior translocação do metal para a parte aérea da planta, porém, quando aplicado sem a adição da giberelina proporcionou um menor ganho em massa seca. A giberelina, por estimular a divisão celular, possibilita que a planta não tenha seu crescimento prejudicado, de forma que quando aplicados combinados, cada elemento possa anular os efeitos negativos do outro, aumentando dessa forma a mobilidade e a quantidade de chumbo absorvida e translocada para a parte aérea da planta, aumentando sua eficiência em fitorremediar solos contaminados com chumbo. A giberelina, como hormônio vegetal, exerce a função de regulação da intensidade e da orientação do crescimento, da atividade metabólica, do transporte, do estoque e da mobilização de materiais nutritivos (LARCHER, 2006).

Um maior acúmulo de Pb na parte aérea, permite uma melhor retirada do contaminante do ambiente desejado, podendo transportar este material ao destino adequado. Diferentemente da quantidade de chumbo que permanecerá acumulada na raiz, esta por sua vez se estabilizada dentro de materiais orgânicos ficará menos disponível à absorção de novas culturas, e a parte aérea contaminada com o chumbo poderá ser retirada inteiramente do ambiente, podendo receber vários destinos.

Alguns destinos têm sido sugeridos para plantas fitorremediadoras, como a incineração do material vegetativo seco, neste caso o contaminante se reduzirá a um volume muito pequeno, o qual pode ser mais facilmente descartado em local apropriado. Outras alternativas que também se destacam e permitem uma fitoextração mais sustentável parte da ideia de diluição do material contaminante e aplicação deste em locais sem riscos de ingestão humana, neste processo tem sido sugerido a compostagem do material e distribuição deste em grandes áreas, com a finalidade de diluir o contaminante, podendo também ser usado como substrato na floricultura.

3.3. Balanço Nutricional

Dentre os elementos analisados, não foi observada a presença de sódio na planta. Quanto aos valores de fósforo foi possível observar que a aplicação da giberelina não afetou significativamente as concentrações foliares do elemento, no entanto, foi observada uma influência positiva do agente quelante, na absorção de P pela planta, porém, não o suficiente para elevar a concentração de fósforo aos considerados ideais por Prezotti et al (2007), (Tabela 8). Tal fato pode ser explicado pela precipitação do macronutriente associado ao metal, uma vez que a combinação do Pb^{2+} com o ânion $H_2PO_4^-$ presente de forma livre na solução do solo forma um precipitado insolúvel do metal (KABATA-PENDIAS E PENDIAS, 2000). A presença de chumbo no solo em alta concentração pode ter interferido e proporcionado a ligação entre os elementos e limitado a concentração de fósforo absorvido pelas plantas. Porém, não se pode desconsiderar a forte adsorção do elemento nos coloides do solo, principalmente em solo altamente intemperizado, como é o caso do estudo, acarretando assim em uma baixa disponibilidade deste elemento na solução do solo (NOVAIS et al, 2007). Apesar da concentração de fósforo encontrado na folha estar abaixo do recomendado, não foi observado sintoma de deficiência do elemento na planta.

Tabela 1. Concentrações foliares de macronutrientes encontrados na planta de feijão-de-porco após 60 dias de cultivo em solo contaminado com chumbo

Tratamento		P	Ca	Mg	K
		Valores ideais ¹			
		0,2 - 0,3	1,5 - 2,0	0,4 - 0,7	2,0 - 2,5
EDTA	GA ₃	----- dag kg ⁻¹ -----			
g kg ⁻¹	mg L ⁻¹				
0	50	0,096 ± 0,011 aB	0,64 ± 0,014 A	0,20 ± 0,014 aB	3,45 ± 0,08 A
0	100	0,106 ± 0,013 aB	0,60 ± 0,067 A	0,20 ± 0,005 aB	3,50 ± 0,13 A
0	150	0,113 ± 0,025 aB	0,57 ± 0,017 A	0,19 ± 0,003 aB	3,65 ± 0,07 A
0,89	50	0,132 ± 0,019 aA	0,59 ± 0,040 A	0,32 ± 0,050 aA	3,55 ± 0,08 A
0,89	100	0,138 ± 0,009 aA	0,59 ± 0,094 A	0,32 ± 0,050 aA	3,55 ± 0,05 A
0,89	150	0,159 ± 0,019 aA	0,57 ± 0,076 A	0,32 ± 0,068 aA	3,56 ± 0,32 A

Médias nas colunas seguidas pela mesma letra não diferenciam entre si pelo teste de Tukey em 5% de probabilidade. Letras minúsculas, comparação entre a mesma dose de EDTA. Letras maiúsculas, comparação entre a presença ou ausência de EDTA.

¹Prezotti et al (2007).

Não foi encontrada diferença estatística nas concentrações de cálcio e potássio nas folhas de feijão-de-porco cultivado em 1200 mg kg⁻¹ de Pb, mostrando que a

aplicação de EDTA ou giberelina não influenciou em suas concentrações. Os valores de potássio foram superiores ao considerado ótimo para o desenvolvimento da cultura, podendo ser associado à elevada dose do elemento que foi aplicada no solo. Apesar de não apresentar diferença estatística, as baixas concentrações de cálcio podem ser associadas à aplicação da giberelina na planta, uma vez que a mesma faz uso deste elemento na transcrição da α -amilase e como mensageiro a muitos de seus estímulos, translocando-o em sua maior concentração para o caule da planta (TAIZ e ZEIGER, 2004), como atividade do transporte, do estoque e da mobilização de materiais nutritivos (LARCHER, 2006).

4. CONCLUSÕES

- A aplicação do EDTA e GA_3 influenciou positivamente nos parâmetros morfológicos sendo que doses de 50 e 150 mg L⁻¹ de GA_3 , associadas à aplicação do EDTA proporcionaram um maior crescimento do feijão-de-porco em condição de alta contaminação de Pb no solo;
- A fitorremediação induzida pelo efeito da GA_3 na planta e EDTA no solo permitiu uma maior complexação do metal e maior transferência para a parte aérea da planta;
- A interação da dose de 890 mg Kg⁻¹ EDTA e 50 mg L⁻¹ de GA_3 aumentou a absorção do Pb a eficiência da planta em fitorremediar o solo contaminado.

5. REFERÊNCIAS

ABREU, C. A. de; ABREU, M. F.; BERTON, R. S. Análise química de solo para metais pesados. In: **Tópicos em Ciência do Solo, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, v.2, p. 645-692, 2002.

ALI, N.; HADI, F. Phytoremediation of cadmium improved with the high production of endogenous phenolics and free proline contents in *Parthenium hysterophorus* plant treated exogenously with plant growth regulator and chelating agente. **Environ SciPollut Resv.** 22, p. 13305-13318, 2015.

ANDRADE, C. A. B.; SCAPIM, C. A.; BRACCINI, A. de L.; MARTORELLI, D. T. Produtividade, Crescimento e partição de matéria seca em duas cultivares de feijão. **Acta scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 4, p. 683-688, 2009.

BATISTA, A. A. **Seleção de espécies com potencial fitorremediador de chumbo.** Dissertação (Mestrado em Solos e Qualidade de Ecossistemas). Universidade Federal do Recôncavo Baiano, Cruz das Almas – BA.2013.

BATISTA, D. C. A. **Comportamento fisiológico e bioquímico em plantas de *Batis maritima* L. (bataceae) sob efeito de chumbo e seu potencial fitoextrator.** Dissertação (Mestrado em Ciências Naturais). Universidade do Estado do RioGrande do Norte – RN.2015.

CAMPOS, M.F.; ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D. Desenvolvimento da parte aérea de plantas de soja em função de reguladores vegetais. **Revista Ceres.** v. 56,p. 74-79, 2009.

DAYKIN, A.; SCOTT, I.M.; FRANCIS, D.; CAUSTON, D.R. Effects of gibberellin on the cellular dynamics of dwarf pea internode developpement. **Planta**, v. 203, p. 526-535, 1997.

FIORI, A.A.; ABREU, M.F.; COSCIONE, A.R.; ANDRADE, C.A.; ABREU, C.A. Degradabilidade dos agentes quelantes EDTA e EDDS após aplicação no solo. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 2, p.424-431, 2011.

GABOS, M. B.; ABREU, C. A.; COSCIONE, A. R. EDTA assisted phytoremediation of a Pbcontaminated soil: metal leaching and uptake by jack beans. **Scientia Agrícola** (USP. Impresso), v. 66, p. 506-514, 2009.

HADI, F.; BANO, A.; FULLER, M.P. The improved phytoextraction of lead (Pb) and the growth of maize (*Zea mays* L.): the role of plant growth regulators (GA3 and IAA) and EDTA alone and in combinations. **Chemosphere**, v. 80, p. 457-462, 2010.

JEZLER, C.N.; MANGABEIRA, P.A.O.; ALMEIDA, A.F.; JESUS, R.M.; OLIVEIRA, R.A.; SILVA, D.C.; COSTA, L.C.B. Pb and Cd on growth, leaf ultrastructure and essential oil yield mint (*Mentha arvensis* L.). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.45, n.3, p.392-398, mar, 2015.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soil and plants**. 3. ed. Boca Raton: CRC press, Florida. 331p. 2000.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soil and plants**. 4. ed. Boca Raton: CRC press, Florida. 501p. 2010.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima, p.295-338.2006.

LEITE, V.M.; ROSOLEM, C.A.; RODRIGUES, J.D. Gibberellin and cytokinineffectson soybean growth. **Scientia Agricola**, v.60, n.3, p.537-541, Jul./Sept. 2003.

LINDSAY, W.L. **Chemical equilibria in soils**. New York: John Wiley & Sons, 1979. 449p.

MATOS, F.S.; SILVA, D.Z.; SOUZA, B.R.; MOURA, D.R.; LOPES, V.A.; CARVALHO, D.D.C.; ARAUJO, M.S. Análise de crescimento, incidência de *Rhizoctonia sp.* e efeitoantixenose para a formiga-cortadeira *Atta sexdensrubropilosa* f. em clones de *Eucalyptusgrandis* x *Eucalyptusurophylla* tratados com giberelina. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.39, n.5, p.915-922, 2015.

MODESTO, J.C.; RODRIGUES, J.D.; PINHO, S.Z. Efeito do ácido giberélico sobre o comprimento e diâmetro do caule de plântulas de limão `cravo' (*CitruslimoniaOsbeck*). **ScientiaAgricola**. v. 53 n. 2-3, Piracicaba – SP, may/dec. 1996

MOREIRA, F.R.; MOREIRA, J.C. A cinética do chumbo no organismo humano e sua importância para a saúde. **Ciência saúde coletiva** vol.9, n.1, Rio de Janeiro, 2004.

NOVAIS, R.F.; NEVES, J.C.L. e BARROS, N.F. Ensaio em ambiente controlado. In: OLIVEIRA, A. J.; GARRIDO, W. E.; ARAÚJO, J. D.; LOURENÇO, S. **Métodos de pesquisa em fertilidade do solo**. EMBRAPA-SAE, Brasília, p.189-254, 1991.

NOVAIS, R.F.; SMYTH, T.J. & NUNES, F.N. Fósforo. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B. & NEVES, J.C.L. **Fertilidade do Solo**. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p.276-374.

PAIVA, H.N.; CARVALHO, J.G.; SIQUEIRA, J.O. Índice de translocação de nutrientes em mudas de cedro (*Cedrelafissilis*Vell.) e de ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* Mart. Standl.) submetidas a doses crescentes de cádmio, níquel e chumbo. **Revista Árvore**, v.26, p.467-473, 2002.

PREZOTTI, L. C.; GOMES, J. A., DADALTO, G. G.; OLIVEIRA J.A. **Manual de Recomendação de calagem e adubação para o Estado do Espírito Santo - 5º aproximação**. Vitória, SEEA/Incapar/Cedagro. 305p, 2007.

SADAO, M. Intoxicação por chumbo. **Revista de Oxidologia**, Jan/Fev/Mar 2002.

SANTOS, N.M.; ACCIOLY, A.M.A.; NASCIMENTO, C.W.A.; SILVA, I.R.; SANTOS, J.A.G. Biodisponibilidade de chumbo por extratores químicos em solo tratado com ácidos húmicos e carvão ativado. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 4, p. 663-668, out-dez, 2015.

SCHIPPERS, J. H. M.; JING, H.; HILLE, J.; DIJKWEL, P.P. Developmental and Hormonal Control of Leaf Senescence. In: **Annual Plant Reviews: Senescence Processes in Plants**. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 2007. v.26, p.145-170.

SHARMA, P.; DUBEY, R.S. Lead toxicity in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 17, p. 35-52, 2005.

SOUZA, G.S.; BORGES, K.C.S. Influência de fitorreguladores e do tipo de cultivo no crescimento de *Ocimum basilicum*. **Cadernos UniFOA**. 24 ed., 2014.

SOUZA, S. C. R. de. **Tolerância aos metais pesados chumbo e zinco e potencial fitorremediador de mudas de espécies arbóreas**. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal). Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal.2010.

TAIZ; L; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**.5 ed. Porto Alegre: ARTMED, 2013. 820 p.

WIERZBICKA, M.; ANTOSIEWICZ, D. How lead can easily enter the food chain – a study of plant roots. **The Science of the total environment**, Washington, v.1, p.423 - 429, 1993.

YAMAGUCHI, S. Gibberellin metabolism and its regulation. **Annu. Rev. Plant Biol.** 59, p. 225-251, 2008.

APÊNDICE

Apêndice II- Análise de variância dos parâmetros avaliados no Capítulo I, em nível de 5% de probabilidade.

	GL	H	D	CA	CB	CT	AF	MSR	MSPA	PR
Bloco	3	701,52	0,0368	5,4254	174,81	46,48	5080	0,002	1,0003	101,2415
EDTA	5	835,83*	0,3367	3,1771	131,11	21,51	9182	0,0195*	1,2835	129,9081
Chumbo	5	12296,98*	1,3505*	27,9181*	49,00	143,83*	653183*	0,04072*	101,137*	10236,16*
EDTA x Chumbo	25	386,52	0,0458	5,5644	110,14	22,14	18844*	0,01885*	1,5042*	152,2503*
Resíduo	105	278,6	0,1941	3,6973	115,68	13,87	6138	0,0051	0,6273	63,3355
Média		108,09	6,29	32,27	15,41	46,87	860	0,8361	8,1939	82,43
CV (%)		15,35	0,99	5,95	68,75	7,94	9,1	8,55	9,65	9,65

	GL	Conc. R	Cont. R	Conc. PA	Cont. PA	IT	EF
Bloco	3	142054	0,0834	13516	0,2201	102,44	7,02E-04
EDTA	5	46324*	0,677*	273407*	4,1844*	4884,76*	0,1623E-01*
Chumbo	5	3,114E+07*	22,1672*	748143*	7,5174*	18610,68*	0,2438E-01*
EDTA x Chumbo	25	121211*	0,1597*	31230*	0,4015*	289,89*	0,1508E-02*
Resíduo	105	64847	0,0434	2357	0,0674	29,61	2,46E-04
Média		970,79	0,8036	233,9	0,8618	47,64	0,05632
CV (%)		26,23	25,93	20,75	30,12	11,42	27,82

*Significativo em 5% de probabilidade. H= altura; D=diâmetro; CA= clorofila a; CB= clorofila b; CT= clorofila Total; AF= área foliar; MSR= massa seca da raiz; MSPA= massa da parte aérea; PR= produção relativa; Conc. R= concentração de chumbo na raiz; Cont. R= conteúdo de chumbo na raiz; Conc. PA= concentração de chumbo na parte aérea; Cont. PA= conteúdo de chumbo na parte aérea; IT= índice de translocação; EF= eficiência.

Apêndice III- Análise de variância dos parâmetros avaliados no Capítulo II, em nível de 5% de probabilidade.

	GL	H	D	CA	CB	CT	AF	MSR	MSPA	PR
Bloco	3	19,88	0,7356	5,67	3,19	17,15	2020	4,15E-03	0,4171	162,81
GA3	5	985,54*	0,0671	25,79*	12,86*	71,19*	56598*	1,23E-02	1,0654	415,8
EDTA	5	10,66	1,6695*	3,62	6,03	19,01	46816	5,59E-02*	12,2449*	4778,91*
GA3xEDTA	25	98,29	0,4177	16,79	11,74*	54,98	14482	1,08E-02	2,3716*	925,61*
Resíduo	105	95,15	0,3344	3,77	2,4	11,05	7862	1,14E-02	0,3844	150,04
Média		84,3	5,42	28,6	10,21	38,82	520,25	0,7551	4,54	89,67
CV (%)		11,56	10,66	6,78	15,18	8,56	17,04	14,15	13,66	13,66

	GL	Conc. R	Cont. R	Conc. PA	Cont. PA	EF
Bloco	3	421720	0,1637	1293,44	8,30E-02	8,04E-05
GA3	5	565374	0,1481	42054,09*	0,8543*	9,31E-04*
EDTA	5	2915671*	0,1234*	2079111*	14,5588*	1,34E-02*
GA3xEDTA	25	512862	0,1874	48263*	1,0193*	1,00E-03*
Resíduo	105	185750	0,288	5469	6,31E-02	6,27E-05
Média		4297,5	3,21	473,5	1,16	3,61E-02
CV (%)		10,02	16,71	15,61	21,62	21,93

*Significativo em 5% de probabilidade. H= altura; D=diâmetro; CA= clorofila a; CB= clorofila b; CT= clorofila Total; AF= área foliar; MSR= massa seca da raiz; MSPA= massa da parte aérea; PR= produção relativa; Conc. R= concentração de chumbo na raiz; Cont. R= conteúdo de chumbo na raiz; Conc. PA= concentração de chumbo na parte aérea; Cont. PA= conteúdo de chumbo na parte aérea; IT= índice de translocação; EF= eficiência.