

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CAMPUS PROFESSORA CINOBELINA ELVAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**FITORREMEDIAÇÃO DE CHUMBO POR *Vernamia polyanthes* INOCULADA COM
FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES**

JOACIR MORAIS

BOM JESUS-PI
2019

**FITORREMEDIAÇÃO DE CHUMBO POR *Vernamia polyanthes* INOCULADA
COM FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES**

JOACIR MORAIS
Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. Cácio Luiz Boechat

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí-UFPI, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências Agrárias.

BOM JESUS-PI
2019

Ficha Catalográfica

M828f Morais, Joacir.
Fitorremediação de chumbo por *Vernamia polyanthes*
inoculada com fungos micorrízicos arbusculares. / Joacir
Morais. – 2019.
56 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí,
Campus Professora Cinobelina Elvas, Programa de Pós-
graduação em Agronomia, Área de Concentração (Produção
Vegetal), Bom Jesus-PI, 2019.

Orientação: “Prof. Dr. Cácio Luiz Boechat”.

1. *Vernamia Polyanthes*. 2. Metais Pesados.
3. Fitoestabilização. 4. Fitoextração. I. Título.

CDD 628.5

**FITORREMEDIAÇÃO DE CHUMBO POR *Vernamia polyanthes* INOCULADA
COM FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES**

Joacir Moraes

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia-Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí-UFPI, como parte dos requisitos para obtenção do Título de MESTRE EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS.

Aprovado em: 28/02/2019.

Prof. Dr. Cácio Luiz Boechat (Orientador)
UFPI/CPCE

Prof^a. Dr^a. Adriana Miranda de Santana Arauco (Examinadora)
UFPI/CPCE

Prof. Dr. Julian Junio de Jesus Lacerda (Examinador)
UFPI/CPCE

Prof. Dr. Filipe Selau Carlos (Examinador)
UFPEl

A minha mãe, meu pai (*in memoriam*), todos meus irmãos, especialmente, Alcir Morais, Pedro Morais, Alcilene Morais e Aldilene Morais pelo apoio constante e por sempre acreditarem em mim. Assim também como a minha esposa e ao meu querido filho Joan Kleber.

DEDICO

AGRADECIMENTO

Primeiramente a Deus, meus mentores e toda a espiritualidade superior, pôr todo auxílio, força, saúde e coragem para superar as dificuldades e assim realizar mais este sonho.

A minha família, minha mãe querida que sempre cuida de mim, meus entes queridos que já não estão mais aqui fisicamente (Aldeci Lopes de Moraes, José Moraes, Antônio Moraes e Felipe Alves Moraes) mas vivem no meu coração, meus irmãos queridos que muito me ajudam, apoiam, confiam, incentivam. A minha esposa Kelvia Ellen de Lima e ao meu tesouro, Joan Kleber, filho querido que sempre será meu maior incentivo para superar os obstáculos.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Cácio Luiz Boechat, pela orientação, que tornou possível a realização deste trabalho, por seus ensinamentos, com os quais aprendi muito, pelo apoio, amizade, paciência durante todos os meus erros, pela confiança e compreensão em alguns momentos conturbados na minha vida pessoal.

A prof^a Dr^a Adriana Miranda de Santana Arauco por ceder os fungos usados neste trabalho. Sempre simpática educada e acessível.

A todos os professores dos programas de pós-graduação em Agronomia/Fitotecnia e do programa de pós-graduação em Agronomia/Solo e nutrição de por todo o conhecimento compartilhado.

Aos colegas de pós-graduação, tanto da minha turma como os de outras turmas que foram parceiros no decorrer desta jornada. Especialmente Maria de Fátima Marques Pires, Dayane Gabriela de Lima Ribas, Joaquim Martins de Sousa Filho, Raimundo Henrique Ferreira Rodrigues que estiveram comigo desde o início e, sempre me ajudaram.

Aos técnicos de laboratório e administrativos, em especial, Estefenson Marques Moraes e Amanda Costa que foram fundamentais para a realização das análises, sempre prestativos.

Aos colegas do grupo de pesquisa MARS, pela ajuda e momentos de descontração. Em especial, Cíntia Bezerra Rocha e Daniela Fernandes de Oliveira (Dani).

A Universidade Federal do Piauí pela oportunidade de realizar a pós-graduação. Assim como a coordenação do programa de pós-graduação em Ciências Agrárias.

A Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA), pela concessão da bolsa de mestrado.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	i
GENERAL ABSTRACT	ii
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS	iiiv
CAPÍTULO 1	1
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Metais pesados no solo	3
2.2 Contaminação do ambiente por lixo eletrônico, pilhas e baterias.....	Erro!
Indicador não definido.5	
2.3 Biorremediação de metais pesados por Fungos micorrízicos arbusculares	6
2.4 Fitorremediação	7
2.5 <i>Vernonia polyanthes</i> e seu potencial na fitorremediação	9
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	10
CAPÍTULO II	16
RESUMO	16
ABSTRACT	17
1 INTRODUÇÃO	18
2 MATERIAL E MÉTODOS	19
2.1 Local	19
2.2 Obtenção do material vegetal e montagem do experimento	19
2.3 Tratamentos e Instalação do Experimento	20
2.5 Análises morfológicas em mudas de Assa-Peixe	20
2.6 Porcentagem de colonização micorrízica em raízes de Assa-Peixe	21
2.7 Extração e quantificação de clorofila <i>a</i> , <i>b</i> e <i>totais</i> , carotenóides, nas folhas de Assa-Peixe	21
2.8 Determinação dos macronutrientes e Pb em mudas de assa-peixe	22
2.9 Análise estatística	23
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
4 CONCLUSÃO	40
5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

RESUMO GERAL
FITORREMEDIÇÃO DE CHUMBO POR *Vernamia polyanthes* INOCULADA
COM FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES

RESUMO

A associação entre plantas e fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) pode ser utilizada para biorremediar áreas contaminadas pelo chumbo (Pb). Em geral, as espécies vegetais nativas são utilizadas nesse processo, devido principalmente a adaptação as condições adversas locais como clima, excesso de alumínio no solo, pH baixo, déficit hídrico, entre outras. Este estudo teve como objetivo avaliar a acumulação do chumbo e o potencial fitorremediador da assa-peixe em associação com fungos micorrízicos arbusculares. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados em esquema fatorial 4 x 3 sendo doses crescentes de Pb (0,0; 70; 180 e 300 mg L⁻¹) e duas estirpes de fungos micorrízicos arbusculares, *Acaulospora morrowiae* e *Gigaspora margarita* e um controle sem inoculação, com três repetições. O Pb afetou negativamente as variáveis morfológicas, reduziu em 27,3% o comprimento da parte aérea (CPA), 25,63% o diâmetro do coleto (DC), 30,60% o número de folha (NF), 56,60% a área foliar além de reduzir a quantidade de clorofila *a*. O Pb acumulou-se na parte aérea e nas raízes, sendo nestas as maiores concentrações. O fator de translocação (FT) ficou abaixo de 1, indicando pouca eficiência na translocação do metal pesado das raízes para a parte aérea. Os valores do fator de bioacumulação (FB), referentes as raízes ficaram acima de 1. A taxa de colonização dos fungos micorrízicos arbusculares foi baixa, sendo de 3,31% para *Gigaspora margarita* e 2,33% *Acaulospora morrowiae*. No entanto, aumentaram a absorção do Pb, refletindo em menores valores de clorofila *a*, massa seca da raiz e diâmetro, possivelmente por terem aumentado a absorção de Pb. Através dos resultados obtidos, a assa-peixe pode ser classificada como acumuladora de Pb no sistema radicular, podendo ser utilizada como fitoestabilizadora. Os fungos *Acaulospora morrowiae* e *Gigaspora margarita* aumentam a translocação de Pb podendo auxiliar na fitoextração.

PALAVRAS-CHAVE: *Vernamia polyanthes*, metais pesados, fitoestabilização, fitoextração.

GENERAL ABSTRACT
POISON PHYTOREMEDIATION BY VERNONIA POLYANTHES
INOCULATED WITH ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI

ABSTRACT

The association between arbuscular mycorrhizal plants and fungi (AMF) can be used to bioremediate areas contaminated with lead (Pb). In general, native plant species are used in this process, mainly due to adaptation to local adverse conditions such as climate, excess soil aluminum, low pH, water deficit, among others. This study aimed to evaluate the accumulation of lead and phytoremediation potential of assa-peixe inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi. The experimental design was a randomized complete block design in a 4 x 3 factorial scheme with increasing doses of Pb (0.0, 70, 180 and 300 mg L⁻¹) and two strains of arbuscular mycorrhizal fungi, *Acaulospora morrowiae* and *Gigaspora margarita*, and one control without inoculation, with three replicates. The Pb affected negatively the morphological variables, reducing the shoot length (SL), 25.63% of the collar diameter (CD), 30.60% of the number of leaf (NF), 56,60 % the leaf area in addition to reducing the amount of chlorophyll a. The Pb accumulated in the shoot and the roots, being in these the greater concentrations. The translocation factor (TF) was below 1, indicating little efficiency in the translocation of heavy metal from roots to shoot. The values of the bioaccumulation factor (BF), referring to the roots were above 1. The colonization rate of the arbuscular mycorrhizal fungi was low, being 3.31% for *Gigaspora margarita* and 2.33% *Acaulospora morrowiae*. However, they increased Pb uptake, reflecting lower values of chlorophyll a, root dry mass and diameter, possibly because they increased Pb uptake. Through the results obtained, plants of assa-peixe can be classified as Pb accumulator in the root system, and can be used as a phytostabilizer. The fungi *Acaulospora morrowiae* and *Gigaspora margarita* increase the translocation of Pb and can aid in phytoextraction.

KEY-WORDS: *Vernonia polyanthes*, heavy metals, phytostabilization, phytoextraction.

LISTA DE FIGURAS

- Figura I:** Influência de concentrações crescentes de chumbo no comprimento da parte aérea (a) e diâmetro do coleto (b), em plantas Assa-peixe.....27
- Figura II:** Influência de concentrações crescentes de chumbo em relação ao número de folhas (a) e área foliar (b), em plantas Assa-peixe.....28
- Figura III:** Influência de concentrações crescentes de chumbo em relação à massa fresca (a) e massa seca da parte aérea (b) de plantas de Assa-peixe.....29
- Figura IV:** Influência de concentrações crescentes de chumbo em relação ao volume das raízes (a) e massa fresca das raízes (b), em plantas Assa-peixe.....30
- Figura V:** Influência de concentrações crescentes de chumbo em relação à massa seca das raízes em plantas Assa-peixe.....31
- Figura VI:** Influência de concentrações crescentes de chumbo em relação à clorofila *a* em plantas Assa-peixe.....33
- Figura VII:** Teor de Pb (mg kg^{-1}) na biomassa da parte aérea em plantas Assa-peixe.....35
- Figura VIII:** Teor de Pb (mg kg^{-1}) na biomassa da raiz em plantas Assa-peixe.....36
- Figura IX:** Concentração de Ca na biomassa da raiz em plantas Assa-peixe submetidas a doses crescentes Pb.....39
- Figura X:** Concentração de Magnésio (Mg) na biomassa da raiz em plantas Assa-peixe submetidas a doses crescentes Pb.....40
- Figura XI:** Concentração Fosforo (a) e Potássio (b) na biomassa da raiz em plantas Assa-peixe submetidas a doses crescentes Pb.....41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Diâmetro, massa fresca da raiz e taxa de colonização micorrízica em mudas de assa-peixe expostas ao Pb (0 a 300 mg L⁻¹), em solução nutritiva.....34

Tabela II. Fatores de bioacumulação (FB) e translocação (FT) de Pb em plantas Assa-peixe cultivadas em sistema hidropônico, submetido a diferentes concentrações de chumbo (Pb).....38

Tabela III Coeficientes de correlação Pearson entre a concentração de chumbo e a concentração de macronutrientes na parte aérea de mudas de Assa-peixe.....42

Tabela IV - Coeficientes de correlação de Pearson entre a concentração de chumbo e a concentração de macronutrientes nas raízes de mudas de Assa-peixe cultivadas em diferentes concentrações de chumbo.....42

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO GERAL

Juntamente com outros países, o Brasil possui graves problemas referentes ao descarte de resíduos sólidos, pois na maioria das áreas urbanas e nas zonas rurais esses resíduos são descartados juntos com o lixo doméstico, contaminando o ar, o solo, córregos e até mesmo as águas subterrâneas (FRANÇA & RAURO, 2008). Além do descarte inadequado dos resíduos sólidos, no Piauí, outra fonte de poluição por metais pesados são os adubos químicos e agroquímicos, reflexo do crescimento da área de cultivo no estado.

A exposição humana ao chumbo (Pb), pode resultar em sérios agravos à saúde como, encefalopatia e até a morte em níveis acima de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ (FERRON, 2010). Estes são alguns dos vários motivos que levou o Pb a ocupar o topo da lista de substâncias perigosas, Priority List of Hazardous Substances da Agência para Registro de Substâncias Tóxicas e Doenças (ATSDR, 2015).

Os solos contaminados por metais pesados precisam ser remediados para assim atenuar seus efeitos danosos aos mais diferentes ecossistemas. Existem várias estratégias de remediação que podem ser utilizadas com essa finalidade, como por exemplo, remediação física, química e biológica (MANI & KUMAR, 2014). A remediação biológica inclui a fitorremediação, biorremediação e a combinação entre eles (BOECHAT, 2014). Essa tecnologia quando comparada com as demais é considerada relativamente econômica, ecológica e viável (CHAKRABORTY et al., 2012).

A utilização de plantas na biorremediação de metais pesados é conhecida como fitorremediação. Nessa tecnologia as plantas são responsáveis por degradar, extrair, conter ou imobilizar contaminantes do solo e da água (VASCONCELLOS et al., 2012). Devido à grande biodiversidade de plantas e ao clima, que favorecem os processos biológicos no tratamento, o Brasil, apresenta grande potencial na recuperação de áreas contaminadas por metais pesados através da fitorremediação (MARQUES et al., 2011).

Evidências crescentes mostraram que os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) são capazes de auxiliar a fitorremediação de áreas contaminadas com metais, tornando os metais mais disponíveis para a absorção pelas plantas ou reduzindo a toxicidade dos metais para as plantas hospedeiras (CONINX et al., 2017).

No presente estudo, a espécie *Vernamia polyanthes* foi selecionada por ser uma planta nativa do Brasil, pouco estudada, adaptada a condições adversas como, solos de baixa fertilidade e ácidos, frequentemente encontrada em lixões e próximo de rodovias. Além disso, Pereira et al. (2013), avaliando o potencial fitorremediador de plantas predominantes na área do lixão em Inconfidentes, no estado de Minas Gerais, concluíram que dentre as espécies analisadas a *Vernamia Polysphaera* foi a que acumulou maior quantidade de cromo na parte aérea, mesmo o cromo estando em baixas concentrações no solo.

O chumbo, por ser um metal extremamente tóxico, possuir baixa mobilidade, ser considerado bioacumulador, permanecer por milhares de anos nos solos, o que potencializa os riscos de contaminação do lençol freático podendo causar danos ao meio ambiente e ao ser humano, objetiva-se com esse trabalho determinar o potencial fitorremediador da *Vernamia polyanthes* associada a fungos micorrízicos arbusculares como alternativa eficaz na biorremediação do Pb.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Metais pesados no solo

Com a grande quantidade de indústrias, e enormes áreas cultivadas, há riscos de contaminação dos produtos químicos tóxicos e metais pesados no ambiente (SARWAR et al., 2017). A poluição, especialmente por metais pesados, é uma grave ameaça, pois estão continuamente se acumulando no meio ambiente não sendo biodegradáveis podendo entrar na cadeia alimentar sendo assim uma grave ameaça à saúde humana (SARWAR et al., 2010).

Os metais podem ser encontrados no solo em baixas concentrações, no entanto, mesmo em baixas concentrações podem vir a constituir como fonte potencial para a poluição do solo (MARTINS et al., 2011). De acordo com esses mesmos autores, os metais pesados ou “metais-traços” apresentam número atômico maior que 20 e densidade superior a 5 mg cm^{-3} .

Alguns metais pesados como o zinco (Zn), cobre (Cu), níquel (Ni), molibdênio (Mo), manganês (Mn), e ferro (Fe) são elementos essenciais, exigidos em muitas funções estruturais e bioquímicos em plantas, incluindo o crescimento das plantas, reações de redução da oxidação, transporte de elétrons e muitos outros processos metabólicos (KABATA-PENDIAS, 2011). Metais não essenciais como chumbo (Pb), cádmio (Cd), mercúrio (Hg) e arsênico (As) não apresentam função biológica conhecida, sendo tóxicos para as plantas mesmo em baixas concentrações (SHAHID et al., 2017).

Dentre os metais pesados contaminantes encontra-se o chumbo (Pb), que é considerado extremamente tóxicos apresentando maior riscos à população, sendo responsável por provocar alterações bioquímicas deletérias ao organismo humano (MAZZUCO, 2008). Sendo considerado como responsável por grave problema ambiental, devido à sua persistência e ao elevado poder de toxicidade (BERTOLI et al., 2011). Em ambientes com excesso de Pb, as plantas apresentam vários sintomas de toxicidade, como clorose e escurecimento do sistema radicular resultando em redução no desenvolvimento da parte aérea (ROMEIRO et al., 2007).

Conhecido pelo símbolo Pb, apresentando número atômico 82, na classificação periódica dos elementos químicos pertence ao grupo IV A. Considerado um metal pesado com massa específica maior que $10,0 \text{ g cm}^{-3}$ e tóxico (HOLZBACH et al., 2012).

O uso de gasolina aditivada com a utilização de Pb, foi um dos principais responsáveis pelo aumento dos níveis de Pb no meio ambiente (KUNO, 2009). Esse metal tem sido considerado o responsável por uma série de problemas ambientais como a contaminação do solo, perda da vegetação, contaminação de águas superficiais e lençol freático, assim como a toxicidade para microrganismos, animais e humanos (ALVES et al., 2008). Por não ser metabolizado pelos animais e ser bioacumulado no organismo, o Pb acaba afetando mais aos animais que se encontram no topo da cadeia alimentar, incluindo o homem (LOURENÇO & LANDIM, 2005).

Existem diversas formas do ser humano ser exposto ao Pb, tanto diretamente como indiretamente causando saturnismo, nome dado à intoxicação pelo Pb (RIBEIRO, 2013). O Pb pode afetar quase todos os órgãos, sendo o sistema nervoso central mais sensível, tanto em crianças quanto em adultos, sendo a exposição ao chumbo inorgânico o responsável por causar fraqueza, irritabilidade, náusea e dor abdominal com constipação (CETESB, 2012). Rodrigues (2014), ao avaliar o desempenho acadêmico de crianças do ensino fundamental que estavam contaminadas por chumbo, obtiveram dados que demonstraram prejuízos à saúde e desenvolvimento infantil, indicando relações entre a contaminação por chumbo e dificuldades de aprendizagem. Outros prejuízos ao ser humano incluem desenvolvimento prejudicado, perda de memória por curto período e risco de doença cardiovascular (DIXIT et al., 2015).

Nas plantas, o Pb reduz consideravelmente a concentração de clorofila, já que há uma inibição da fotossíntese, alteração de características anatômicas (PEREIRA et al., 2013), afeta a permeabilidade da membrana celular, ocasiona estresse oxidativo nas células das plantas (LI et al., 2012), danifica enzimas como a rubisco, além de danificar o material genético (RIBEIRO et al., 2015).

2.2 Contaminação do ambiente por lixo eletrônico, pilhas e baterias

Resíduos de equipamentos elétricos e eletrônicos (REEE) referem-se a produtos eletrônicos em fim de vida útil, incluindo televisores, lavadoras, condicionadores de ar, computadores, telefones celulares, entre outros (XU et al., 2015).

No Brasil os resíduos eletrônicos configuram-se como um grave problema para o ambiente e saúde, sendo de coleta obrigatória, pois os mesmos apresentam metais pesados altamente tóxicos como o mercúrio, cádmio, berílio e o chumbo (BRASIL, 2010). Esses resíduos são normalmente descartados em lixões e acabam contribuindo, de maneira negativa com o meio-ambiente e com os catadores que sobrevivem da venda de materiais coletados nos lixões (SIQUEIRA & MORAES, 2009). Produtos químicos perigosos, como metais pesados, podem ser liberados dos processos de descarte ou reciclagem dos REEE, poluindo o meio ambiente (ZHANG et al., 2014).

A reciclagem de baterias é uma das principais formas de contaminação do solo Pb (CECCHI et al., 2008). Os resíduos originários dessa atividade podem contaminar a própria instalação de reciclagem e as áreas circundantes devido às emissões de efluentes e cinzas que representam um sério risco para animais e seres humanos (CECCHI et al., 2008). Isso resulta na emissão de compostos perigosos que contaminam o ambiente local: solos, sedimentos, poeira e plantas (SONG & LI, 2014).

Seguido do México e da China (0,4 kg per capita ano⁻¹), o Brasil (0,5 kg per capita ano⁻¹) é o maior produtor per capita de resíduos eletrônicos entre os países emergentes, segundo estudo da ONU sobre o tema (UNEP, 2009). O Brasil também foi cotado, nesse estudo, como campeão na ausência de dados e estudos sobre a situação da produção, reaproveitamento e reciclagem de eletrônicos, assim como: China, Índia, Argentina, Chile, Colômbia, Marrocos, África do Sul.

Outra fonte de contaminação por metais pesados é o uso de pesticidas e fertilizantes na agricultura (CLEMENS 2006). O estado do Piauí faz parte do MATOPIBA, região brasileira que apresenta grandes áreas agrícolas, sendo intensa a utilização de fertilizantes fosfatados e pesticidas que podem contaminar o solo.

2.3 Biorremediação de metais pesados por Fungos micorrízicos arbusculares

A biorremediação mesmo sendo uma técnica demorada em comparação a demais, é a mais indicada na biorremediação de grandes áreas, apresentando como vantagens o aspecto ecológico e econômico (FASANELLA & CARDOSO, 2016). Os autores, no entanto, alertam que o êxito dessa técnica depende do conhecimento de diversos fatores inerentes às comunidades microbianas e fatores ambientais da área a ser biorremediada.

Vários microrganismos (algas, bactérias e fungos) já são utilizados na biorremediação de metais pesados, cujos mecanismos incluem principalmente a transformação de valência, a volatilização e a precipitação química extracelular (MARQUES et al., 2011).

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) são capazes de estabelecer uma relação simbiótica mutualista com a maioria das plantas terrestres (LEUNG et al., 2010) conhecidas como micorrizas arbusculares (MA) (STÜRMER & SIQUEIRA, 2006) e por este motivo representam parte integrante da microbiota de solos funcionalmente ativos (SIQUEIRA et al., 2007).

Os FMAs podem melhorar a tolerância a vários tipos de estresse em plantas sob condições severamente perturbadas, incluindo estresse por metais pesados, seca e salinidade (WILLIS et al., 2013). Esses efeitos benéficos do FMA sobre as plantas podem ser importantes para otimizar a fitorremediação de ecossistemas degradados e contaminados, particularmente em sítios de rejeitos de minas metálicas (MADEJÓN et al., 2010).

A proteção dos FMAs às plantas hospedeiras contra diversos estresses bióticos e abióticos, como os metais pesados é devido ao seu papel benéfico em aumentar a tolerância ao metal e a aquisição de nutrientes (LEHMANN et al., 2016). Além disso, os FMAs produzem glomalina, uma glicoproteína, que é conhecida por reter grandes quantidades de metais pesados (WANG et al. 2007), são responsáveis pela adsorção a paredes celulares fúngica e quelação de metais pesados dentro do fungo (GLASSMAN & CASPER 2012).

2.4 Fitorremediação

O termo fitorremediação (phyto=planta e remedium=corrigir ou remover um mal) é uma tecnologia considerada recente, sendo mais abordada em pesquisas a partir de 1990 (ALI et al. 2013). É considerada adequada para aplicação em áreas extensas onde outros métodos de remediação não são rentáveis ou praticáveis (GARBISU & ALKORTA, 2003). Essa tecnologia é baseada na associação entre plantas e micróbios de solo para reduzir as concentrações ou os efeitos tóxicos dos contaminantes nos ambientes (GREIPSSON, 2011). Segundo Ali et al. (2013) a fitorremediação pode ter como objetivo tanto a remoção de metais pesados como poluentes orgânicos (hidrocarbonetos aromáticos e pesticidas).

Na fitorremediação, as espécies vegetais devem ser capazes de se desenvolverem em ambientes ricos em compostos orgânicos ou inorgânicos tóxicos, ou seja, espécies tolerantes. As plantas tolerantes apresentam a seguinte classificação: a) exclusoras, quando a concentração do metal absorvido é mantida constante até que seja atingido o nível crítico no substrato; b) indicadoras, quando ocorre absorção passiva e as concentrações internas refletem os teores externos; e c) acumuladoras, que são capazes de manter níveis internos mais elevados que do substrato de cultivo (MARQUES et al., 2000; SIMÃO & SIQUEIRA, 2001).

Diferentemente das técnicas de remediação dos solos, na fitorremediação não ocorre mudança drástica na paisagem, não sendo necessário a remoção de grandes quantidades de solo onde é utilizada apenas a radiação solar e plantas sendo assim mais aceita pela sociedade (MARQUES et al., 2009). O principal objetivo da fitorremediação de solos contaminado por metais pesados é extrair o metal do solo e transferi-lo para o tecido de planta na parte aérea, sendo posteriormente eliminado após colheita (BHARGAVA et al., 2012).

A fitorremediação pode ser subdividida em fitoestabilização, fitovolatilização e fitoextração. A fitoestabilização refere-se ao uso de plantas com capacidade de diminuir a mobilidade e/ou biodisponibilidade de um metal para prevenir sua lixiviação para a água subterrânea ou sua entrada na cadeia alimentar por certos mecanismos, incluindo adsorção por raízes, precipitação (ERAKHRUMEN, 2007). Os poluentes são imobilizados no sistema radicular através da absorção das raízes ou precipitação na rizosfera (SARWAR et al., 2017). Este processo reduz a mobilidade do contaminante,

impedindo a migração para o lençol freático e reduzindo a biodisponibilidade na cadeia alimentar (VAN OOSTEN & MAGGIO 2015).

A fitovolatilização é outra abordagem que envolve a conversão de metal em forma volátil e sua liberação na atmosfera através de estomas (GHOSH & SINGH, 2005). No processo de fitovolatilização, os poluentes são absorvidos ao nível da raiz, transportados através do xilema e libertados para a atmosfera a partir das partes aéreas da planta, em formas menos tóxicas, como resultado da modificação metabólica (SARWAR et al., 2017). Portanto, os poluentes não são removidos, mas sim transferidos de um compartimento para outro (VAN OOSTEN & MAGGIO 2014).

A fitoextração é uma das mais importantes abordagens de fitorremediação para a remoção de metais (ALI et al., 2013), sendo uma técnica utilizada *in situ* para o tratamento de solos contaminados (VAN OOSTEN & MAGGIO, 2015). Os metais pesados são absorvidos pelas raízes, transportados e acumulados nas brotações e folhas (SREELAL & JAYANTHI, 2017).

Para Andrade et al. (2007), a fitorremediação apresenta as seguintes vantagens: possibilidade de ser utilizada no local contaminado sem a necessidade de transferência para outros locais, apresenta pouca perturbação da área, baixo custo financeiro, possibilidade do desenvolvimento de plantas em ambientes poucos propícios ao desenvolvimento da microbiota do solo; remediação de diversos contaminantes ao mesmo tempo, além de possibilitar a melhoria da qualidade do solo, aumentando a aeração do solo que conseqüentemente possibilita uma maior infiltração de água. Apesar de apresentar diversas vantagens essa tecnologia também possui algumas limitações, como a morosidade para a recuperação total do ambiente, podendo levar semanas, meses e até anos (VASCONCELLOS et al., 2012).

As plantas fitorremediadoras devem apresentar como características: a) capacidade de absorção, concentração e/ou metabolização e tolerância ao contaminante; b) elevada taxa de crescimento e produção de biomassa; c) ser resistente a pragas e doenças; d) planta de ocorrência natural em áreas contaminadas. No entanto, para Santana e Chaves (2009), mesmo sendo difícil encontrar todas essas características em uma única planta deve se optar por aquela que apresentar maior número dessas características.

2.5 *Vernonia polyanthes* e seu potencial na fitorremediação

O Brasil é reconhecido mundialmente por ser um país de grande extensão e apresentar grande biodiversidade de fauna e flora. No entanto, poucas plantas nativas do Brasil foram pesquisadas com esta finalidade. Segundo Lamego et al. (2007), é preciso estudar espécies fitorremediadoras ainda não exploradas, sendo fundamental para a fitorremediação de solos contaminados por metais a identificação de espécies vegetais nativas adaptadas a região (LAJAYER et al., 2017).

Vernamia polyanthes pertence à família Asteraceae, sendo popularmente conhecida como assa-peixe ou assa-peixe branco é uma planta silvestre comumente encontrada no Cerrado brasileiro (ALVES & NEVES, 2003). Fonseca et al. (2012), relatam que essa planta apresenta sementes fotoblásticas preferenciais, cuja germinação é favorecida na presença de luz.

Pereira et al. (2013), avaliando o potencial fitorremediador de plantas predominantes na área do lixão em Inconfidentes, no estado de Minas Gerais, concluíram que dentre as espécies analisadas a *Vernamia polyanthes* foi a que acumulou maior quantidade de cromo na parte aérea, mesmo o cromo estando em baixas concentrações no solo. Entretanto, ainda são escassas as informações sobre o potencial fitorremediador de metais pesados da planta assa-peixe sendo necessária mais pesquisas que possam avaliar seu potencial na fitorremediação de metais pesados.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Control. **ATSDR's Substance Priority List**, 2015. Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/spl/>>. Acesso em 30 de abril de 2018.

ALI, H.; KHAN, E.; SAJAD, M. A. Phytoremediation of heavy metals—Concepts and application. **Chemosphere**, v. 91, p. 869-881, 2013.

ALVES, J. C.; SOUZA, A. P.; PÔRTO, M. L.; ARRUDA, J. A.; JUNIOR, U. A. T.; SILVA, G. B.; ARAÚJO, R. C.; SANTOS, D. Absorção e distribuição de chumbo em plantas de vetiver, jureminha e algaroba. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 3, n. 32, p.1329-1336, 2008.

ALVES, V.F.G.; NEVES, L.J. Anatomia foliar de *Vernonia polyanthes* Less. (Asteraceae). *Revista Universidade Rural, Série Ciências da Vida*, v.22, n.2, p.1-8, 2003.

ANDRADE, J. C. M.; TAVARES, S. R. L.; MAHLER, C. F. **Fitorremediação: O uso de plantas na melhoria da qualidade ambiental**. Oficina de Textos, 176p, 2007.

BERTOLI, A. C.; CARVALHO, R.; CANNATA, M. G.; BASTOS, A. R. R.; AUGUSTO, A. S. Toxidez do chumbo no teor e translocação de nutrientes em tomateiro. **Biotemas**, v. 4, n. 24, p.7-15, 2011.

BHARGAVA, A.; CARMONA, F.F.; BHARGAVA, M.; SRIVASTAVA, S. Approaches for enhanced phytoextraction of heavy metals. **Journal of Environmental Management**, v. 105, p. 103-120, 2012.

BOECHAT, C. L. **Biorremediação de solos contaminados por metais pesados em áreas de beneficiamento de minério de ouro**. 2014. 120f. Tese (Doutorado em Ciências do Solo). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre – RS, 2014.

CECCHI M., DUMAT C., ALRIC A., FELIXFAURE B., PRADERE P., GUIRESSE M. Multi-metal contamination of a calcic cambisol by fallout from a lead-recycling plant. **Geoderma**, v.144 n.1-2, p.287-298, 2008.

CETESB. **Ficha de informação toxicológica Chumbo e seus compostos**. Divisão de Toxicologia, Genotoxicidade e Microbiologia Ambiental. Rio de Janeiro, 2012. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/>. Acesso em: 10 mai. 2017.

CHAKRABORTY, R.; WU, C. H.; HAZEN, T. C. Systems biology approach to bioremediation. **Current Opinion Biotechnology**, v. 23, n. 3, P. 483 – 490, 2012.

CLEMENS, S. Acumulação de metais tóxicos, respostas à exposição e mecanismos de tolerância em plantas. **Biochimie**, v. 88, p. 1707-1719, 2006.

CONINX, L.; MARTINOVA, V.; RINEAU, F. **Mycorrhiza-assisted phytoremediation** A. Cuypers, J. Vangronsveld (Eds.), *Advances in Botanical Research*, vol 83, Academic Press, London (2017), p.127-188.

DIXIT, R., WASIULLAH, E.Y., MALAVIYA, D., PANDIYAN, K., SINGH, U., SAHU, A., SHUKLA, R., SINGH, B., RAI, J., SHARMA, P., LADE, H., PAUL, D. Bioremediation of heavy metals from soil and aquatic environment: an overview of principles and criteria of fundamental processes. **Sustainability**, v. 07, n. 2, p. 2189-2212, 2015.

ERAKHRUMEN, A.A. Phytoremediation: an environmentally sound technology for pollution prevention, control and remediation in developing countries. **Educational Research and Review**, v.2, n.7, p.151-156, 2007.

FASANELLA, C. C.; CARDOSO, E. J. Biorremediação. In: CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do solo**. 2ed., Piracicaba, SP: ESALQ, p. 197-210, 2016.

FERRON, M. M. **Intoxicação ambiental por chumbo em crianças de uma vila de Porto Alegre e avaliação ambiental preliminar das possíveis fontes de contaminação**. 2010. 110f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo – SP, 2010.

FONSECA, P. G.; NUNES, U. R.; NUNES, S. C. P. Aspectos da germinação de sementes de assa-peixe (*Vernonia polyanthes* Less). **Ciência Rural**, v.42, n.4, p.633-637, 2012.

FRANÇA, R. G.; RAURO, E. C. R. Diagnóstico da disposição final dos resíduos sólidos urbanos na região da Associação dos Municípios do Alto Irani (AMAI), Santa Catarina. **Ciência & Saúde Coletiva**. Rio de Janeiro, v. 14, n.6, 2009.

GARBISU, C.; ALKORTA, I.; 2003. Basic concepts on heavy metal soil bioremediation. **European Journal of Mineral Processing and Environmental**. Prot. v. 3, p. 58–66, 2003.

GHOSH, M.; SINGH, S.P. A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its byproducts. **Applied Ecology and Environmental Research**, v.3, n.1, p.1-18, 2005.

GLASSMAN, S.I.; CASPER, B. B. Biotic contexts alter metal sequestration and AMF effects on plant growth in soils polluted with heavy metals. **Ecology**, v. 93, p.1550–1559, 2012.

GREIPSSON, S. (2011) Phytoremediation. **Nature Education Knowledge** 3 (10):7. Disponível em:< <https://www.nature.com/scitable/knowledge/library/phytoremediation-17359669>>. Acesso em 10 de junho de 2017.

HOLZBACH, J. C.; BARROS, E. I. T.; KRAUSER, A. O.; LEAL, P. V. B. Chumbo: Uma introdução à extração e a fitorremediação. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 3, p. 178 – 183, 2012.

KABATA-PENDIAS, A. Trace elements in soils and plants. 4.ed. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis Group, 2011. 534p.

KUNO, R. **Avaliação da poluição ambiental causada por particulado de chumbo emitido por uma reformadora de baterias na cidade do Rio de Janeiro**. 2009. 110f. Tese (Doutorado em Ciências). Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo-SP. 2009.

LAJAYER, B.A.; GHORBANPOUR, M.; NIKABADI, S. Heavy metals in contaminated environment: Destiny of secondary metabolite biosynthesis, oxidative status and phytoextraction in medicinal plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.145, p.377-390, 2017.

LAMEGO, F. P.; VIDAL, R. A. Fitorremediação: plantas como agentes de despoluição. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 17, p. 9-18, 2007.

LI, H.; LUO, N.; ZHANG, L.J.; ZHAO, H.M.; LI, Y.W.; CAI, Q.Y.; WONG, M.H.; MO, C.H. Do arbuscular mycorrhizal fungi affect cadmium uptake kinetics, subcellular distribution and chemical forms in rice. **Science of The Total Environment**, v.571, p.1183-1190, 2012.

BRASIL, Lei 12305/2010, **Política Nacional de Resíduos Sólidos**, 02/08/2010, Diário Oficial da União. Acesso em: 22/12/2018. Disponível em:<http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2010/lei/112305.htm>.

LERMEN, C.; SUGAUARA, E. Y.; RAIMUNDO, K. F.; CAZELLA, L. N.; FERRARI, M. P. S.; SUGAUARA, R. R.; BELTRAME, S. R.; ALBERTON, O. Fungos micorrízicos e atividade microbiana em solo cultivado com assa-peixe, confei e picão. **Journal of Agronomic Sciences**, v. 5, n. 2, p. 135-146, 2016.

LEUNG, H.M.; WU, F.Y.; CHEUNG, K.C.; YE, Z.H.; WONG, M.H. Synergistic effects of arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate rock on heavy metal uptake and accumulation by an arsenic hyperaccumulator. **J. Hazard. Mater.**, v.181, p.497-507, 2010.

LOURENÇO, R. W.; LANDIM, P. M. B. Public health risk maps using geostatistical methods. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 21, n. 1, p. 150-160, 2005.

MADEJÓN, E.; DORONILA, A.I.; SANCHEZ-PALACIOS, J.T.; MADEJÓN, P.; BAKER, A.J.M. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and biosolids enhance the growth of a native Australian grass on sulphidic gold mine tailings. **Restoration Ecology**, v.18, p.175-183, 2010.

MANI, D.; KUMAR, C. Biotechnological advances in bioremediation of heavy metals contaminated ecosystems: an overview with special reference to phytoremediation. **Journal Environmental Science Technology**, v. 11, n. 3, p.843–872, 2014.

MARQUES, A.P.G.C., RANGEL, A.O.S.S., CASTRO, P.M.L. Remediation of heavy metalcontaminated soils: phytoremediation as a potentially promising clean-up technology. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 39, n. 8, p. 622 – 654, 2009.

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

MARQUES, A.P.G.C., RANGEL, A.O.S.S., CASTRO, P.M.L., 2011. Remediation of heavy metal contaminated soils: an overview of site remediation techniques. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 41, n. 10, p. 879 – 914, 2011.

MARTINS, C.A.S., NOGUEIRA, N.O., RIBEIRO, P.H., RIGO, M.M., CANDIDO, A.O. A dinâmica de metais-traço no solo. **Revista Brasileira Agrocência**, v. 17, n. 3-4, p.383-391, 2011.

MAZZUCO, K. T. M. **Uso da *Canavalia ensiformis* como fitorremediador de solos contaminados por chumbo**. 2008. 187f. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 2008.

PEREIRA, K. L.; PINTO, L. V. A.; PEREIRA, A. J. Potencial fitorremediador das plantas predominantes na área do lixão de Inconfidentes/MG. **Revista Agrogeoambiental**, Ed. Especial, n. 1, p. 25-29, 2013.

RIBEIRO, M. A. C. **Contaminação do solo por metais pesados**. 2013. 249f. Dissertação (Mestrado em Engenharia do Ambiente – Gestão e Ordenamento Ambiental). Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa – PT, 2013.

RODRIGUES, O. M. P. R.; ALMEIDA, C. G. M.; PEREIRA, V. A.; CAPELLINI, V. L. M. F. Avaliação do desempenho escolar de crianças contaminadas por chumbo. **Revista Quadrimestral da Associação Brasileira de Psicologia Escolar e Educacional**, v. 18, n. 3, p. 537 – 546, 2014.

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**, v. 66, n. 2, p. 327-334, 2007.

SARWAR, N., SAIFULLAH, MALHI, S.S.; ZIA, M.H.; NAEEM, A.; BIBI, S.; FARID, G. Role of plant nutrients in minimizing cadmium accumulation by plant. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.90, n.6, p.925-937, 2010.

SARWAR, N.; IMRAN, M.; SHAHEEN, M. R.; ISHAQUE, W.; KAMRAN, M. A.; MATLOOB, A.; REHIM, A.; HUSSAIN, S. Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: modifications and future perspectives. **Chemosphere**, v. 172, p. 710 – 721, 2017.

SHAHID, M., DUMAT, C., KHALID, S., SCHRECK, E., XIONG, T., NIAZI, N.K. Foliar heavy metal uptake, toxicity and detoxification in plants: a comparison of foliar and root metal uptake. **Journal of Hazardous Materials**, v.325, n. 5, p.36–58, 2017.

SINGH, A.; PRASAD, S.M. Remediation of heavy metal contaminated ecosystem: An overview on technology advancement. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 12, n. 1, p.353-366, 2015.

SIQUEIRA, J.O.; SOARES, C.R.F.S.; SANTOS, J.G.D.; SCHNEIDER, J.; CARNEIRO, M.A.C. Micorrizas e a Degradação do solo: Caracterização Efeitos e ação Recuperadora Tópicos em Ciência do Solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.5, p.219–306, 2007.

SIQUEIRA, M.M.; MORAES, M.S. Saúde coletiva, resíduos sólidos urbanos e os catadores de lixo. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.14, n.6, p.2115-2122, 2009.

SONG, Q.; LI, J. Environmental effects of heavy metals derived from the e-waste recycling activities in China: a systematic review. **Waste Manag**, v.34, p.2587–2594, 2014.

STÜRMER, S.L.; SIQUEIRA, J.O. **Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in Brazilian ecosystems**. F.M.S. Moreira, J.O. Siqueira, L. Brussaard (Eds.), Soil Biodiversity an Amazonian and Other Brazilian Ecosystems, CABI-Publishing, Wallingford, pp.206-236, 2006.

SREELAL, G.; JAYANTHI, R. Review on phytoremediation technology for removal of soil contaminant. **Indian Journal Science Res.** v.14, p.127-130, 2017.

UNEP - United Nations Environment Programme & United Nations University. **Recycling – from e-waste to resources**. 2009. Disponível em: <http://www.unep.org>. Acesso em: 03 jan. 2019.

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

VAN OOSTEN, M.J.; MAGGIO, A. Functional biology of halophytes in the phytoremediation of heavy metal contaminated soils. **Environmental And Experimental**, v.11, p.135-146, 2015.

WANG, F. Y.; LIN, X. G.; YIN, R. Effect of arbuscular mycorrhizal fungal inoculation on heavy metal accumulation of maize grown in naturally contaminated soil. **Int. J. Phytoremediat**, v. 9, p. 345-353, 2007.

XU, X.; ZENG, X.; BOEZEN, H.M.; HUO, X. E-waste environmental contamination and harm to public health in China. **Frontiers of Medicine**, v.9, n.2, p. 220-228, 2015.

ZHANG, Q.; YE, J.; CHEN, J.; XU, H.; WANG, C.; ZHAO, M. Risk assessment of polychlorinated biphenyls and heavy metals in soils of an abandoned e-waste site in China, **Environmental Pollution**, v.185, p.258-265, 2014.

CAPÍTULO II

PERFORMANÇAS DA BIOAUMENTAÇÃO POR FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NA FITORREMEDIAÇÃO DE CHUMBO POR ESPÉCIE DE *Vernamia Polyanthes*

RESUMO

O chumbo (Pb) é um metal pesado que devido a sua persistência no meio e seus efeitos deletérios, tanto ao homem como ao meio ambiente, precisa ser estudado. A associação entre plantas e fungos micorrízicos arbusculares pode ser utilizada para biorremediar áreas contaminadas pelo Pb. Este estudo teve como objetivo avaliar a acumulação do chumbo e o potencial fitorremediador da planta *Vernamia polyanthes* em associação com fungos micorrízicos arbusculares. O experimento foi realizado em casa de vegetação com 50% de luz natural e piso cimentado impermeabilizado. O delineamento experimental utilizado foi o em blocos casualizados em esquema fatorial 4 x 3, com três repetições. Os tratamentos foram doses crescentes de Pb (0,0; 70; 180 e 300 mg L⁻¹) e duas estirpes de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), *Acaulospora morrowiae* e *Gigaspora margarita*. O chumbo afetou negativamente as variáveis morfológicas, reduziu em 27,3% o comprimento da parte aérea (CPA), 25,63% o diâmetro do coleto (DC), 30,60% o número de folha (NF), 56,60% a área foliar além de reduzir a quantidade de clorofila *a*. O Pb acumulou-se na parte aérea e nas raízes, sendo nestas as maiores concentrações. O fator de translocação (FT) ficou abaixo de 1, indicando pouca eficiência na translocação do metal pesado das raízes para a parte aérea. Os valores do fator de bioacumulação (FB), referentes as raízes ficaram acima de 1. A taxa de colonização dos fungos micorrízicos arbusculares foi baixa, sendo de 3,31% para *Gigaspora margarita* e 2,33% *Acaulospora morrowiae*. No entanto, aumentaram a absorção do Pb, refletindo em menores valores de clorofila *a*, massa seca da raiz e diâmetro, possivelmente por terem aumentado a absorção de Pb. Através dos resultados obtidos, a assa-peixe pode ser classificada como acumuladora de Pb no sistema radicular, podendo ser utilizada como fitoestabilizadora. A bioaumentação dos fungos *Acaulospora morrowiae* e *Gigaspora margarita* aumentam a translocação de Pb podendo auxiliar na fitoextração.

PALAVRAS-CHAVE: Assa-peixe, metal pesado, fitoextração, fitoestabilização.

**PERFORMANCE OF BIOAUMENTATION BY ARBUSCULAR
MICORRHYTIC FUNGI IN LEAD PHYTEMEDICATION BY TYPE OF
*Vernamia Polyanthes***

ABSTRACT

Lead (Pb) is a heavy metal that due to its persistence in the medium and its deleterious effects, both to man and to the environment, needs to be studied. The association between arbuscular mycorrhizal fungi and plants can be used to bioremediate areas contaminated by metals. The aim of this study was to evaluate the accumulation of lead and phytoremediation by *Vernamia polyanthes* plant inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi. The experiment was carried out in a greenhouse with 50% natural light and cemented waterproofed floor. The experimental design was the randomized blocks in a 4 x 3 factorial scheme, with three replications. The treatments were increasing doses of Pb (0.0, 70, 180 and 300 mg L⁻¹) and two strains of arbuscular mycorrhizal fungi (FMAs), *Acaulospora morrowiae* and *Gigaspora margarita*. The lead had a negative effect on the morphological variables, reducing by 27.3% the shoot length (SL), 25.63% the collar diameter (CD), 30,60% the number of leaf (NF), 56,60 % the area of leaf in addition to reducing the amount of chlorophyll a. The Pb accumulated in the shoot and the roots, being in these the greater concentrations. The translocation factor (TF) was below 1, indicating little efficiency in the translocation of heavy metal from roots to shoot. The values of the bioaccumulation factor (BF), referring to the roots were above 1. The colonization rate of the arbuscular mycorrhizal fungi was low, being 3.31% for *Gigaspora margarita* and 2.33% *Acaulospora morrowiae*. However, they increased the Pb uptake, reflecting lower values of chlorophyll a, root dry mass and diameter, possibly because they increased the same Pb uptake. Through the obtained results, the assa-peixe plants can be classified as accumulator of Pb in the root system, and can be used as a phytostabilizer. The bioaugmentation of fungi *Acaulospora morrowiae* and *Gigaspora margarita* increase the translocation of Pb and can aid in phytoextraction.

KEY-WORDS: Assa-peixe, heavy metal, phytoextraction, phytostabilization.

1 INTRODUÇÃO

O chumbo (Pb) é encontrado naturalmente em rochas, no entanto, tornou-se um grave problema ambiental, em nível global, resultante de atividades antropogênicas (YONGPISANPHOP et al., 2017). O mesmo é considerado como um dos maiores poluentes dos ecossistemas terrestres e aquáticos (KABATA-PENDIA, 2011).

O estado do Piauí, em especial a região sudeste, faz parte da MATOPIBA, região considerada fronteira agrícola, apresenta extensas áreas agrícolas que requerem a aplicação de grande quantidade de adubos e agroquímicos que podem apresentar metais pesados, incluindo o Pb. Além dos resíduos da agricultura, outra fonte de contaminação ambiental por metais pesados no estado do Piauí é o descarte de pilhas e baterias em locais inadequados.

O termo fitorremediação refere-se ao uso de plantas e microrganismos associados para minimizar os efeitos tóxicos de contaminantes potenciais no ambiente (GREIPSSON, 2011). O processo é considerado economicamente viável e bastante eficiente (WANG et al., 2015).

Evidências crescentes mostraram que os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) são capazes de auxiliar a fitorremediação de áreas contaminadas com metais, tornando os metais mais disponíveis para a absorção de plantas ou reduzindo a toxicidade dos metais para as plantas hospedeiras (CONINX et al., 2017). Algumas descobertas científicas indicaram um aumento na absorção de metais pesados (DE SOUZA et al., 2012) enquanto outros demonstraram uma redução na absorção dos metais pesados (LI et al., 2016).

Apesar de muitos estudos sobre a tolerância de plantas a metais pesados, ainda são escassas as informações sobre absorção e acumulação de Pb na espécie *Vernamia polyanthes*, bem como a influência desse metal na produção de biomassa e adequabilidade em projetos de fitorremediação. A mesma é uma espécie nativa do Brasil, adaptada a condições adversas como, solos de baixa fertilidade, ácidos e com alta concentração de alumínio, sendo frequentemente encontrada em lixões e próximas de rodovias. Segundo Lajayer et al. (2017) a identificação de espécies vegetais nativas adaptadas a região é essencial para a fitorremediação de solos contaminados por metais.

Vale ressaltar que em trabalho realizado por Pereira et al. (2013), os autores observaram que plantas de *Vernamia polyanthes* acumularam cromo na parte aérea, mesmo o cromo estando em baixas concentrações no solo. Acredita-se que plantas de *Vernamia polyanthes* inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares consigam absorver e translocar grande quantidade de chumbo.

Diante desse cenário, faz-se necessário avaliar se a referida espécie poderá ser utilizada em projetos de fitorremediação do chumbo. Sendo assim, esse trabalho teve como objetivo analisar o potencial fitoextrator de Pb pela planta *Vernamia polyanthes* em associação com estirpes de fungos micorrízicos arbusculares.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação a 50% de luz com piso cimentado e impermeabilizado no município de Bom Jesus (09° 04' 28" S e 44° 21' 31" O), região Sul do estado do Piauí. O clima da região é quente e úmido, segundo a classificação de Köppen é do tipo Aw, com precipitação média entre 900 e 1200 mm ano⁻¹ distribuídos entre os meses de outubro e abril (VIANA et al., 2002). Durante o período experimental a umidade relativa atingiu média de 78% e a temperatura variou entre a mínima de 21 °C e a máxima de 34 °C com a média de 25,93 °C (INMET, 2019).

2.2 Obtenção do material vegetal e montagem do experimento

As mudas de assa-peixe (*Vernamia polyanthes*) foram produzidas a partir de estacas coletadas na comunidade de Correntes dos Matões município de Bom Jesus no Piauí. Para a multiplicação das mudas após a coleta, foram preparadas estacas, com aproximadamente 15 cm de altura, com auxílio de uma tesoura de poda esterilizada. Em seguida, as estacas foram inseridas em tubetes com capacidade de 230 cm³, contendo areia lavada e autoclavada. O período de aclimação das estacas ocorreu em aproximadamente dois meses, e durante esse período as plantas foram irrigadas três vezes ao dia através de um sistema de irrigação automatizado.

2.3 Tratamentos e Instalação do Experimento

Os tratamentos foram dispostos em delineamento experimental em blocos casualizado (DBC) em esquema fatorial 4 x 3, sendo quatro concentrações de Pb (0, 72, 180, 300 mg Pb L⁻¹), duas estirpes de FMAs (*Acaulospora morrowiae* e *Gigaspora margarita*) e um tratamento sem inoculação, com três repetições, sendo cada repetição representada por uma planta, totalizando 36 unidades experimentais.

Após a uniformização em tamanho, as plantas foram transferidas para vasos de polietileno com volume de 3L, contendo 1,5 kg de areia grossa lavada e autoclavada e, 1,5 L de solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), a 50% da força, assim também como realizada a primeira inoculação com os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs). A inoculação foi realizada utilizando 3 g (contendo aproximadamente 114 esporos de *Acaulospora morrowiae* e 138 esporos de *Gigaspora margarita*).

Decorrido uma semana, a solução nutritiva foi renovada e repetiu-se o procedimento de inoculação, para um melhor resultado. A aplicação dos tratamentos, com as diferentes doses de Pb, foi realizada após três semanas (21 dias), período destinado a adaptação das plantas.

Semanalmente a solução nutritiva foi renovada e os tratamentos com as doses de Pb reaplicadas. O volume da solução era restabelecido, diariamente, ao seu nível inicial com água destilada e o pH da solução aferido para 5,5 e 6,5. A solução nutritiva foi aerada por meio de uma mangueira acoplada a uma turbina de ar (Resun GF180, 300 L min⁻¹ a 8 kPa de pressão) e distribuídas em cada vaso para oxigenação do sistema radicular.

2.4 Análises morfológicas em plantas Assa-peixe

Após 25 dias de exposição ao Pb, mensurou-se as variáveis comprimento da parte aérea (CPA), utilizando fita métrica, diâmetro do coleto (DC) obtido através de paquímetro digital, número de folhas (NF), área foliar (AF) através de régua graduada. Em seguida, as plantas foram coletadas e separado em parte aérea e raízes, sendo estas últimas lavadas em água corrente, sendo posteriormente realizado a pesagem para obtenção da massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca da raiz (MFR) e o volume das raízes, aferido através de proveta graduada.

As raízes foram deixadas por aproximadamente 1 minuto em solução de HCl 0,1 mol L⁻¹ para remoção do Pb aderido à superfície das raízes (TU & MA, 2003). As raízes e as partes aéreas foram acondicionadas em embalagens de papel, submetidas à secagem em estufa de circulação forçada de ar, a 65 °C, até que o material vegetal atingisse peso constante (cerca de 72 h). Após aferido o peso seco o material foi triturado em moinho tipo Wiley.

2.5 Porcentagem de colonização micorrízica em raízes de Assa-Peixe

Cerca de 1 g das raízes finas e frescas foram coletadas, clarificadas e coradas com azul de tripan (KOSKE & GEMMA, 1989) e avaliadas pelo método das intersecções em placas reticuladas (GIOVANNETTI & MOSSE, 1980) para obter-se a taxa de colonização micorrízica. Para a porcentagem de colonização micorrízica as raízes foram espalhadas em uma placa de Petri com grade de 1,1 cm x 1,1 cm na base, sendo observado tanto as linhas horizontais como as verticais da grade e anotado o número total de intersecções entre as raízes e as linhas da grade, assim como o número de intersecções com raízes micorrizadas com alguma estrutura dos fungos micorrízicos: vesículas, arbúsculos, hifas e esporos. Através desses dados calculou-se a porcentagem de colonização de acordo com a Equação 1:

$$\%CM = \frac{\text{Número total de intersecções com raízes micorrizadas}}{\text{Número total de intersecções entre as raízes e a grade}} \times 100 \quad \text{Eq. (1)}$$

2.6 Extração e quantificação de clorofila *a*, *b* e *totais*, carotenóides, nas folhas de Assa-Peixe.

A extração dos pigmentos fotossintéticos (clorofilas *a*, *b*, *totais* e carotenóides) foram realizados seguindo a metodologia de Arnon (1949) e adaptada por Hiscox & Tsraelstam (1979), com adaptações. Foi pesado 200 mg de material vegetal em tubo de ensaio envolto com papel alumínio, adicionados a esses, 10 mL de Dimetilsulfóxido (DMSO) e incubação a 70 °C por 30 min, em banho-maria, seguido de agitação individual, a cada 10 min. O equipamento utilizado para as leituras dos pigmentos foi o espectrofotômetro da marca Biomate[®] tm³, por meio dos comprimentos de onda de 470, 656 e 663 nm, os quais foram aferidos conforme transferência de uma alíquota para uma cubeta de quartzo com volume de 3 cm³.

Os cálculos para quantificação da clorofila *a* (*Ca*) (Equação 2), clorofila *b* (*Cb*) (Equação 3), clorofila total (*Ca+b*) (Equação 4) e carotenóides (*Cx+c*) (Equação 5) foram realizados de acordo com Lichtenthaler (1987). A partir das absorvâncias obtidas foram calculados os respectivos valores de carotenóides (470 nm), clorofila *a* (663 nm), clorofila *b* (645 nm), clorofila *total*, expressas em μg por mL de extrato, sendo posteriormente convertidos em $\mu\text{g g}^{-1}$ MF utilizando a equação 6.

$$C_a = (12,7A_{663} - 2,69A_{645}) \quad \text{Eq.(2)}$$

$$C_b = (22,9A_{645} - 4,68A_{663}) \quad \text{Eq.(3)}$$

$$C_{a+b} = (7,04A_{663} + 18,09A_{645}) \quad \text{Eq.(4)}$$

$$C_{x+c} = (1000A_{470} - 1,90Chl_a - 63,14Chl_b / 214) \quad \text{Eq.(5)}$$

$$C(\mu\text{g g}^{-1} \text{ MF}) = \frac{C(\mu\text{g L}^{-1} \times V(\text{mL}))}{M(\text{g})} \quad \text{Eq.(6)}$$

Onde:

C_a = Concentração de Clorofila *a* em $\mu\text{g L}^{-1}$.

C_b = Concentração de Clorofila *b* em $\mu\text{g L}^{-1}$.

C_{a+b} = Concentração de Clorofila Total em $\mu\text{g L}^{-1}$.

C_{x+c} = Concentração de Carotenóides em $\mu\text{g L}^{-1}$.

A_{663} = Absorvância 663 nm.

A_{645} = Absorvância 645 nm.

A_{470} = Absorvância 470 nm.

$C(\mu\text{g g}^{-1} \text{ MF})$ = Concentração em $\mu\text{g g}^{-1}$ Matéria fresca.

$C(\mu\text{g L}^{-1})$ = Concentração em $\mu\text{g L}^{-1}$.

$V(\text{mL})$ = Volume do extrato (mL)

M = massa (em gramas)

2.7 Determinação dos macronutrientes e Pb em mudas de assa-peixe

As concentrações de macronutrientes fósforo (P), potássio (K), enxofre (S), cálcio (Ca), magnésio (Mg), e chumbo (Pb) foram determinadas após a digestão da biomassa seca da parte aérea e da raiz com solução ácida nitro-perclórica conforme recomendado pela Embrapa (2009).

Para determinação de P foi utilizado o método amarelo-de-vanadato, método pelo qual o ânion H_2PO_4^- reage com MoO_4^{2-} e VO_3^{2-} , em meio ácido, formando um complexo de coloração amarela que absorve a luz na região de 420nm. O K foi determinado por fotômetro de chama. A determinação do S foi realizada por turbidimetria e os valores de concentração do Ca, Mg e Pb foram determinados em espectrômetro de absorção atômica (Varian® AA240FS). Com base nos teores de Pb (mg kg^{-1}) da parte aérea e do sistema radicular, foram calculados, os seguintes fatores: fator de translocação (FT) e fator de bioacumulação (FB), de acordo com as equações 7 e 8:

$$\text{FB} = \frac{\text{Teor de Pb nas raízes}}{\text{Teor de Pb na solução nutritiva}} \quad \text{Eq. (7)}$$

$$\text{FT} = \frac{\text{Teor de Pb na parte aérea}}{\text{Teor de Pb na raiz}} \quad \text{Eq. (8)}$$

A solução nutritiva restante, após o fim do experimento, foi reservada em caixa d'água de polietileno com capacidade para 500 L. A areia foi adicionada em sacos de fibra e reservado para que posteriormente seja recolhida por uma empresa especializada que presta serviços a UFPI. Tanto a caixa d'água quanto os sacos de fibras foram identificados e colocados avisos sobre a toxicidade do material.

2.8 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), teste de Tukey a 5% de probabilidade para comparação de médias das estirpes e análise de regressão para avaliar as doses de Pb utilizando o programa SISVAR (FERREIRA, 2011).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As variáveis, comprimento da parte aérea (CPA) e o diâmetro do coleto (DC) das plantas de Assa-peixe, não apresentaram efeito significativo para a interação dos fatores (dose e fungo). Entretanto, foram afetados significativamente para o fator dose

de Pb. As duas variáveis apresentaram um comportamento linear, havendo redução dos valores médios com o aumento das doses de Pb (Figura I).

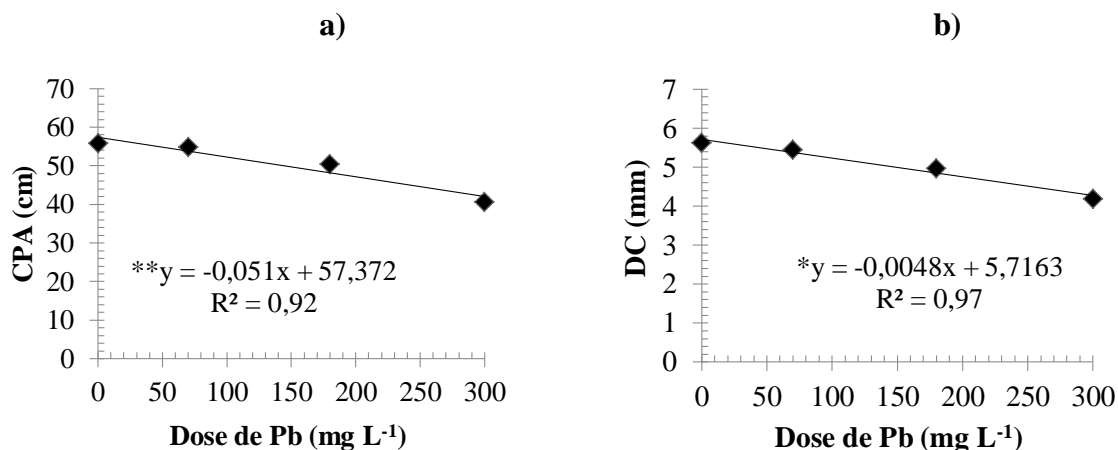


Figura I: Comprimento da parte aérea (a) e diâmetro do coleto (b) em plantas de Assa-peixe submetidas a doses crescentes de chumbo; * e ** significativo a 1 e 5%, respectivamente.

Houve redução de 27,3% na variável CPA e 25,63% no diâmetro do coleto, comparando-se o controle (0 mg L⁻¹) e a maior dose de Pb (300 mg L⁻¹). Os maiores valores para ambas as variáveis estão relacionados com a dose 0 (55,77 cm e 5,62 mm) e os menores valores a dose de 300 mg L⁻¹ (42,06 cm e 4,18 mm). Em trabalho realizado por Zang et al. (2018), plantas de girassol tiveram as organelas (tilacóides) danificadas, inibindo o crescimento das mesmas quando cultivadas em solo contaminado por multimetais, incluindo Pb.

De acordo com os resultados, pode-se inferir que as doses aplicadas impediram que as plantas de Assa-peixe manifestassem seu máximo potencial genético. Um declínio no crescimento e biomassa são indicações comuns de toxicidade induzida por metais pesados em plantas (REHMAN et al., 2017). Resultados divergentes foram obtidos por Chandrasekhar & Ray (2019), onde plantas da espécie *Eclipta prostrata* L. pertencente à mesma família da Assa-peixe (Asteraceae) não apresentaram redução da parte aérea, peso fresco, peso seco e número de folhas quando crescida em solo com dose crescentes de Pb (100, 200, 400, 800 e 1600 mg kg⁻¹ de solo), mesmo em doses maiores que a do presente trabalho, sendo que, os autores atribuem os resultados como sendo um indicativo do potencial da espécie em sobreviver em solos contaminados por Pb.

Para as variáveis número de folhas e a área foliar houve um decréscimo linear com o aumento da concentração de chumbo na solução nutritiva (Figura II), sendo a máxima redução na maior dose de chumbo (300 mg L⁻¹).

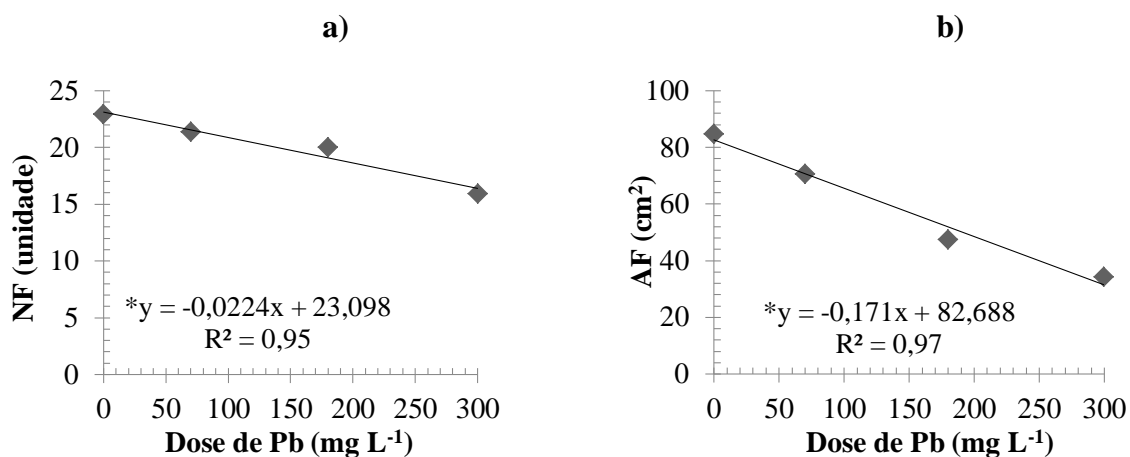


Figura II: Número de folhas (a) e área foliar (b) em plantas de Assa-peixe submetidas a doses crescentes de chumbo; * e ** significativo a 1 e 5%, respectivamente.

Houve redução de 30,6% para o número de folhas e 56,6% para a área foliar em relação ao tratamento sem o metal. A redução do número de folha e área foliar é um reflexo da toxidez provocada pelo Pb. Plantas da espécie *Phyllanthus niruri* L. também apresentaram redução no número de folha quando expostas a concentrações de Pb (100, 200, 400, 800 e 1600 mg kg⁻¹ de solo), mostrando-se sensível á toxidez do Pb (CHANDRASEKHAR & RAY, 2019).

Seguindo o mesmo padrão das variáveis anteriores, observou-se para a massa fresca da parte aérea (MFPA) e a massa seca da parte aérea (MSPA) diminuição significativa nos seus pesos (Figura III). O número de folhas e a área foliar estão relacionados com a MFPA e conseqüentemente com a MSPA (Figura II).

a)

b)

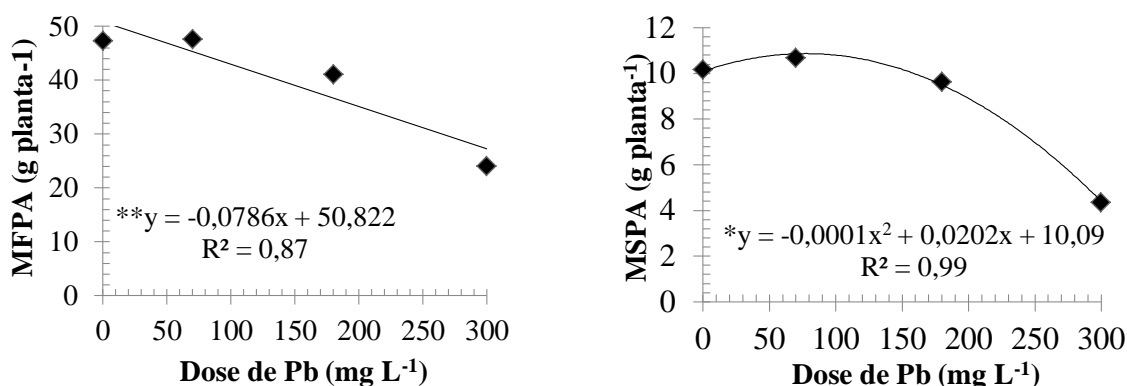


Figura III: Massa fresca da parte aérea (a) e massa seca da parte aérea (b) em plantas de Assa-peixe submetidas a doses crescentes de chumbo; * e ** significativo a 1 e 5%, respectivamente.

O aumento da concentração de Pb na solução nutritiva reduziu a MFPA em 49,12% e a MSPA em 57,13% em relação ao controle. Contudo, observou-se que na dose de 70 mg L⁻¹ a variável MSPA foi semelhante a dose 0 mg L⁻¹, indicando resistência da planta ao metal (Figura III). Todavia, de maneira geral, os resultados refletem a toxicidade do Pb as plantas de Assa-peixe. Segundo Gill et al. (2015), os metais pesados, incluindo o Pb, reduzem a biomassa das plantas, como reflexo dos danos na estrutura dos tilacóide nos cloroplastos, afetando a fotossíntese. O excesso de Pb pode reduzir o crescimento e diminuição da biomassa das plantas (YONGSHENG et al., 2011). Em trabalho realizado por Alves et al. (2008) plantas de vetiver, jureminha e algaroba apresentaram redução da MSPA (22,9, 32,7 e 24,3%, respectivamente) com a aplicação da dose máxima de Pb (200 mg L⁻¹).

Para as variáveis volume de raiz (VR) e massa fresca da raiz (MFR) observaram-se comportamentos similares, havendo um aumento nos valores médios e posteriormente um decréscimo com valor de máxima entre as concentrações de 100 e 150 mg L⁻¹, respectivamente (Figura IV).

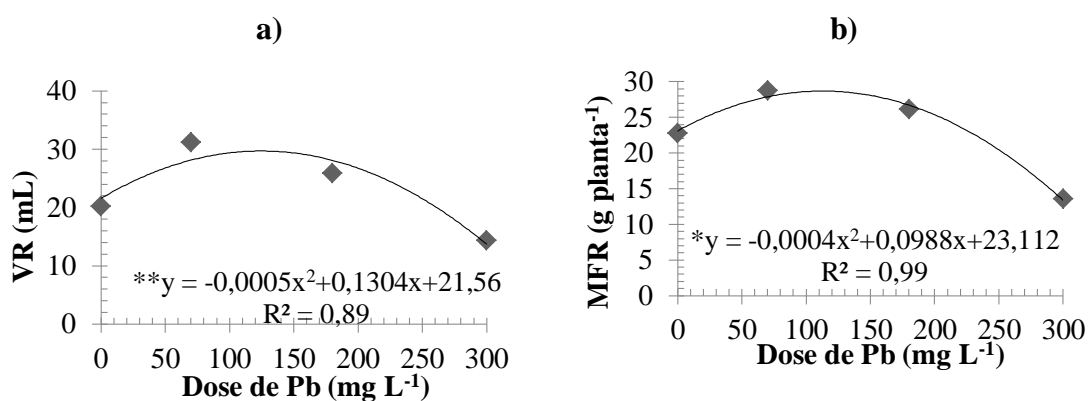


Figura IV: Volume das raízes (a) e massa fresca das raízes (b) de plantas de Assa-peixe submetidas a doses crescentes de chumbo; * e ** significativo a 1 e 5%, respectivamente.

Rossato et al. (2012) observaram comportamento similar em *Pluchea sagittalis* (Asteraceae), os autores relataram aumento do peso fresco e peso seco das raízes com a aplicação de 200 mg de Pb, havendo redução das médias com o aumento da dose. Segundo os mesmos autores, uma possível explicação é um aumento da síntese de polissacarídeos da parede celular e da espessura da parede celular.

Assim como relatado por Rossato et al. (2012), no presente trabalho observou-se o escurecimento das raízes, na maior dose de Pb (300 mg L⁻¹). De acordo com Moraes et al. (2014), a fitotoxicidade do Pb depende da espécie, tecido da planta, período de exposição e concentração. O Pb causa fitotoxicidade alterando a permeabilidade da membrana celular, reagindo com grupos ativos de diferentes enzimas envolvidas no metabolismo das plantas, inibição da produção de ATP, peroxidação lipídica e dano ao DNA pela produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs) (KUMAR et al., 2017).

Na variável massa seca da raiz (MSR) a interação entre os fatores foi significativa (Figura V). O tratamento sem aplicação de fungos (F0) e o tratamento com os fungos *Acaulospora morrowiae* (AM) apresentaram similaridade, os dois tratamentos resultaram no aumento da massa seca das raízes nas doses de 70 e 180 mg L⁻¹ de Pb, e posterior decréscimo com a dose máxima (300 mg L⁻¹) com valores de máxima entre 125 e 150 mg L⁻¹. Segundo Baligar et al. (1998), concentrações de chumbo abaixo do nível tóxico estimulam o crescimento das raízes das plantas, o que poderia explicar o aumento dos valores médios observados no presentes estudo (Figura V).

Por outro lado, o tratamento com *Gigaspora margarita* (GM) apresentou decréscimo linear com o aumento da dose de Pb, sendo a maior média (1,46 g) e a menor (0,55 g) referente as doses 0 e 300 mg L⁻¹, respectivamente (Figura V). Mesmo não havendo diferença significativa na taxa de colonização micorrízica (Tabela I), o fungo GM apresentou maior taxa de colonização podendo ter resultado em maior absorção de Pb (Figura V).

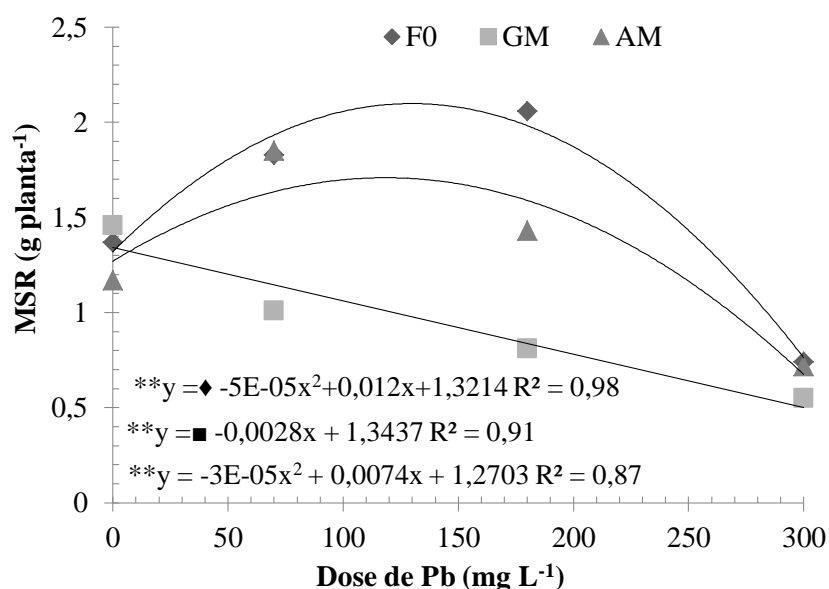


Figura V: Massa seca das raízes em plantas de Assa-peixe submetidas a doses crescentes de chumbo; * e ** significativo a 1 e 5%, respectivamente.

No tratamento sem aplicação de Pb, o resultado mais expressivo foi relacionado ao fungo *GM* (1,46 g), já com a aplicação de 70 mg L⁻¹ de Pb a maior média foi referente ao fungo *AM* (1,85 g), entretanto as maiores médias relacionados a aplicação de 180 e 300 mg L⁻¹ de Pb foram observadas no tratamento sem fungos (2,06 e 0,74 g) e as menores médias foram referentes a aplicação do fungo *GM* (0,81 e 0,55 g respectivamente) (Figura V). Resultados divergentes foram encontrados por Meyer et al. (2017), os mesmos concluíram que dentre os FMAs avaliados, *G. margarita*, e *A. morrowiae* beneficiaram o crescimento de plantas de vetiver cultivado em substratos contendo resíduos ricos em metais pesados.

Em relação às variáveis fisiológicas avaliadas, nas plantas Assa-peixe, apenas a clorofila *a* foi significativa para a interação das fontes de variação (Figura VI). Clorofila *b*, clorofila total e carotenóides não apresentaram diferenças significativas. Em trabalho realizado por Rossato et al. (2012), não foi observado diferença significativa na quantidade de clorofila e carotenóides em plantas *Pluchea sagittalis* (Asteraceae), cultivadas em diferentes concentrações de Pb. Em trabalho realizado por Zhan et al. (2018) não foi verificado diferença significativa para clorofila *b* e carotenóides em plantas de milho inoculadas por FMAs (*Funneliformis mosseae* e *Diversispora spurcum*) cultivado em solo contaminado com multi-metais (Pb total, Zn, Cd e As foi de 1426,7, 839,6, 16,9 e 2,02 mg kg⁻¹).

A quantidade de clorofila *a*, sem aplicação de fungos (F0), variou de 700,22 $\mu\text{g g}^{-1}$ de massa fresca (MF) na maior dose de Pb (300 mg L^{-1}) a 1056,15 $\mu\text{g g}^{-1}$ MF referente ao tratamento sem aplicação de Pb (Figura VI). Assim como o tratamento sem inoculação, o tratamento com *Acaulospora morrowiae* (AM) apresentou tendência similar, sendo o menor valor (744,36 $\mu\text{g g}^{-1}$ MF) referente à maior dose de Pb e a maior concentração de clorofila *a* (1051,20 $\mu\text{g g}^{-1}$ MF) sem a aplicação de Pb. Já em relação ao tratamento com *Gigaspora margarita* (GM) a maior concentração de clorofila (847,41 $\mu\text{g g}^{-1}$ MF) foi observada sem a aplicação de Pb, já a menor concentração foi referente a aplicação de 180 mg L^{-1} de Pb (697,33 $\mu\text{g g}^{-1}$ MF), média bem próxima ao valor resultante da aplicação da maior dose de Pb (300 mg L^{-1}).

A clorofila é o principal pigmento responsável pela captação da energia luminosa, sendo um indicador do efeito dos estresses ambientais em plantas (TAIZ & ZEIGER, 2017). De acordo com os resultados no presente trabalho, as plantas Assa-peixe apresentaram redução da quantidade de clorofila *a* com o aumento das doses de Pb. Elevadas concentrações de metais pesados reduzem significativamente o conteúdo de clorofila e carotenóides (SUBBA et al., 2014). Os tilacóides são danificados no estroma do cloroplasto, afetando negativamente a fotossíntese (GILL et al., 2015).

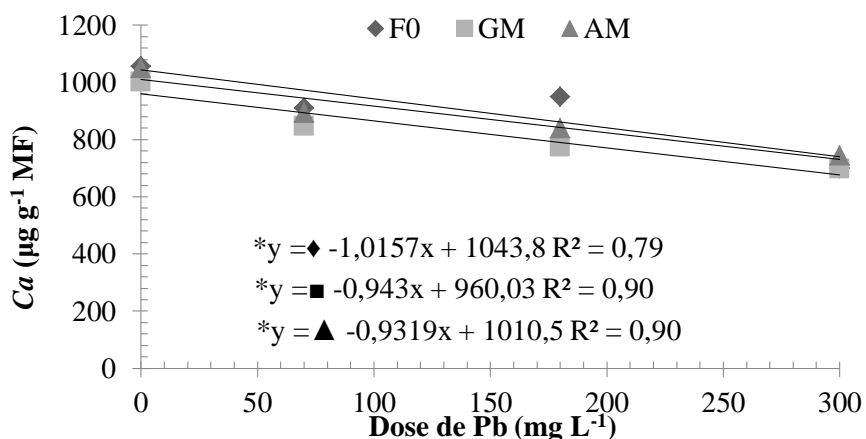


Figura VI: Clorofila *a* em plantas de Assa-peixe submetidas a doses crescentes de chumbo; * e ** significativo a 1 e 5%, respectivamente.

Observando os dados da Figura VI, nota-se que as médias referentes ao fator fungo dentro de cada dose, apresentam valores próximos. No tratamento sem aplicação de Pb, a média mais elevada foi referente ao tratamento sem fungo, sendo o menor valor associado ao fungo GM. Na dose 70 mg L^{-1} de Pb, a maior média foi referente ao fungo

GM (1001,98 $\mu\text{g g}^{-1}$ MF), seguido pelo tratamento sem fungo (910,10 $\mu\text{g g}^{-1}$ MF) e por último pelo tratamento com o fungo *AM* (893,39 $\mu\text{g g}^{-1}$ MF).

De maneira geral, os menores valores de clorofila *a* foram referentes aos tratamentos com fungos. Provavelmente os fungos promoverem maior absorção do Pb, reduzindo a quantidade de clorofila. Este resultado está de acordo com os valores de FT (Tabela III), onde a maior transferência do metal pesado das raízes para a parte aérea foi observado nas plantas com inoculação dos FMAs.

Para a variável diâmetro do coleto (DC) houve significância apenas nas fontes de variação isoladamente. Como observado na Tabela I, houve diferença significativa entre os tratamentos, sendo o maior DC referente ao tratamento sem fungo (5,61 mm), não diferindo estatisticamente do tratamento com *GM* (4,88 mm) e o menor valor com a aplicação de fungos *AM* (4,67 mm). Fungos *Gigaspora margarita* auxiliaram positivamente no crescimento de vetiver (*Chrysopogon zizanioides*) mesmo com baixa taxa de colonização (MEYER et al., 2017). Como já citado anteriormente, a inoculação dos FMAs resultou em maior translocação de Pb, ocasionando menor diâmetro nas plantas de assa-peixe. Mnasri et al. (2017), ao avaliar o efeito de FMAs na absorção de metais pesados, em *Medicago sativa* L observou que os FMAs aumentaram a concentração de metais pesados tanto nas raízes como na parte aérea das plantas. Segundo Ferrol et al. (2016) os FMAs aumentam a transferência de micronutrientes essenciais, mas também elementos não essenciais para os tecidos vegetais.

Em relação à massa fresca de raiz (Tabela I), houve diferença significativa entre as médias. O resultado mais expressivo foi observado no tratamento sem aplicação de fungos (27,0 g planta⁻¹), seguido pelo tratamento com fungos *AM* (22,4 g planta⁻¹) e fungos *GM* (18,9 g planta⁻¹). Os menores valores de MFR nos tratamentos com fungos podem estar relacionado com a maior absorção de Pb pelas raízes da planta avaliada (Tabela II). Neste sentido, Enkhtuya et al. (2000) afirmam que a não estimulação do crescimento das plantas é resultante do desequilíbrio custo-benefício da simbiose entre as plantas e os FMAs, podendo também ocorrer devido a uma maior absorção do metal pesado. O desequilíbrio ocorre quando as plantas drenam carboidratos aos fungos que, no entanto, não forneceram os nutrientes para as mesmas.

Tabela I. Diâmetro do coleto (DC), massa fresca da raiz (MFR) e taxa de colonização micorrízica (CM) em plantas de Assa-peixe expostas ao Pb, em solução nutritiva.

Tratamento*	DC (mm)	MFR (g planta ⁻¹)	CM (%)
F0	5,61a	27,00a	0,00b
GM	4,88ab	18,90b	3,31a
AM	4,67b	22,41ab	2,33a
C.V. (%)	14,64	26,52	118,96

*F0 – Tratamento sem inoculação de fungos; *GM* - *Gigaspora margarita*; *AM* - *Acaulospora morrowiae*. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

De acordo com a Tabela I, nota-se que a taxa de colonização dos dois fungos avaliados no presente trabalho foi baixa, não havendo diferença significativa entre as duas estirpes de fungos. Indicando que o Pb pode ter inibido a colonização dos FMAs. Um dos efeitos dos metais pesados sobre os FMAs é inibição da germinação de esporos e desenvolvimento de hifas, dificultando a formação de micorrizas (CHEN et al., 2015). Além disso, a toxicidade dos metais sobre as plantas hospedeira afetam negativamente os FMA (YANG et al., 2016). Souza et al. (2013) atribuíram redução de 25% da colonização de FMAs, ao efeito tóxico do Pb. *Gigaspora margarita* e *Acaulospora morrowiae* apresentaram taxa de colonização baixa (6,4 e 0,8 % respectivamente) em substrato contendo resíduos contaminados por metais pesados (MEYER et al., 2017).

A concentração de Pb na parte aérea apresentou efeito significativo para a interação dos fatores (doses de Pb e fungo). De acordo com a Figura VII, a concentração do metal aumentou com a aumento das doses, sendo os maiores valores dos tratamentos F0, *AM* e *GM* referente a maior dose 300 mg L⁻¹ (42,5; 44,0; 44,0 mg kg⁻¹, respectivamente).

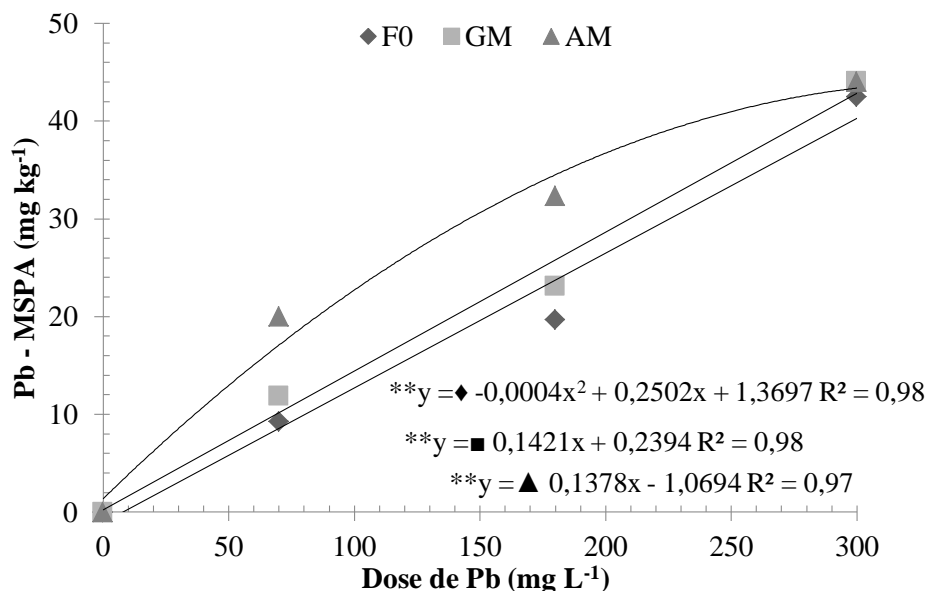


Figura VII: Concentração de chumbo na massa seca da parte aérea em plantas de Assa-peixe submetidas a doses crescentes de chumbo; * e ** significativo a 1 e 5%, respectivamente.

As doses 70, 180 e 300 mg L⁻¹ apresentaram as menores médias sem a aplicação de FMAs (9,2; 19,7; 42,5 mg kg⁻¹, respectivamente). Já as maiores médias (20,0; 32,3 e 44,0 mg kg⁻¹) foram observadas com a aplicação do fungo AM em todas as doses aplicadas no presente estudo (70, 180 e 300 mg L⁻¹ respectivamente). Isso indicou que os FMAs aumentaram a capacidade das plantas em translocar o metal das raízes para a parte aérea. No entanto, outra possível explicação pode ser o oposto do que foi relatado por Chen et al. (2007), os autores explicaram que uma diminuição na concentração de As na parte aérea das plantas foi devido ao “efeito diluição” em decorrência do aumento da biomassa das plantas. No presente estudo, o aumento do Pb na parte aérea das plantas inoculadas pode ter ocorrido devido a redução da biomassa como reflexo da maior absorção do metal.

Em relação à concentração de Pb nas raízes de plantas Assa-peixe, não houve efeito significativo para a interação dos fatores (dose de Pb e fungo) e nem para o fator fungos isolado. No entanto, o fator dose apresentou efeito significativo (Figura VIII). Zang et al. (2018) observaram que a inoculação de FMAs (*Funneliformis mosseae* e *Funneliformis caledonium*) não afetaram significativamente a concentração de Cd, Cu, Pb, Cr, Zn e Ni nas raízes de girassol cultivado em solo contaminado com metais pesados (Cd 33,7; Cu 3.444; Pb 2.883; Cr 386; Zn 14.437 e Ni 373 mg kg⁻¹).

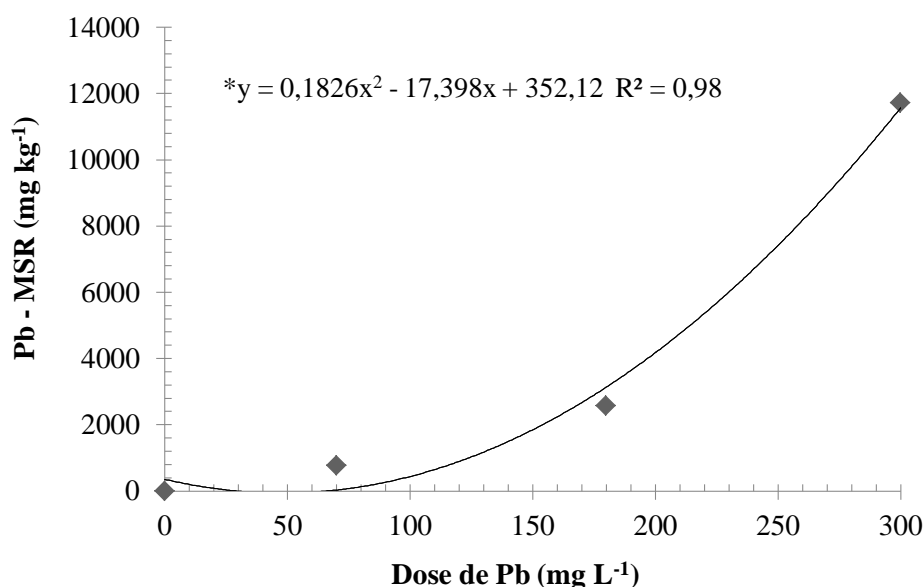


Figura VIII: Concentração de chumbo na massa seca da raiz em plantas de Assa-peixe submetidas a doses crescentes de chumbo; * e ** significativo a 1 e 5%, respectivamente.

O teor de chumbo na massa seca da raiz variou de 780,0 mg kg⁻¹ (70 mg L⁻¹) a 11.724,4 mg kg⁻¹ de Pb (300 mg L⁻¹) como observado na Figura VIII. A exposição da planta Assa-peixe as doses de 180 e 300 mg L⁻¹ aumentou em 230 e 1403% o teor do elemento nas raízes, comparada a dose de 70 mg L⁻¹ (Figura VIII). O aumento no acúmulo de Pb nas raízes de plantas em função da aplicação de doses crescentes de Pb foi relatado por Alves et al. (2008), Roongtanakiat & Sanoh (2011) e Alves et al. (2016). Este último autor, encontrou nas raízes teores máximos de Pb de 24.762 mg kg⁻¹ (dose de Pb de 303 mg L⁻¹) em vetiver, 12.897 mg kg⁻¹ (dose de 400 mg L⁻¹) em mamona, 9.517 mg kg⁻¹ (dose de 400 mg L⁻¹) em girassol. Nouri et al. (2011), ao avaliar o potencial de fitorremediação de plantas nativas cultivadas próximos a uma mina de chumbo-zinco em Hamedan no Irã, observaram que as concentrações totais de Pb nas raízes das plantas variaram de não detectáveis a até 6.750 mg kg⁻¹ com o nível máximo nas raízes de *Cirsium congestum*. A referida planta pertence à família Asteraceae, mesma família da Assa-peixe.

O tecido radicular foi o local com maior bioacumulação de Pb. De acordo com Kopittke et al. (2007), o chumbo acumula-se principalmente nas células da raiz, em decorrência do bloqueio pelas estrias caspary dentro da endoderme, sequestro nos vacúolos das células rizodérmicas e corticais, imobilização por pectinas carregadas

negativamente dentro da parede celular e acumulação em membranas plasmáticas (JIANG & LIU, 2010).

Os valores do fator de bioacumulação (FB) variaram entre 5,9 e 41,4 (Tabela II). Em função dos valores obtidos a Assa-peixe pode ser classificada como acumuladora de Pb no sistema radicular, podendo ser usada na fitoestabilização de ambientes contaminados. As plantas podem ser classificadas como acumuladoras, exclusoras e indicadoras em função do fator de bioacumulação, lavando em consideração a capacidade de acumular metais pesados (ACCIOLY & SIQUEIRA, 2000; MA et al., 2001; CLUIS, 2004).

Tabela II. Fatores de bioacumulação e translocação Pb em de plantas Assa-peixe cultivadas em sistema hidropônico, submetido a diferentes concentrações de chumbo (Pb).

Concentração na solução nutritiva (mg L ⁻¹)	Fator de bioacumulação de Pb		
	F0 ¹	GM ²	AM ³
70	5,849	17,351	9,310
180	14,522	15,583	12,820
300	37,547	38,307	41,390

	Fator de translocação de Pb		
	F0 ¹	GM ²	AM ³
70	0,012	0,022	0,030
180	0,005	0,008	0,014
300	0,004	0,004	0,004

¹Tratamento sem fungo; ²*Gigaspora margarita*; ³*Acaulospora morrowiae*.

Para o fator fungo (Tabela II), o maior valor de FB foi referente ao tratamento GM, na dose 70 (FB = 17,351) e 180 mg L⁻¹(FB = 15,583), já na dose 300 mg L⁻¹ o maior FB foi com a aplicação do fungo AM (FB = 41,390).

Os fatores de bioacumulação (FB) e de translocação (FT) podem ser usados como indicadores do potencial de fitorremediação exibido por espécies vegetais. Para uma planta ser considerada eficiente na translocação de metal das raízes para a parte aérea o FT deve ser igual ou maior a 1. Plantas com fator de bioacumulação maior que 1 e fator de translocação menor que 1 (FB > 1 e FT < 1) têm potencial para fitoestabilização (YOON et al. 2006). A fitoestabilização é uma tecnologia que

envolve a alteração do solo e plantas tolerantes a metais para estabelecer uma cobertura do solo reduzindo a migração de metais para o ar, águas superficiais e subterrâneas e reduzindo a toxicidade do solo (KODRE et al., 2017).

Os valores de FT variaram de 0,004 a 0,03 (Tabela II), estes resultados indicam que a planta Assa-peixe não foi eficiente em translocar grandes quantidades de Pb das raízes para a parte aérea, não sendo considerada uma planta ideal para a fitoextração em áreas contaminadas. Todavia, nestes casos deve-se considerar a produção de biomassa da parte aérea das plantas e o montante de metal removido, pois nestes casos justificaria utilizá-la devido a tolerância de crescimento em ambientes extremamente contaminados.

As maiores médias observadas para o FT foram nos tratamentos com fungos. Segundo Garg & Chandel (2010) em alguns casos, plantas micorrizadas mostram a característica de fitoestabilização, reduzindo a translocação de metais pesados para a parte aérea. Entretanto, no presente trabalho, os fungos micorrízicos arbusculares aumentaram a translocação de Pb das raízes para parte aérea.

A grande capacidade de acúmulo de Pb nas raízes e a baixa translocação desse elemento para a parte aérea das mudas de assa-peixe (Tabela II) sugerem que essa espécie têm grande potencial para fitoestabilização de Pb no solo. Diversos autores têm relatado, com exceção das espécies hiperacumuladoras, a baixa translocação e mobilidade do Pb, com intensa acumulação nas raízes das plantas (ALVES et al., 2008; ZHIVOTOVSKY et al., 2011; SELAMAT et al., 2014). A maior retenção de Pb nas raízes das plantas ocorre devido a sua alta afinidade com as cargas negativas da parede celular, e à barreira fisiológica das estrias de caspary, que restringem a entrada de Pb no xilema, reduzindo sua translocação para a parte aérea (ZHIVOTOVSKY et al., 2011).

A concentração de Ca na raiz da planta Assa-peixe apresentou efeito significativo para a interação dos fatores estudados. Em relação as doses dentro de cada fungo, nota-se que no tratamento sem a inoculação de fungos a menor (7,64 mg kg⁻¹) e maior (14,28 mg kg⁻¹) média foi referente a aplicação de 180 e 300 mg L⁻¹ de Pb, respectivamente. Por outro lado, o tratamento com fungos *AM*, a menor (7,90 mg kg⁻¹) e maior (11,57 mg kg⁻¹) média foi referente a dose 0 e dose 300 mg L⁻¹, respectivamente (Figura IX). O tratamento com fungo *GM* obteve menor e maior média com as doses 180 e 70 mg L⁻¹. A exposição ao chumbo diminui a concentração de cátions divalentes,

entre eles o Ca^{2+} (KUMAR et al., 2017). A redução da concentração de Ca com o aumento da concentração de Pb também foi observado em plantas de feijão cultivadas em solução nutritiva (CANNATA et al., 2013) e em mudas de ipê-roxo (PAIVA et al., 2003).

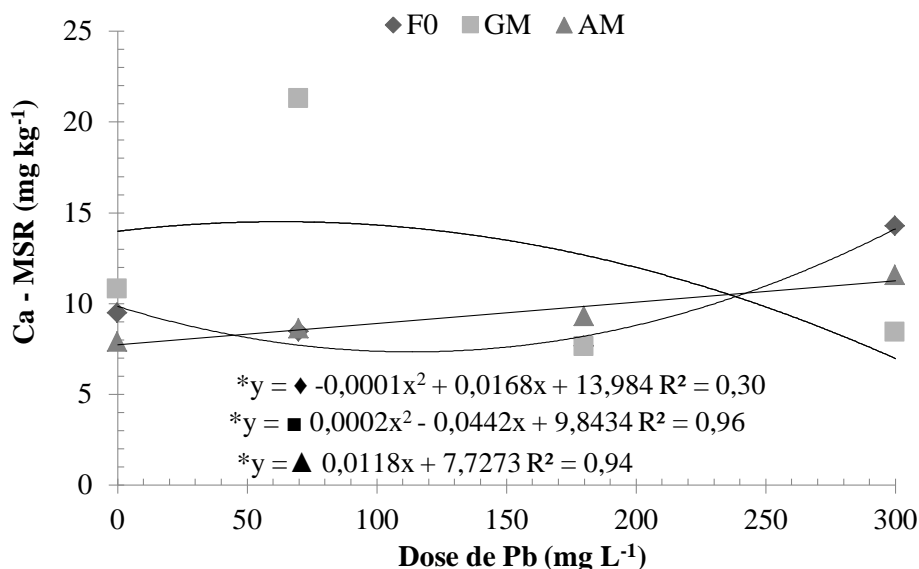


Figura IX: Concentração de cálcio na massa seca da raiz em plantas de Assa-peixe submetidas a doses crescentes de chumbo; * e ** significativo a 1 e 5%, respectivamente.

Ao analisar a Figura IX, observou-se que nos tratamentos sem aplicação de Pb e com a aplicação de 70 mg L⁻¹ de Pb, as maiores médias foram com a inoculação do fungo GM (10,81 e 21,38 mg kg⁻¹, respectivamente). A aplicação de 180 mg L⁻¹ de Pb refletiu em maior média com a inoculação do fungo AM (9,30 mg kg⁻¹), já na maior dose (300 mg L⁻¹) o resultado mais expressivo foi sem a aplicação de fungo (14,28 mg kg⁻¹).

Não foi constatado efeito significativo para a interação entre fatores (dose de Pb e fungo), em relação a concentração de Mg na biomassa das raízes da planta Assa-peixe. Todavia, o fator fungo e o fator dose, isoladamente, foram significativos. A concentração de Mg na massa seca da raiz apresentou comportamento quadrático polinomial (Figura X).

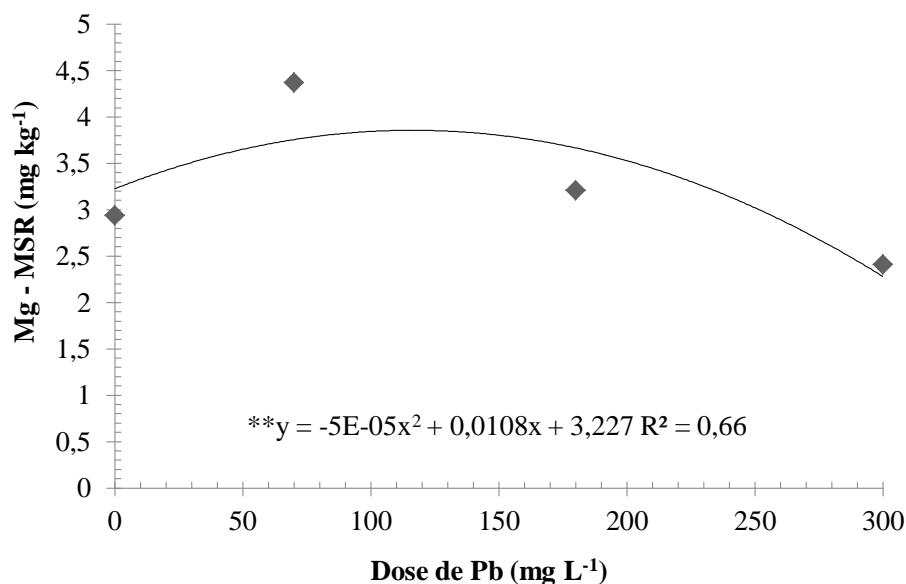


Figura X: Concentração de magnésio na massa seca da raiz em plantas Assa-peixe submetidas a doses crescentes chumbo; * e ** significativo a 1 e 5%, respectivamente.

A menor concentração de Mg, foi observada na dose de 300 mg L⁻¹ de Pb (2,41 mg kg⁻¹), sendo observado valor de máxima entre as doses de 100 e 150 mg L⁻¹, seguido de um declínio com o aumento da concentração. O Pb induz a deficiência de elementos essenciais, como o Mg, prejudicando a síntese de clorofila (MORAES et al., 2014). Huang & Cunningham (1996), relataram redução significativa do teor de Mg na parte aérea das plantas de *Zea mays* que receberam doses crescentes de Pb.

As duas variáveis, concentração de P e K na parte aérea da biomassa das plantas Assa-peixe, apresentaram efeitos significativo apenas para o fator dose de Pb (Figura XI). As concentrações de P e K na massa seca da parte aérea apresentaram redução linear com o aumento das doses de Pb (Figura XI). Todavia, a concentração de P e K nas raízes não apresentaram diferença significativa para as fontes de variação estudadas.

a)

b)

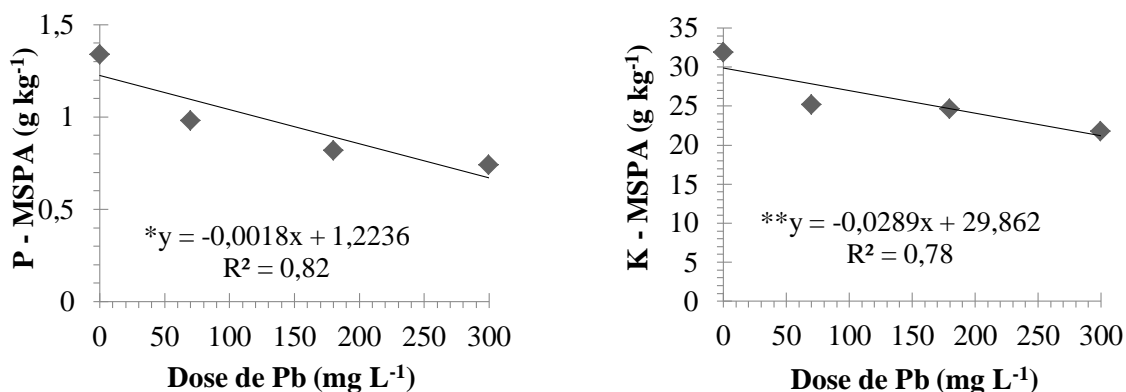


Figura XI: Concentração de fósforo (a) e potássio (b) na massa da parte aérea em plantas de Assa-peixe submetidas a doses crescentes de chumbo; * e ** significativo a 1 e 5%, respectivamente.

A concentração dos macronutrientes P e K apresentaram comportamento similar, apresentando maiores médias sem a aplicação de Pb (1,34 e 31,90 g kg⁻¹, respectivamente), havendo um declínio da concentração com o aumento das doses, sendo as menores médias observadas na dose de 300 mg L⁻¹ (0,74 e 21,81 g kg⁻¹, respectivamente).

A redução na concentração de fósforo com o aumento da concentração de Pb foram observadas em plantas de cevada (ARDAKANI et al., 2009) e também em capim-canário (*Phalaris minor* L.) (ZAEFARIAN et al., 2012). Segundo Geebelen et al. (2002), o fósforo e o Pb formam um complexo insolúvel, reduzindo sua absorção pelas raízes das plantas. Já em relação ao K, a redução do mesmo com o aumento das doses de Pb, pode ter ocorrido devido a inibição competitiva entre o K e os cátions divalentes, entre eles o Pb²⁺, presentes em altas concentrações (WALKER et al., 1977).

Análises de correlação foram realizadas entre a concentração de Pb e macronutrientes na parte aérea da planta de Assa-peixe cultivadas em doses crescentes de Pb. Correlações negativas significativas foram encontradas entre os teores de Pb com o Ca e o P (Tabela III).

Tabela III - Coeficientes de correlação Pearson entre a concentração de chumbo e a concentração de macronutrientes na parte aérea de plantas Assa-peixe.

	Ca	Mg	P	K	S
Pb	-0,593*	0,242 ^{ns}	-0,738**	-0,553 ^{ns}	-0,333 ^{ns}
Ca	1	0,166 ^{ns}	0,626*	0,455 ^{ns}	0,601*
Mg		1	-0,115 ^{ns}	-0,0179 ^{ns}	0,439 ^{ns}
P			1	0,795**	0,603*
K				1	0,364 ^{ns}
S					1

**significativo a 1%; *significativo a 5%; ^{ns} não significativo a 5%.

A redução da concentração de P com o aumento da concentração de Pb também ficou evidenciado na Figura XI, sendo explicado pelo antagonismo entre elementos. Segundo Kabata-Pendias (2011) a absorção do P é reduzida com o aumento da concentração de Pb. Já em relação ao cálcio, a redução do mesmo com o aumento da concentração do Pb pode ser explicada pela competição entre os mesmos. Marschner (1995), afirma que cátions divalentes como Pb^{2+} competem com outros cátions, como o Ca^{2+} .

Em relação as raízes de plantas de assa-peixe cultivadas e doses crescentes de Pb, nota-se que houve correlações negativa significativa para os teores de Pb e K apenas (Tabela IV).

Tabela IV - Coeficientes de correlação de Pearson entre a concentração de chumbo e a concentração de macronutrientes nas raízes de plantas Assa-peixe cultivada em diferentes concentrações de chumbo

	Ca	Mg	P	K	S
Pb	0,127 ^{ns}	-0,525 ^{ns}	0,210 ^{ns}	-0,625*	0,206 ^{ns}
Ca	1	0,166 ^{ns}	0,868**	0,532 ^{ns}	0,749**
Mg		1	-0,0104 ^{ns}	0,484 ^{ns}	0,211 ^{ns}
P			1	0,417 ^{ns}	0,551 ^{ns}
K				1	0,481 ^{ns}
S					1

**significativo a 1%; *significativo a 5%; ^{ns} não significativo a 5%.

O aumento da absorção do Pb reduziu a absorção do K. Segundo Walker (1977), altas concentrações de Pb reduzem a absorção de K^+ , analogamente ao que

acontece com Mg^{2+} e Ca^{2+} que em altas concentrações reduzem a absorção do K^+ pelas raízes das plantas (FAQUIN 2005; CANNATA et al., 2013).

4 CONCLUSÃO

O presente estudo, indica que a planta *Vernamia polyanthes* é tolerante a elevadas concentrações de chumbo e capaz de acumular quantidades significativas de Pb nas raízes, sendo classificada como bioacumuladora de Pb no sistema radicular, podendo ser utilizada em projetos de fitoestabilização.

Os fungos micorrízicos aumentam o acúmulo de Pb na parte aérea podendo ser utilizados em projetos que visem a fitoextração de metais pesados.

O chumbo em altas concentrações reduz a absorção de magnésio, fósforo e potássio em mudas de Assa-peixe.

5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ALVES, J. DO C.; SOUZA, A. P. de; PÔRTO, M. L.; ARRUDA, J. A. de; JÚNIOR, U. A. T.; SILVA, G. B. da; ARAÚJO, R. da C.; SANTOS, D. A. Absorção e distribuição de chumbo em plantas de vetiver, jureminha e algaroba. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, p.1329-1336, 2008.

ALVES, J.C.; SOUZA, A.P.; PÔRTO, M.L.A.; FONTES, R.L.F.; FONTES, R.L.F.; ARRUDA, J.; MARQUES, L. Potential of sunflower, castor bean, common buckwheat and vetiver as lead phytoaccumulators. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.20, n.3, p.243-249, 2016.

ARDAKANI, M.R.; TEIMURI, S.; REZVANI, M.; FATHOLLAHI, H.; KHORASANI, A.; REJALI, F.; RAZA, A.; ZAFARIAN, F. Evaluation of mycorrhizae symbiosis efficiency with barley (*Hordeum vulgare* L.) through ^{32}P uptake under soils contaminated with heavy metals. **International Journal of Botany** v.5, p.236-243, 2009.

ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, v.24, p.1-15, 1949.

BALIGAR, V. C.; FAGERIA, N. K.; ELRASHIDI, M. A. Toxicology and nutrient constraints on root growth. **Hortscience, Alexandria**, v. 33, p. 960-965, 1998.

CANNATA, M.G.; CARVALHO, R.; BERTOLI, A.C.; BASTOS, A.R.R.; CARVALHO, J.G.; FREITAS, M.P.; AUGUSTO, A.S. Effects of Lead on the Content, Accumulation, and Translocation of Nutrients in Bean Plant Cultivated in Nutritive Solution. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.44, n.5, p.939-951, 2013.

CHANDRASEKHAR, C.; RAY, J.G. Lead accumulation, growth responses and biochemical changes of three plant species exposed to soil amended with different concentrations of lead nitrate. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.171, p.26-36, 2019.

CHEN, L.; HU, X., YANG, W.; XU, Z.; ZHANG, D.; GAO, S. The effects of arbuscular mycorrhizal fungi on sex-specific responses to Pb pollution in *Populus cathayana*. **Ecotoxicology Environmental Safety**, v.113, p.460-468, 2015.

CLUIS, C. Junk-greedy greens: phytoremediation as a new option for soil decontamination. **Biotechnology Journal**, v.2, p.61-67, 2004.

CONINX, L.; MARTINOVA, V.; RINEAU, F. **Mycorrhiza-assisted phytoremediation** A. Cuypers, J. Vangronsveld (Eds.), Advances in Botanical Research, vol 83, Academic Press, London, p.127-188, 2017.

DE SOUZA, L.A.; DE ANDRADE, S.A.L.; DE SOUZA, S.C.R.; SCHIAVINATO, M.A. Arbuscular mycorrhiza confers Pb tolerance in *Calopogonium mucunoides*. **Acta Physiol. Plant.**, v.34, p.523-531, 2012.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2.ed. Brasília, DF, 627p. 2009.

ENKHTUYA, B.; RYDLOVÁ, J.; VOSÁTKA, M. Effectiveness of indigenous and non-indigenous isolates of arbuscular mycorrhizal fungi in soils from degraded ecosystems and man-made habitats. **Applied Soil Ecology**, v.14, n.3, p.201–211, 2000.

FAQUIN, V. **Nutrição mineral de plantas**. Lavras:UFLA/FAEPE, 2005. 183p.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, p.1039-1042, 2011.

FERROL, N.; TAMAYO, E.; VARGAS, P. The heavy metal paradox in arbuscular mycorrhizas: from mechanisms to biotechnological applications. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 22, p. 6253-6265, 2016.

GARG, N.; CHANDEL, S. Arbuscular Mycorrhizal Networks: Process and Functions. **Agronomy for Sustainable Development**, v.30, n.3, p.581-599, 2010.

- GEEBELEN, W.; VANGRONSVELD, J.; ADRIANO, D.C.; POUCKE, L.C.V.; CLIJSTERS, H. Effect of Pb-EDTA and EDTA in oxidative stress reactions and mineral uptake in *Phaseolus vulgaris*. **Physiologia Plantarum**, v.115, p.377-384, 2002.
- GILL, R.A.; ZANG, L.; ALI, B.; FAROOQ, M.A.; CUI, P.; YANG, S.; ALI, S.; ZHOU, W. Chromium-induced physio-chemical and ultrastructural changes in four cultivars of *Brassica napus* L. **Quimiosfera**, v.120, p.154-64, 2015.
- GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New phytologist**, v.84, n.3, p.489-500, 1980.
- GREIPSSON, S. (2011) Phytoremediation. **Nature Education Knowledge** 3 (10):7. Disponível em:< <https://www.nature.com/scitable/knowledge/library/phytoremediation-17359669>>. Acesso em 10 de junho de 2017.
- HISCOX, J.D.; TSRAELSTAM, G.F.A. method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian Journal of Botany**, v.57, p.1332-1334, 1979.
- HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. The Water-cultured method for growing plants without soil. **California Agricultural Experiment Station Circular 347**, p. 1-32, 1950.
- HUANG, J.W.; CUNNINGHAM, S.D. Lead phytoextraction: species variation in lead uptake and translocation. **New Phytologist, Sheffield**, v.134, n.1, p. 75-84, set. 1996.
- INMET-Instituto Nacional de Meteorologia. **Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa – BDMEP**. 2018. Acessado em 20 de março de 2019, em: <http://www.inmet.gov.br/projetos/rede/pesquisa>.
- JIANG, W.; LIU, D. Pb-induced cellular defense system in the root meristematic cells of *Allium sativum* L. **BMC Plant Biol.**, v.10, p.40, 2010.
- KABATA-PENDIAS, A. Trace elements in soils and plants. 4.ed. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis Group, 2011. 534p.
- KODRE, A.; ARCON, I.; DEBELJAK, M.; POTISEK, M.; LIKAR, M.; VOGELMIKUS, K. Arbuscular mycorrhizal fungi alter Hg root uptake and ligand environment as studied by X-ray absorption fine structure. **Environmental and Experimental Botany**, v.133, p.12-23, 2017.
- KOPITTKE, P.M.; ASHER, C.J.; KOPITTKE, R.A.; MENZIES, N.W. Toxic effects of Pb²⁺ on growth of cowpea (*Vigna unguiculata*). **Environ Pollut.** v.150, n.2, p.280-287, 2007.
- KOSKE, R.E.; GEMMA, J.N. A modified procedure for to detect VA mycorrhizas. **Mycological Research**, v.92, p.486-488, 1989.

- KUMAR, B.; SMITA, K.; FLORES, L.C. Plant mediated detoxification of mercury and lead. **Arabian Journal of Chemistry**, v.10, n.2, p.2335-2342, 2017.
- LAJAYER, B.A.; GHORBANPOUR, M.; NIKABADI, S. Heavy metals in contaminated environment: Destiny of secondary metabolite biosynthesis, oxidative status and phytoextraction in medicinal plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.145, p.377-390, 2017.
- LERMEN, C.; SUGAUARA, E.Y.; RAIMUNDO, K.F.; CAZELLA, L.N.; FERRARI, M.P.S.; SUGAUARA, R.R.; BELTRAME, S.R.; ALBERTON, O. Fungos micorrízicos e atividade microbiana em solo cultivado com assa-peixe, confrei e picão. **Journal of Agronomic Sciences**, Umuarama, v.5, n.2, p.135-146, 2016.
- LI, H.; LUO, N.; ZHANG, L.J.; ZHAO, H.M.; LI, Y.W.; CAI, Q.Y.; WONG, M.H.; MO, C.H. Do arbuscular mycorrhizal fungi affect cadmium uptake kinetics, subcellular distribution and chemical forms in rice. **Science of The Total Environment**, v.571, p.1183-1190, 2016.
- LICHTENTHALER, H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigment photosynthetic biomembranes. **Methods Enzymology**. San Diego, v.148, p.362-385, 1987.
- MA, L.Q.; KOMAR, K.M.; TU, C.; ZHANG, W.; CAI, Y.; KENNELLEY, E.D. A fern that hyperaccumulates arsenic. **Nature**, v.409: 579, 2001.
- MARQUES, T.C.L.L.S.M.; MOREIRA, F.M.S. & SIQUEIRA, J.O. Crescimento e teor de metais de mudas de espécies arbóreas cultivadas em solo contaminado com metais pesados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, p.121-132, 2000.
- MEYER, E.; LONDOÑO, D.M.M.; ARMAS, R.D.; GIACHINI, A.J.; ROSSI, J.R.; STOFFEL, S.C.G.; SOARES, C.R.F.S. Arbuscular mycorrhizal fungi in the growth and extraction of trace elements by *Chrysopogon zizanioides* (vetiver) in a substrate containing coal mine wastes. **International Journal of Phytoremediation**, v.19, n. 2, p.113-120, 2017.
- MNASRI, M.; JANOUSKOVÁ, M.; RYDLOVÁ, J.; ABDELLEY, C.; GHNAYA, T. Comparison of arbuscular mycorrhizal fungal effects on the heavy metal uptake of a host and a non-host plant species in contact with extraradical mycelial network. **Chemosphere**, v.171, p.476-484, 2017.
- MORAES, C. L.; MARINI, P.; FERNANDO, J. A.; MORAES, D.M.; CASTRO, L. A. S. de; LOPES, N. F. Alterações fisiológicas e ultraestruturais de plântulas de tomate induzidas por chumbo. **Iheringia Série Botânica**, Porto Alegre, v.69, n.2, p.313-322, 2014.
- PAIVA, H.N.; CARVALHO, J.G.; SIQUEIRA, J.O.; FERNANDES, A.R.; MIRANDA, J.R.P. Influência de doses crescentes de chumbo sobre o teor e o conteúdo

de nutrientes e pb em mudas de ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* (Mart.) Standl.). **Revista Árvore**, v.27, n.2, p.151-158, 2003.

REHMAN, M.Z.U.; RIZWAN, H.; ALI, S.; OK, Y.S.; ISHAQUE, W.; SAIFULLAH,; NAWAZ, M.F.; AKMAL, F.; WAQAR, M. Remediation of heavy metal contaminated soils by using *Solanum nigrum*: a review. **Ecotoxicologia e Segurança Ambiental**, v.143, p. 236-248, 2017.

ROONGTANAKIAT, N.; SANO, S. Phytoextraction of zinc, cadmium and lead from contaminated soil by vetiver grass. **Kasetsart Journal, Natural Science**, v.45, p.603-612, 2011.

ROSSATO, L.V.; NICOLOSO, F.T.; FARIAS, J.G.; CARGNELLUTI, D.; TABALDI, L.A.; ANTES, F.G.; DRESSLER, V.L.; MORSCH, V.M.; SCHETINGER, M.R.C. Effects of lead on the growth, lead accumulation and physiological responses of *Pluchea sagittalis*. **Ecotoxicology**, v.21, p.111-123, 2012.

SELAMAT, S. N.; ABDULLAH, S. R.; IDRIS, M. Phytoremediation of lead (Pb) and arsenic (As) by *Melastoma malabathricum* L. from contaminated soil in separate exposure. **International Journal of Phytoremediation**, v.16, p.694-703, 2014.

SOUZA, L.A.; LÓPEZ ANDRADE, S.A.; RIBEIRO SOUZA, S.C.; SCHIAVINATO, M.A. Evaluation of Mycorrhizal Influence on the Development and Phytoremediation Potential of *Canavalia Gladiata* Pb-Contaminated Soils. **International Journal of Phytoremediation**, v.15, n.5, p.465-476, 2013.

SUBBA, P.; MUKHOPADHYAY, M.; MAHATO, S.K; BHUTIA, K.D.; MONDAL, K.T.; GHOSH, K.S. **Physiology and Molecular Biology Plants**, v.20, p.461-473, 2014.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5ª ed. Porto Alegre, Artmed. 848p. 2017.

TU, C.; MA, L.Q. Effects of arsenate and phosphate on their accumulation by an arsenic-hyperaccumulator *Pteris vittata* L. **Plant Soil**, v.249, p.373-382, 2003.

VIANA, T.V.A.; VASCONCELOS, D.V.; AZEVEDO, B.M.; SOUZA, V.F. Estudo da aptidão agroclimática do Estado do Piauí para o cultivo da aceroleira. **Revista Ciência Agronômica**, v.33, n.2, p.5-12, 2002.

WALKER, W. M.; MILLER, J. E.; HASSETT, J. J. Effect of lead and cadmium upon the calcium, magnesium, potassium, and phosphorus concentration in young corn plants. **Soil Science**, Baltimore, v. 124, p. 145-151, 1977.

YANG, Y.; LIANG Y.; HAN, X., CHIU, T.Y.; GHOSH, A.; CHEN, H.; TANG, M. The roles of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in phytoremediation and tree-herb interactions in Pb contaminated soil. **Scientific Reports**, v.6, p.20469, 2016.

YONGPISANPHOP, J.; BABEL, S.; KRUATRACHUE, M.; POKETHITIYOOK, P. Phytoremediation Potential of Plants Growing on the Pb-Contaminated Soil at the Song Tho Pb Mine, Thailand. **Soil and Sediment Contamination: An International Journal**, v.26, p.426-437, 2017.

YONGSHENG, W.; QIHUI, L.; QIAN, T. Effect of Pb on the growth, accumulation and quality component of the tea plant. **Procedia Engineering**, v.18, p. 214 - 219, 2011.

ZHANG, Y.; HU, J.; BAI, J.; WANG, J.; YIN, R.; WANG, J.; LIN, X. Arbuscular mycorrhizal fungi alleviate the heavy metal toxicity on sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants cultivated on a heavily contaminated field soil at a WEEE-recycling site. **Science of The Total Environment**, v.628, p.282-290, 2018.

ZHIVOTOVSKY, O. P.; KUZOVKINA, J. A.; SCHULTHESS, C. P.; MORRIS, T.; PETTINELLI, D.; GE, M. Hydroponic screening of willows (*Salix* L.) for lead tolerance and accumulation. *International Journal of Phytoremediation*, v.13, p.75-94, 2011.