



Universidade Estadual de Santa Cruz  
Programa Regional de Pós-graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente  
Mestrado em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente

RESPOSTAS MORFO-FISIOLÓGICAS DE *Genipa americana* L. AO  
CROMO TRI E HEXAVALENTE: AVALIAÇÃO DE SEU POTENCIAL  
FITORREMEIADOR

**PRODEMA**

KALINE BENEVIDES SANTANA

ILHÉUS, BAHIA  
2007

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

KALINE BENEVIDES SANTANA

RESPOSTAS MORFO-FISIOLOGICAS DE *Genipa americana* L. AO CROMO  
TRI E HEXAVALENTE: AVALIAÇÃO DE SEU POTENCIAL  
FITORREMEIADOR

Dissertação apresentada, para obtenção do título  
de mestre em Desenvolvimento Regional e Meio  
Ambiente.

Orientador: Dr. Alex-Alan F. de Almeida

Co-orientadora: Dra. Delmira da C. Silva

ILHÉUS - BAHIA

AGOSTO - 2007

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas bênçãos recebidas.

A minha família, pela tolerância e paciência.

Ao meu orientador Alex-Alan Furtado de Almeida e minha Co-orientadora Delmira da Costa Silva, por me aceitarem e me instruírem.

A Universidade Estadual de Santa Cruz, pela formação e suporte técnico para a realização da pesquisa.

A Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC), que disponibilizou a casa de vegetação do Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC) para montagem do experimento, assim como suporte técnico nas pessoas de Otaviano, Vivaldino e Geraldo. Esses dois últimos agradeço em especial por zelarem as minhas plantinhas e fornecerem o lanche tão esperado depois de horas de trabalho: o maravilhoso fruto da jaca.

Ao Service Central d' Analyse de Lyon na França, pelo processamento das amostras vegetais de *Genipa americana* e análise da composição química no ICPMS. E um agradecimento todo especial ao professor Pedro Antônio Oliveira Mangabeira por estar presente e atuante em todo o processo.

Aos meus amigos mestres Alberto, Bruna e Vânia, aos estagiários e bolsistas do laboratório de Anatomia vegetal e Fisiologia Vegetal. Ao mestrando Tiago Santana Rosa, as minhas amigas do mestrado: Luana, Andréa, Cris, Geórgia e a todos que direta ou indiretamente me ajudaram a finalizar esse trabalho.

Obrigada!



## RESUMO

O cromo (Cr) é proveniente de deposições de resíduos de origem industrial, como curtumes, siderurgia, têxtil, metalurgia, papel e celulose e as geradoras de energia, dentre outras. Em altas concentrações este metal é altamente tóxico para animais, plantas e seres humanos; e se encontra biodisponível no ambiente nas formas de oxidação tri ( $\text{Cr}^{3+}$ ) e hexavalente ( $\text{Cr}^{6+}$ ). A forma  $\text{Cr}^{3+}$  é menos tóxica, mais estável e de pouca mobilidade nas plantas, enquanto a  $\text{Cr}^{6+}$  é mais tóxica, instável e altamente móvel. Estudos com *Genipa americana* em solução nutritiva demonstraram o seu potencial fitorremediador para  $\text{Cr}^{3+}$  e a sua alta tolerância ao alagamento do solo, sendo, portanto, uma espécie com potencialidade para ser usada em recomposição de matas ciliares em bacias hidrográficas contaminadas com Cr. Este trabalho teve como objetivo principal avaliar o papel de *G. americana* na fitorremediação do Cr, nas formas  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$ , por meio de avaliações de trocas gasosas foliares, crescimento, composição química e de estudos anatômicos. O experimento foi conduzido em condições de casa de vegetação com plântulas obtidas a partir de sementes germinadas em areia lavada e autoclavada. Aos quatro meses de idade foram transferidas para solução nutritiva de Hoangland e Arno, com  $\frac{1}{4}$  de força iônica, onde permaneceram três meses para adaptação. Logo após, foram submetidas às concentrações de 15 e 30  $\text{mg L}^{-1}$  Cr, nas formas de  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$ . Aos 15 dias após a aplicação dos tratamentos, foram realizadas as medições de trocas gasosas foliares e coletadas as plântulas para avaliações de crescimento, composição química e estudos anatômicos. Os resultados demonstraram que (i) o  $\text{Cr}^{6+}$ , uma vez absorvido pelo sistema radicular, foi reduzido a  $\text{Cr}^{3+}$  tanto na raiz como na parte aérea; (ii) a absorção de Cr pelas raízes, nas formas  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$ , interferiu na cinética de absorção de  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Cr}^{6+}$ , Zn, Cu, Fe, K, Mg, Ca e P; (iii) o incremento de Cr, na forma de  $\text{Cr}^{6+}$ , promoveu decréscimo na biomassa de raiz e, nas formas  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$  na biomassa da parte aérea; (iv) o  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$  promoveram aumento de área foliar e alterações morfológicas em níveis tissular e celular, principalmente no núcleo e na membrana plasmática; (v) o Cr, principalmente na forma  $\text{Cr}^{6+}$ , promoveu decréscimo na fotossíntese líquida por unidade de área foliar, na condutância estomática ao vapor de água e na transpiração foliar; e (vi) o Cr acumulou em altas concentrações no sistema radicular somente na forma de  $\text{Cr}^{3+}$ . Concluiu-se que, embora  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$  afetaram o crescimento e o desenvolvimento das plântulas de *G. americana*, o cromo, na forma de  $\text{Cr}^{6+}$ , foi mais tóxico que o  $\text{Cr}^{3+}$ . Entretanto, esta espécie lenhosa demonstrou potencialidades fitorremediadoras, principalmente como planta fitoestabilizadora de  $\text{Cr}^{6+}$  e rizofiltradora de  $\text{Cr}^{3+}$ .

Palavras-chave: anatomia, composição química, crescimento, fitoestabilização, hiperacumulação, jenipapo, metal pesado, rizofiltração, trocas gasosas foliares.

## ABSTRACT

Chromium (Cr) originates from depositions of residues of industrial origin, as tannings, siderurgy, textile, metallurgy, paper and cellulose and those generating energy, among others. At high concentrations this metal is highly poisonous for animals, plants and human beings; and is bioavailable in the atmosphere in the oxidation forms tri ( $\text{Cr}^{3+}$ ) and hexavalent ( $\text{Cr}^{6+}$ ). Form  $\text{Cr}^{3+}$  is less poisonous, more stable and of little mobility in the plants, while  $\text{Cr}^{6+}$  is more poisonous, unstable and highly mobile. Studies with *Genipa americana* in nutrient solution demonstrated its phytoremediator potential for  $\text{Cr}^{3+}$  and its high tolerance to soil flooding, being, therefore, a species with potentiality to be used in recomposition of ciliary forests in hydrographic basins polluted with Cr. This work had as main objective to evaluate the role of *G. americana* in the phytoremediation of Cr, in the  $\text{Cr}^{3+}$  and  $\text{Cr}^{6+}$  forms, through evaluations of leaf gas exchange, growth, chemical composition and anatomical studies. The experiment was conducted under green-house conditions with plantlets obtained from seeds germinated in washed and autoclaved sand. At four-months of age were transferred to Hoangland and Arno nutrient solution, at  $\frac{1}{4}$  ionic strength, in which stayed three months for adaptation. Thereafter, were submitted to Cr concentrations of 15 and 30  $\text{mg L}^{-1}$ , in the forms of  $\text{Cr}^{3+}$  and  $\text{Cr}^{6+}$ . At 15-days after treatments application, measurements of leaf gas exchanges were done and seedlings were sampled for growth evaluations, chemical composition and anatomical studies. The results demonstrated that (i)  $\text{Cr}^{6+}$ , once absorbed by the root system, was reduced to  $\text{Cr}^{3+}$  in the root and in the aerial part; (ii) the absorption of Cr by roots, in the forms  $\text{Cr}^{3+}$  and  $\text{Cr}^{6+}$ , interfered in the absorption kinetics of  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Cr}^{6+}$ , Zn, Cu, Fe, K, Mg, Ca and P; (iii) the increment of Cr, in the  $\text{Cr}^{6+}$  form promoted decrease in root biomass and, in the forms of  $\text{Cr}^{3+}$  and  $\text{Cr}^{6+}$  in the biomass of the aerial part; (iv)  $\text{Cr}^{3+}$  and  $\text{Cr}^{6+}$  promoted increase in leaf area and morphologic alterations at the tissue and cellular levels, mainly in the nucleus and in the plasmatic membrane; (v) Cr, mainly in the  $\text{Cr}^{6+}$  form, promoted decrease in net photosynthesis per unit leaf area, in stomatal conductance to water vapor and in leaf transpiration; and (vi) Cr accumulated in high concentrations in the root system only in the  $\text{Cr}^{3+}$  form. It was conclude that, although  $\text{Cr}^{3+}$  and  $\text{Cr}^{6+}$  affected the growth and the development of *G. americana* seedlings, chromium in the  $\text{Cr}^{6+}$  form was more toxic than  $\text{Cr}^{3+}$ . However, this woody species demonstrated phytoremediator potential, mainly as a phytostabilizer plant for  $\text{Cr}^{6+}$  and rhizofilter of  $\text{Cr}^{3+}$ .

Key-words: anatomy, chemical composition, growth, phytostabilization, hyperaccumulation, genipap, heavy metal, rhizofiltration, leaf gas exchange.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1-Taxa fotossintética líquida (A) em folhas de plântulas de *G. americana* submetidas às concentrações de 0, 15 e 30mg L<sup>-1</sup> de Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup> respectivamente em solução nutritiva aos 15 dias após a aplicação dos tratamentos. Letras maiúsculas referem-se às comparações entre as concentrações de cromo na mesma forma de oxidação e as letras minúsculas às comparações entre cromos tri e hexavalente, pelo teste de Tukey (P<0,05). As medições foram efetuadas em irradiância de 800 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Valores médios de (X/4) repetições (±EP).....35
- Figura 2-Condutância estomática ao vapor de água (gs) em folhas de plântulas de *G. americana* submetidas às concentrações de 0, 15 e 30mg L<sup>-1</sup> de Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup> respectivamente em solução nutritiva aos 15 dias após a aplicação dos tratamentos. Letras maiúsculas referem-se às comparações entre as concentrações de cromo na mesma forma de oxidação e as letras minúsculas às comparações entre cromos tri e hexavalente, pelo teste de Tukey (P<0,05). As medições foram efetuadas em irradiância de 800 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Valores médios de (X/4) repetições (±EP).....37
- Figura 3-Transpiração (E) em folhas de plântulas de *G. americana* submetidas às concentrações de 0, 15 e 30mg L<sup>-1</sup> de Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup> respectivamente em solução nutritiva aos 15 dias após a aplicação dos tratamentos. Letras maiúsculas referem-se às comparações entre as concentrações de cromo na mesma forma de oxidação e as letras minúsculas às comparações entre cromos tri e hexavalente, pelo teste de Tukey (P<0,05). As medições foram efetuadas em irradiância de 800 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Valores médios de (X/4) repetições (±EP).....39
- Figura 4: A-J - Secção transversal da raiz submetida ao tratamento com o Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup>. (A-B) Controle: A região cortical, B detalhe das células da região cortical; (C-D) tratamento 15 mg L<sup>-1</sup> Cr<sup>3+</sup>, C região cortical, D detalhe das células da região cortical; (E-F) tratamento 30 mg L<sup>-1</sup> Cr<sup>3+</sup>, E região cortical, F detalhe das células da região cortical; (G-H) tratamento 15 mg L<sup>-1</sup> Cr<sup>6+</sup>, G região cortical, H detalhe das células da região cortical; (I-J) tratamento 30 mg L<sup>-1</sup> Cr<sup>6+</sup>, I região cortical, J detalhe das células da região cortical. Abreviaturas: espaços intercelulares(EI), córtex (CX), epiderme (EP), células com conteúdo denso(CD), núcleo elíptico (NE). Azul de astra e safranina a 1%. Escala: (A, C, E, G, I) 60 μm, (B, D, F, H, J) 10 μm.....47
- Figura 5: A-D - Secção transversal da raiz - reação com floroglucina acidificada a 1%, evidenciada pelas paredes celulares lignificadas - submetida as

concentrações de  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$ . (A) Controle, (B) tratamento 30 mg L<sup>-1</sup>  $\text{Cr}^{3+}$ , (C) tratamento 15 mg L<sup>-1</sup>  $\text{Cr}^{6+}$ , (D) tratamento 30 mg L<sup>-1</sup>  $\text{Cr}^{6+}$ . Setas indicam elementos de vaso. Escala: 60  $\mu\text{m}$ .....48

Figura 6: G-H -Secção transversal do caule submetido as concentrações de  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$ . (A, B, C, D) Controle, (E F, G, H) tratamento 15 mg L<sup>-1</sup>  $\text{Cr}^{3+}$ . Abreviaturas: epiderme(EP),córtex (CX), membrana plasmática (MP), xilema (X). Azul de astra e safranina a 1%,. Escala: (A,C,E,G) 60  $\mu\text{m}$ , (B, D, F, H) 10  $\mu\text{m}$ .....49

Figura 7: G-H - Secção transversal do caule submetido as concentrações de  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$ . (A,B,C,D) 30mg L<sup>-1</sup>  $\text{Cr}^{3+}$ , (E, F, G, H) tratamento 15 mg L<sup>-1</sup>  $\text{Cr}^{6+}$ . Abreviaturas: epiderme(EP),córtex (CX), membrana plasmática (MP), xilema (X). Azul de astra e safranina a 1%,. Escala: (A,C,E,G) 60  $\mu\text{m}$ , (B, D,F, H) 10  $\mu\text{m}$ .....50

Figura 8: (I-J): Secção transversal do caule submetido ao  $\text{Cr}^{3+}$   $\text{Cr}^{6+}$ ,teste histoquímico com lugol a 1%.(A,B) Controle,(C-D) tratamento 15 mg L<sup>-1</sup> de  $\text{Cr}^{3+}$ , (E-F), tratamento 30 mg L<sup>-1</sup> de  $\text{Cr}^{3+}$ , (G-H) tratamento 15 mg L<sup>-1</sup> de  $\text{Cr}^{6+}$ , 30 mg L<sup>-1</sup> de  $\text{Cr}^{6+}$ , verifica-se o acúmulo de amido na região cortical e raios parenquimáticos (setas).Abreviaturas: drusas (Dr). Escala: (A, C, E, G,I ) 60  $\mu\text{m}$  (B, D, F, H, J) 30  $\mu\text{m}$ .....51

Figura 9: A-D -Secção transversal da folha submetida ao  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$ . (A-B) Controle: A nervura central, B:detalhe do mesofilo; (C-D) tratamento 30 mg L<sup>-1</sup>  $\text{Cr}^{3+}$ : C nervura central, D detalhe do mesofilo .Setas indicam espaços intercelulares.Abreviaturas: Nervura central (NC), epiderme (EP), parênquima paliçádico (PP), parênquima lacunoso (PL), colênquima(CO).Azul de astra e safranina a 1%,. Escala: (A,C) 170  $\mu\text{m}$ , (B, D) 30  $\mu\text{m}$ .....52

Figura 10: A-D : Secção transversal da folha submetida ao  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$  (A-B) tratamento 15 mg L<sup>-1</sup>  $\text{Cr}^{6+}$ : A nervura central, B detalhe do mesofilo; (C-D) tratamento 30 mg L<sup>-1</sup>  $\text{Cr}^{6+}$ : C nervura central, D detalhe do mesofilo. Setas indicam espaços intercelulares.Abreviaturas: Nervura central (NC), epiderme (EP), parênquima paliçádico (PP), parênquima lacunoso (PL), colênquima(CO), colapso celular (CC).Azul de astra e safranina a 1%. Escala: (A,C) 170  $\mu\text{m}$ , (B,D) 30  $\mu\text{m}$ .....53

Figura 11: A-D:Secção transversal da nervura central da folha de *Genipa americana* submetida ao  $\text{Cr}^{3+}$   $\text{Cr}^{6+}$  -teste histoquímico com lugol. (A) Controle, (B) tratamento 15 mg L<sup>-1</sup> de  $\text{Cr}^{3+}$ , (C) tratamento 15 mg L<sup>-1</sup> de  $\text{Cr}^{6+}$ , (D) tratamento 30 mg L<sup>-1</sup> de  $\text{Cr}^{6+}$ .Setas indicam amido nas células de parênquima próximas ao tecido vascular. Escala: (A, B, C, D) 60

- $\mu\text{m}$ .....54
- Figura 12 - Pictograma correspondente à contagem de  $\text{Cr}^{3+}$  em raízes, caules e folhas de plântulas de *G.americana* cultivadas em solução nutritiva contendo 15 e 30  $\text{mg L}^{-1}$   $\text{Cr}^{3+}$ . Cada curva representa um valor médio de 6 repetições.....56
- Figura 13 - Pictograma correspondente à contagem de  $\text{Cr}^{3+}$  em raízes, caules e folhas de plântulas de *G.americana* cultivadas em solução nutritiva contendo 15 e 30  $\text{mg L}^{-1}$   $\text{Cr}^{6+}$ . Cada curva representa um valor médio de 6 repetições.....56
- Figura 14: Pictograma correspondente à injeção de uma solução aquosa contendo 500 $\text{ng g}^{-1}$  de  $\text{Cr}^{3+}$  e 500 $\text{ng g}^{-1}$  de  $\text{Cr}^{6+}$  sem o material vegetal.....57
- Figura 15 - Pictograma do Cr em biomassa seca de raízes de plântulas e *Genipa americana* submetidas a 30 $\text{mg L}^{-1}$   $\text{Cr}^{6+}$ . Cada curva representa uma repetição (n=7).....57
- Figura 16 -Concentração de Cr em raiz (A), caule (B) e folhas (C) em plântulas de *G. americana* submetidas a concentrações de 15 e 30  $\text{mg L}^{-1}$  de  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$  em solução nutritiva juntamente com o controle aos 15 dias após a aplicação dos tratamentos.Valores médios de três repetições ( $\pm$  EP). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas e minúsculas no gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ ). Letras minúsculas referem-se às comparações entre cromos tri e hexavalente e as letras maiúsculas comparações entre as concentrações para o mesmo estágio de oxidação.....61
- Figura 17-Concentração de Zn em raiz (A), caule (B) e folhas (C) em plântulas de *G. americana* submetidas a concentrações de 15 e 30  $\text{mg L}^{-1}$  de  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$  em solução nutritiva juntamente com o controle aos 15 dias após a aplicação dos tratamentos.Valores médios de três repetições ( $\pm$  EP). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas e minúsculas no gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ ). Letras minúsculas referem-se às comparações entre cromos tri e hexavalente e as letras maiúsculas comparações entre as concentrações para o mesmo estágio de oxidação.....64

- Figura 18- Concentração de Cu em raiz (A), caule (B) e folhas (C) em plântulas de *G. americana* submetidas a concentrações de 15 e 30 mg L<sup>-1</sup> de Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup> em solução nutritiva juntamente com o controle aos 15 dias após a aplicação dos tratamentos. Valores médios de três repetições (± EP). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas e minúsculas no gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). Letras minúsculas referem-se às comparações entre cromos tri e hexavalente e as letras maiúsculas comparações entre as concentrações para o mesmo estágio de oxidação.....65
- Figura 19- Concentração de Fe em raiz (A), caule (B) e folhas (C) em plântulas de *G. americana* submetidas a concentrações de 15 e 30 mg L<sup>-1</sup> de Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup> em solução nutritiva juntamente com o controle aos 15 dias após a aplicação dos tratamentos. Valores médios de três repetições (± EP). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas e minúsculas no gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). Letras minúsculas referem-se às comparações entre cromos tri e hexavalente e as letras maiúsculas comparações entre as concentrações para o mesmo estágio de oxidação.....68
- Figura 20- Concentração de K em raiz (A), caule (B) e folhas (C) em plântulas de *G. americana* submetidas a concentrações de 15 e 30 mg L<sup>-1</sup> de Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup> em solução nutritiva juntamente com o controle aos 15 dias após a aplicação dos tratamentos. Valores médios de três repetições (± EP). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas e minúsculas no gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). Letras minúsculas referem-se às comparações entre cromos tri e hexavalente e as letras maiúsculas comparações entre as concentrações para o mesmo estágio de oxidação.....70
- Figura 21- Concentração de Mg em raiz (A), caule (B) e folhas (C) em plântulas de *G. americana* submetidas a concentrações de 15 e 30 mg L<sup>-1</sup> de Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup> em solução nutritiva juntamente com o controle aos 15 dias após a aplicação dos tratamentos. Valores médios de três repetições (± EP). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas e minúsculas no gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). Letras minúsculas referem-se às comparações entre cromos tri e hexavalente e as letras maiúsculas comparações entre as concentrações para o mesmo estágio de oxidação.....72
- Figura 22- Concentração de Ca em raiz (A), caule (B) e folhas (C) em plântulas de *G. americana* submetidas a concentrações de 15 e 30 mg L<sup>-1</sup> de Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup> em solução nutritiva juntamente com o controle aos 15 dias após a aplicação dos tratamentos. Valores médios de três repetições (± EP). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas e minúsculas no gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). Letras minúsculas



referem-se às comparações entre cromos tri e hexavalente e as letras maiúsculas comparações entre as concentrações para o mesmo estágio de oxidação.....74

Figura 23: Concentração de P em raiz (A), caule (B) e folhas (C) em plântulas de *G. americana* submetidas a concentrações de 15 e 30 mg L<sup>-1</sup> de Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup> em solução nutritiva juntamente com o controle aos 15 dias após a aplicação dos tratamentos. Valores médios de três repetições ( $\pm$  EP). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas e minúsculas no gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). Letras minúsculas referem-se às comparações entre cromos tri e hexavalente e as letras maiúsculas comparações entre as concentrações para o mesmo estágio de oxidação.....76

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Biomassa seca de raiz (BSR), caule (BSC), folha (BSF) e total (BST), razão entre raiz e área (RPA), altura (ALT), diâmetro do coleto (D), número de folhas (NF) e área foliar individual (AF) em plântulas de <i>G. americana</i> submetidas a diversas concentrações de Cr <sup>3+</sup> e Cr <sup>6+</sup> em solução nutritiva aos 15 dias após a aplicação dos tratamentos. Valores médios de seis repetições (±EP).....	41
--	----



## SUMÁRIO

RESUMO.....	iii
1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1    Objetivos.....	16
1.1.2    Objetivo Geral.....	16
1.1.3    Objetivos Específicos.....	16
2. REVISÃO DE LITERATURA	
2.1 O cromo.....	17
2.1.2 O cromo hexavalente (Cr <sup>6+</sup> ) e seus efeitos.....	18
2.1.3 O cromo trivalente (Cr <sup>3+</sup> ) e seus efeitos.....	20
2.1.4 Fitorremediação.....	21
2.1.5 Jenipapeiro.....	24
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	27
3.1 Material Vegetal e Condições de Cultivo.....	27
3.2 Estimativas de variáveis alométricas e obtenção da biomassa seca.....	28

3.3	Medições das trocas gasosas foliares.....	28
3.4	Estudos anatômicos em microscopia óptica.....	29
3.5	Área foliar e massa foliar específica.....	30
3.6	Composição química.....	30
3.6.1	Especiação do cromo nas formas tri ( $\text{Cr}^{3+}$ ) e hexavalente ( $\text{Cr}^{6+}$ ).....	31
3.7	Análise Estatística.....	31
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
4.1	Trocas gasosas foliares.....	32
4.2	Variáveis de crescimento.....	39
4.3	Anatomia Vegetal .....	42
4.4	Composição química.....	55
4.4.1	Especiação de $\text{Cr}^{3+}$ e $\text{Cr}^{6+}$ .....	55
4.5	Os Teores de Cromo no Jenipapo.....	58
4.5.1	O Cr e a sua interação com os micro e macronutrientes minerais.....	62
5.	CONCLUSÕES.....	77
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78

## 1. INTRODUÇÃO

O cromo (Cr) é um metal que se encontra distribuído nos solos, águas e materiais biológicos. É considerado não essencial para as plantas, contudo, possui um papel importante nos seres humanos, participando do metabolismo dos carboidratos (SAMANTARAY, 1998).

Segundo CASTILHOS et al., (2001a), o Cr ocorre nos ecossistemas em virtude da intemperização do material de origem dos solos. Além disso, pode ser introduzido por meio de deposições de resíduos de origem industrial, como curtumes, siderurgia, têxtil, metalurgia do ferro e do aço, papel e celulose e as geradoras de energia, dentre outras.

O Cr dentre as formas encontradas na natureza pode existir em vários estados de oxidação, apresentando valência de 2<sup>-</sup> e 6<sup>+</sup>. Sendo que, somente duas formas de valência 3<sup>+</sup> (o cátion Cr<sup>3+</sup> e CrOH<sup>2+</sup>) e duas de valência 6<sup>+</sup> (os ânions Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub><sup>-2</sup> e CrO<sub>4</sub><sup>-2</sup>) são normalmente encontrados no ambiente. O estado trivalente é a forma predominante, mais estável, menos tóxica e de baixa mobilidade no solo, em razão de sua precipitação como óxidos e hidróxidos em pH superior a 5,0 (RAI, et al., 1989), ao passo que a forma hexavalente apresenta-se mais instável, solúvel em uma ampla faixa de pH e com um grau de toxidez maior.

Os procedimentos normalmente empregados para as descontaminações de água e solo envolvem a redução de Cr<sup>6+</sup> a Cr<sup>3+</sup> por processos químicos e eletroquímicos, a exemplo da incorporação de Fe<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, carbono orgânico e, ou diminuição do pH. Outro procedimento também empregado é a biorremediação a qual utiliza microorganismos com tolerância aos teores tóxicos de Cr, onde alguns gêneros

promovem a redução a  $\text{Cr}^{3+}$  por meio da atividade da enzima redutase do cromato ou por metabolitos bacterianos, tais como o ácido sulfúrico (CASTILHOS et al., 2001b). A descontaminação é o uso da fitorremediação, uma tecnologia que emprega a capacidade que algumas plantas têm em concentrar elementos e compostos poluentes do ambiente e metabolizar em seus tecidos, promovendo a translocação, quelação, degradação e volatilização do elemento ou composto (SMITS, 2005; SALT, et al., 1998).

Há dez anos a fitorremediação vem ganhando aceitação como uma alternativa não-invasiva de remediação de poluentes inorgânicos e vem sendo empregada como uma forma de mitigar os impactos que os metais pesados causam no ambiente (SMITS, 2005). Atualmente, inúmeros trabalhos estão sendo realizados com o intuito de selecionar espécies vegetais que possuam a propriedade de extrair poluentes, principalmente os metais de ambientes contaminados. Nos últimos anos, vem sendo estudada a capacidade fitorremediadora das plantas aquáticas, principalmente as macrófitas, cujos resultados demonstraram o potencial de fitoextração de metais através do seu sistema radicular e acumulação em seus tecidos (QIAN et al., 1999; SAMANTARAY et al. 1998; KLUMPP et al. 2002).

As espécies vegetais hiperacumuladoras podem e devem ser utilizadas para remover metais do solo e concentrá-los nos tecidos aéreos. Posteriormente, a parte aérea e, ou a planta toda são colhidas e dispostas em lugar adequado para evitar a reciclagem dos metais acumulados durante o processo de decomposição da matéria orgânica. Recentemente, tem crescido o interesse do uso de árvores fitorremediadoras (ALMEIDA et al., 2007), pois são grandes produtoras de biomassa e certas espécies,

tais como o salgueiro (*Salix* spp.), com alta variabilidade genética, já está sendo explorado em programas de fitorremediação como espécie hiperacumuladora de cádmio (PULFORD e WATSON, 2003).

A maioria dos pesquisadores que estudam os efeitos do Cr em plantas analisa o efeito desse elemento no crescimento, na toxicidade, na translocação, assim como sua relação com solo/água. O estudo da especiação do Cr em plantas requer uma investigação visando o entendimento de quais formas químicas são mais severas e em quais regiões da planta estão alocadas e, ou armazenadas.

Com o propósito de estudar a diminuição da toxicidade do Cr, nas formas  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$  no ambiente, o presente trabalho, utilizou a fitorremediação como técnica e o jenipapeiro como planta arbórea fitorremediadora deste poluente. Esta espécie, em pesquisas anteriores (BARBOSA, 2004) apresentou a capacidade de ser utilizada como rizofiltradora e fitoestabilizadora de  $\text{Cr}^{3+}$ , com potencialidade de ser utilizada na recomposição de matas ciliares em bacias hidrográficas com níveis elevados de poluição por  $\text{Cr}^{3+}$ . A hipótese a ser testada nesse estudo é a capacidade do jenipapeiro de converter a forma mais tóxica do Cr ( $\text{Cr}^{6+}$ ) em uma forma menos tóxica ( $\text{Cr}^{3+}$ ) em seus tecidos, portanto, reduzindo o teor da forma mais tóxica do cromo no ambiente.

## 1.1 Objetivos

### 1.1.2 Geral

Avaliar as potencialidades do jenipapeiro na fitorremediação do Cr nas formas tri ( $\text{Cr}^{3+}$ ) e hexavalente ( $\text{Cr}^{6+}$ ), por meio de estudos químicos, fisiológicos e anatômicos.

### 1.1.3 Específicos

Estudar o crescimento, o desenvolvimento e a partição de matéria seca no jenipapeiro cultivado em solução nutritiva com concentrações de 15 e 30  $\text{mg L}^{-1}$   $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$ , respectivamente. Avaliar os efeitos do  $\text{Cr}^{3+}$  e do  $\text{Cr}^{6+}$  sobre as trocas gasosas foliares. Verificar as possíveis alterações provocadas pelo  $\text{Cr}^{3+}$  e pelo  $\text{Cr}^{6+}$  na morfologia interna de raízes, caules e folhas do jenipapeiro. Determinar as concentrações  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Cr}^{6+}$  e de alguns macros e micronutrientes minerais (Zn, Cu, Fe, K, Mg, Ca e P) nos órgãos citados anteriormente, visando elucidar a sua capacidade fitorremediadora de Cr nas formas de  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$  e as possíveis alterações promovidas pelas formas de Cr na sua composição química.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 O Cromo

O Cr é um metal com um número atômico 24, peso molecular de 51,996 g e densidade de 7,18 g cm<sup>-3</sup>. Este elemento é encontrado em todas as rochas da crosta terrestre, a exemplo das eruptivas ácidas como o granito (40 ppm) e das ultrabásicas (dunita e peridotita) e nos produtos do seu metamorfismo, serpentina em particular, onde o seu teor se encontra na faixa de 2000 e 3000 ppm (MALAVOLTA, 1994).

O Cr é obtido do minério cromita, metal de cor cinza que reage com ácidos clorídrico e sulfúrico. Entre as inúmeras atividades industriais e fontes antropogênicas, destacam-se as galvanoplastias, soldagens, produção de ligas Fe - Cr, curtume, produção de cromatos, dicromatos, pigmentos e vernizes.

A toxicidade do Cr depende do seu estado de oxidação, no momento em que ele é lançado no efluente (JORDÃO, 1999). Além disso, seus efeitos tóxicos são variados, podendo ser introduzido por via dérmica, respiratória ou por ingestão, dependendo também de outras variáveis tais como o tipo do composto, concentração e o tempo de contato.

A contaminação por Cr não é um problema que se restringe aos limites industriais ou aos que trabalham diretamente com os compostos, mas é também um problema ambiental (FERREIRA, 2002), pois sendo cumulativo nos organismos vivos percorre toda a cadeia alimentar.

### 2.1.2 O cromo hexavalente ( $\text{Cr}^{6+}$ ) e seus efeitos

O  $\text{Cr}^{6+}$  é utilizado em curtimento de couro, produção de tecidos, tinturas, pigmentos e chaparias cromadas. Outras fontes de emissões de  $\text{Cr}^{6+}$  incluem a combustão de óleo e carvão, soldadura de aço, pintura industrial, fabricações de coberturas e fabricações de torres submersas, que utilizam o  $\text{Cr}^{6+}$  como inibidor da ferrugem das partes submersas dessas estruturas (PELLERIN ; BOOKER, 2000).

Emissões atmosféricas e descargas de resíduos contendo Cr em efluentes de rios por diferentes tipos de indústria, permitem que o  $\text{Cr}^{6+}$  esteja presente no ar, na água (sedimentos e argila em suspensão) e no solo. Uma vez no solo ou no sedimento, o Cr pode mudar a sua valência, dependendo do ambiente físico, das substâncias químicas e das condições fisiológicas dos organismos presente nesses substratos.

O  $\text{Cr}^{6+}$  é a terceira forma de Cr encontrada na natureza. Um dos motivos pelo qual vem despertando o interesse, de pesquisadores, em estudar essa forma de Cr é devido principalmente ao seu impacto na saúde humana e os problemas ambientais causados, em virtude de sua grande maioria ser proveniente de rejeitos industriais. Inúmeras são as vias de contaminação por  $\text{Cr}^{6+}$ , podendo ser através da pele, por inalação do ar ou pó contaminado, pelo consumo de alimentos ou ingestão de água contaminada por este elemento metálico. Certas combinações de  $\text{Cr}^{6+}$  foram encontradas como sendo carcinogênicas para seres humanos. Segundo PELLERIN e BOOKER (2000), o  $\text{Cr}^{6+}$  pode se localizar especificamente nos pulmões e na cavidade nasal, quando os seres humanos são expostos às altas concentrações de  $\text{Cr}^{6+}$ , como, por exemplo, em regiões industriais. Nesse caso, o  $\text{Cr}^{6+}$  pode causar coceiras e



espirros, seguidos de úlceras e buracos no septo nasal. Além do mais, quando ingerido, pode provocar também danos aos rins, náuseas, irritações gastrointestinais, úlceras estomacais, convulsões e morte. Por outro lado, em contato com a pele, pode causar úlceras na região dérmica e reações alérgicas diversas, pois é um metal altamente alergênico (PELLERIN; BOOKER, 2000).

Existem muitas controvérsias em relação aos efeitos do  $\text{Cr}^{6+}$  na saúde humana, uma vez que há várias rotas de exposição à forma hexavalente. Segundo a Agencia Internacional para a Pesquisa do Câncer (IARC), o  $\text{Cr}^{6+}$  quando ingerido é largamente convertido a  $\text{Cr}^{3+}$  no estômago, um fato que muitos peritos acreditam prevenir exposições por meio da ingestão.

A saliva, o suco gástrico, as bactérias intestinais, o sangue, o fígado, os fluidos epiteliais, os macrófagos dos alvéolos pulmonares, o parênquima pulmonar periférico e a árvore bronquial têm sido associados à eliminação de  $\text{Cr}^{6+}$  pelo corpo humano (PELLERIN; BOOKER, 2000). Estudos realizados por SILVIO de FLORA (1999), apresentam estimativas da capacidade de vários órgãos humanos, populações de células e fluidos em reduzir o  $\text{Cr}^{6+}$ . Este autor concluiu que as células sanguíneas possuem uma alta capacidade de detoxificação por reduzir 100  $\mu\text{g}$  de  $\text{Cr}^{6+}$  em um mililitro de sangue em 60 min. Ele afirma que as conseqüências toxicológicas do  $\text{Cr}^{6+}$  se restringem à sua porta de entrada no organismo, e que o  $\text{Cr}^{6+}$  não se apresenta como uma forma tóxica sistêmica ou carcinogênica.

COSTA (1997) afirmou que em seres humanos até 10% de  $\text{Cr}^{6+}$  pode ser absorvido pela exposição oral. Além disso, demonstrou que as pessoas expostas ao  $\text{Cr}^{6+}$  na década de 1980 permaneceram com o referido elemento metálico no

organismo, mesmo após cinco anos de exposição ao  $\text{Cr}^{6+}$ . Devido ao Cr possuir alta semelhança estrutural com o fosfato, permite que seja absorvido e transportado por todos os tipos de células do organismo humano (COSTA, 1997). Uma vez na célula, o Cr é transformado quimicamente em  $\text{Cr}^{3+}$ , uma forma considerada mais estável. Entretanto, isso não significa que a célula está completamente isenta dos efeitos adversos desse metal.

Um dos principais argumentos da baixa toxicidade do  $\text{Cr}^{3+}$  se baseia no fato de possuir uma baixa capacidade de penetração na célula diferentemente do  $\text{Cr}^{6+}$ . Porém, no interior da célula, o  $\text{Cr}^{3+}$  pode provocar mutações no DNA, uma vez que pode substituir e mimetizar os fosfatos dessa macromolécula. (PELLERIN; BOOKER, 2000). Nesse caso, um indivíduo exposto ao  $\text{Cr}^{6+}$ , após sua absorção e redução a  $\text{Cr}^{3+}$  em nível celular, poderá desenvolver câncer, em virtude dessas mutações. Uma vez no corpo humano, o Cr pode ser detectado na urina, no soro e no sangue. A realização de testes dérmicos pode indicar a presença de alergias. Contudo, a determinação da concentração de metais tóxicos é realizada comumente utilizando sangue e urina (PELLERIN e BOOKER, 2000).

### 2.1.3 O cromo trivalente ( $\text{Cr}^{3+}$ ) e seus efeitos

O  $\text{Cr}^{3+}$  é consideravelmente menos tóxico em relação ao  $\text{Cr}^{6+}$  e de baixa mobilidade no solo, em razão de sua precipitação com óxidos e hidróxidos em pH superior a 5,0 (RAI, et al., 1989). Em descargas de curtumes predomina os compostos de  $\text{Cr}^{3+}$  que, dependendo de alguns parâmetros característicos do corpo receptor, pode

ser oxidado a  $\text{Cr}^{6+}$  (JORDÃO, 1999).

Atualmente, o  $\text{Cr}^{3+}$  é reconhecido como um elemento essencial no metabolismo de carboidratos e de lipídeos em seres humanos. A sua atividade biológica está relacionada com a potencialização dos efeitos da insulina na conversão de glicose em  $\text{CO}_2$  ou em lipídeo (FERREIRA, 2002). Segundo esse autor, os efeitos metabólicos da insulina se iniciam com a sua ligação ao domínio extracelular do receptor da insulina junto à membrana plasmática nas células adiposas e do fígado e a ativação subsequente da atividade da enzima cinase da tirosina do receptor, leva à autofosforilação do mesmo, assim como à fosforilação de várias outras proteínas intracelulares. Segundo FERREIRA (2002), o processo se inicia com a ativação do receptor da insulina, devido ao aumento da sua concentração no sangue. Quando a insulina se liga ao receptor, os íons Cr passam da corrente sanguínea para as células insulino-dependentes e se ligam ao receptor da insulina, ativando, posteriormente, a atividade cinase (aumento da fosforilação) do receptor. A função do Cr está justamente na ativação e no controle das reações de fosforilação e desfosforilação das enzimas conhecidas como proteínas – cinases, que são afetadas principalmente pela natureza e concentração de íons metálicos.

#### 2.1.4 Fitorremediação

A utilização de plantas que removam poluentes do ambiente, absorvendo e, ou transformando em seus tecidos (ALMEIDA et al., 2007; SALT, 1998), vem sendo

empregada como uma forma de mitigar os impactos que os metais pesados causam no ambiente. Este mesmo autor divide a fitorremediação nas seguintes áreas:

**Fitoextração:** usa as plantas com capacidade de absorção dos contaminantes pelas raízes, os quais podem ser armazenados nas raízes ou transportados e acumulados na parte aérea.

**Fitodegradação:** utiliza plantas associadas a microrganismos para degradar poluentes orgânicos.

**Rizofiltração:** utiliza plantas terrestres para absorver, concentrar e, ou precipitar os contaminantes em meio aquoso, particularmente metais ou elementos radioativos, através do seu sistema radicular.

**Fitoestabilização:** usa plantas que reduzem a ação tóxica dos poluentes no ambiente, tornando-os não-biodisponíveis.

**Fitovolatilização:** utiliza plantas que volatilizam poluentes.

Os poluentes a serem fitorremediados podem ser orgânicos ou inorgânicos. Os poluentes orgânicos encontrados no ambiente são principalmente advindos de fontes antropogênicas, como derramamentos de combustíveis e solventes, atividades militares (explosivos e armas químicas), agricultura (fertilizantes e herbicidas), indústria (substâncias químicas), tratamento de madeira, dentre outros. Dependendo das suas propriedades, esses poluentes podem ser degradados na zona radicular das plantas ou transportados para a parte aérea (SMITS, 2005; PULFORD; WATSON, 2003). Os poluentes inorgânicos são elementos naturais presentes na crosta terrestre ou na

atmosfera, que podem ser disponibilizados ao ambiente por meio de atividades de mineração, agricultura, industriais, etc. Segundo SMITS (2005), esses poluentes não podem ser degradados, e sim fitorremediados e armazenados nos tecidos vegetais. Considera-se como poluentes inorgânicos alguns micronutrientes minerais, requeridos pelas plantas em pequenas quantidades, incluindo Cu, Fe, Mn, Mo, Zn e alguns elementos não essenciais como Cr, Cd, Co, F, Hg, Se, Pb, V e W e isótopos radiativos como  $^{238}\text{U}$ ,  $^{90}\text{Sr}$  (SMITS, 2005).

O baixo custo financeiro, combinado com os fundos limitados destinados à limpeza ambiental, levou aos EUA, há dez anos atrás, a investir nessa tecnologia. Esse país gastava em média de 25 a 50 bilhões de dólares por ano e atualmente gasta de 6 a 8 bilhões, valores bem inferiores em relação àqueles que utilizavam a engenharia como ferramenta despoluidora (SMITS, 2005).

Segundo ALMEIDA et al. (2007) e PULFORD *et al.* (2001), as árvores em particular possuem inúmeros atributos para serem utilizadas como fitorremediadora de áreas contaminadas com metal pesado. Seus atributos passam pela grande quantidade de produção de biomassa, sistema radicular profundo, variabilidade genética, estabilidade na implementação de um plano de manejo, valor econômico, aceitabilidade do público, dentre outros (PULFORD et al., 2001). Estudos realizados com *Azadirachta indica* (Neem), demonstraram que as folhas dessa árvore possuem um alto potencial fitorremediador, podendo ser usada para remover o  $\text{Cr}^{6+}$  em solos alagados (SHARMA, A. et al., 2004).

A idéia de se ter uma “tecnologia verde” torna a fitorremediação popular, fazendo com que a aceitabilidade frente às agências governamentais seja altamente positiva, tornando disponíveis os investimentos nessa área. Além disso, é uma tecnologia ecológica e economicamente viável, podendo ser utilizada em grandes áreas, com possibilidade de remediar a água, o solo e o subsolo contaminados por poluentes orgânicos e inorgânicos e, ao mesmo tempo, embelezar o ambiente (DINARDI et al., 2003).

#### 2.1.5 Jenipapeiro

Pertencente à família Rubiaceae, o jenipapeiro (*Genipa americana* L.) é uma espécie pré-colombiana com origem no Norte da América do Sul (SANTOS, 2001). É encontrado em toda a América tropical, tanto sob cultivo como em estado espontâneo. Está também associado às culturas indígenas, que utilizam o corante genipina, extraído da casca das árvores e dos frutos verdes, para pintar seus corpos de negro, assim como na marcação de utensílios domésticos. Sua distribuição geográfica no Brasil abrange desde a Guiana e Marajó até São Paulo e Mato Grosso (SILVA et al., 1998).

Conforme LORENZI (2002), o jenipapeiro é uma árvore de grande porte, com altura que varia de 8-14 m e com tronco de 40-60 cm de diâmetro à altura do peito. Apresenta folhas simples, subcoriáceas e glabras de 15-35 cm de comprimento. Seu fruto é uma baga globosa grande, com polpa adocicada. A árvore é semidecídua, heliófita, seletiva e higrófila, atributos característicos de espécies típicas de florestas pluviais e semi-decídua, situada em várzeas úmidas e brejosas. Pode ocorrer também

em outras formações florestais, porém sempre em solos muito úmidos. É encontrada tanto no interior da mata primária como nas formações secundárias.

A madeira é moderadamente pesada (densidade de  $68 \text{ g cm}^{-3}$ ), flexível, compacta, fácil de trabalhar e de longa durabilidade, quando não exposta ao solo e à umidade. Pode ser empregada na construção civil, na marcenaria para a confecção de móveis, peças curvadas, obras de torno, coronhas de armas, batentes de portas e janelas, carrocerias, cabos de ferramentas e para a carpintaria em geral (LORENZI, 2002). Segundo CORRÊA (1984), os antigos mexicanos preferiam utilizar a madeira do jenipapeiro para a confecção de suas lanças, devido à sua resistência ao esmagamento ser da ordem de  $680 \text{ kg cm}^{-2}$ .

Várias partes do jenipapeiro são usadas na indústria e na medicina popular. A casca, que contém tanino, é utilizada em curtumes durante a curtição do couro. Além disso, apresenta efeito purgativo e, ao mesmo tempo, anti-diarréico, e é usada também pelo homem para curar feridas escorbúticas, úlceras venéreas e faringites granulosas. A raiz é purgativa e a sua decocção é anti-gonorréica para o homem, ao passo que as folhas são utilizadas pelo gado como forragem, e, após o cozimento, usadas como anti-diarréicas e anti-sifilíticas pelo homem (CORREA, 1989). Conforme SANTOS (2001), o fruto verde é bom para curar calos nos pés e suturas no umbigo de crianças; e seu suco pode ser usado contra anemia causada por malária ou verminose. Além disso, por sua riqueza em sais e ferro, é usado contra afecções do fígado e do baço, na cura da asma e no combate à enterite crônica.

Segundo CORRÊA (1984), o fruto do jenipapeiro agrega maior valor econômico à espécie. Embora seja raramente consumido *in natura*, é servido na frigideira com

manteiga e depois adoçado com bastante açúcar e canela (GOMES, 1982). Além disso, o fruto maduro é utilizado na fabricação de doces (em compota e cristalizado), sorvetes, licores e refrescos (SILVA et al., 1998). Por outro lado, na economia doméstica, os frutos que excedem ao consumo servem para a engorda de porcos e outros animais (CORREA, 1984).

É atribuído também ao jenipapeiro um grande valor cultural, uma vez que o corante extraído das cascas e frutos verdes serve de adornos em vestuários, enfeites, marcações em cuias e cerâmicas, tatuagens e pinturas nos corpos de guerreiros para enfrentar as batalhas, em cerimônias religiosas, em festas e luto de povos indígenas.

É considerada uma espécie de importância econômica, tanto pela sua essência florestal, quanto pela produção de alimentos. Por outro lado, trata-se de uma espécie altamente tolerante ao alagamento, podendo ser utilizada na recomposição de matas ciliares (MIELKE et al., 2003), na restauração de florestas de galerias (SALVADOR, 1986) e em plantios mistos em áreas brejosas e degradadas de preservação permanente (LORENZI, 2002).

BARBOSA (2005), em seus estudos de avaliação das potencialidades do jenipapeiro como planta fitorremediadora de  $\text{Cr}^{3+}$  em solução nutritiva, demonstrou que essa espécie apresenta uma alta capacidade rizofiltradora, vez que 98% do  $\text{Cr}^{3+}$  absorvido pela planta permaneceram no sistema radicular em altas concentrações.

O entendimento dos mecanismos que levam uma dada espécie vegetal a acumular em seus tecidos determinado tipo de metal é de suma importância para elaboração de estratégias de fitorremediação. A revisão bibliográfica realizada por SHANKER et al., (2005) sobre os efeitos do Cr nas plantas em diversos níveis, como na



germinação de sementes, no crescimento e desenvolvimento da raiz, do caule e da folha, na produção total de matéria seca, nos processos fisiológicos (fotossíntese, nutrição mineral, etc.), dentre outros, revelou parâmetros importantíssimos para a compreensão da toxicidade do Cr e de sua conversão nos vegetais.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 MATERIAL VEGETAL E CONDIÇÕES DE CULTIVO

O experimento foi conduzido em condições de casa de vegetação no Centro de Pesquisas do Cacau (Cepec)/Ceplac (39°13'59" N, 14°45'15" S, 55 m a.n.m.). As sementes de jenipapo foram obtidas de árvores localizadas entre os municípios de Itabuna e Ilhéus, BA. Posteriormente, foram germinadas em leito de areia lavada e autoclavada. Aproximadamente 4 meses após a emergência, as plântulas foram transplantadas para bandejas plásticas (8 plântulas/bandeja) com capacidade de 30 litros, contendo solução nutritiva de 1/4 de força iônica, preparada segundo HOAGLAND e ARNON (1950), onde permaneceram por cerca de 3 meses para aclimatação. Completado esse período, foram aplicados os tratamentos com concentrações crescentes de  $\text{Cr}^{3+}$  e de  $\text{Cr}^{6+}$  (0, 15 e 30  $\text{mg L}^{-1}$ ) sob a forma de  $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  e de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ , respectivamente. Durante todo o período experimental (8 meses aproximadamente) as soluções foram monitoradas quanto ao pH e ajustadas de dois em dois dias, para 5,8 utilizando-se NaOH e/ou HCl 1M. O nível da solução nutritiva foi mantido, pela reposição do volume

com água deionizada quando necessário, e mantida sob aeração constante. As trocas foram feitas aos 15 dias e 30 dias após a aplicação dos tratamentos.

### 3.2 ESTIMATIVAS DE VARIÁVEIS ALOMÉTRICAS E OBTENÇÃO DA BIOMASSA SECA

Após a aplicação dos tratamentos com  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$  foram medidos, semanalmente, a altura e o diâmetro do caule, ao nível do coleto das plântulas, e contados o número de folhas. No final do período experimental, as plântulas dos diversos tratamentos foram divididas em partes (raízes, caules e folhas), e acondicionadas, separadamente, em sacos de papel e colocadas em estufa de circulação forçada de ar a  $75^{\circ}\text{C}$  até massa constante, para obtenção da biomassa seca. Logo após, o material vegetal foi pesado e moído em moinho do tipo Wiley, com peneira de 20 Mesh de abertura de malha, e analisado quimicamente no ICP-MS.

### 3.3 MEDIÇÕES DE TROCAS GASOSAS FOLIARES

Avaliações das trocas gasosas foliares foram realizadas no início, aos 15 e 30 dias após a aplicação dos tratamentos, sempre entre 8 às 12 h. As medições pontuais foram efetuadas utilizando um sistema portátil para as medições da fotossíntese Li-Cor (Lincoln Nebraska, USA) modelo Li-6400 equilibrado com luz artificial 6400-02B Redblue SI-925, cuja intensidade foi mantida constante em  $800\ \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Em cada medição foi utilizada a 2ª ou 3ª folha completamente expandida e madura a partir do ápice do eixo ortotrópico em cinco plântulas por tratamento. As taxas de fotossíntese líquida (A) e de transpiração por unidade de área foliar (E) e a condutância estomática

ao vapor de água (gs) foram estimadas a partir dos valores da variação de CO<sub>2</sub> e da umidade no interior da câmara, determinados pelo analisador de gases por infravermelho do referido aparelho.

### 3.4 ESTUDOS ANATÔMICOS EM MICROSCOPIA ÓPTICA

Para os estudos anatômicos, foram coletadas ao final do período experimental folhas, caules e raízes das plântulas dos diversos tratamentos com Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6</sup>, os quais foram fixados em FAA 70% (JOHANSEN, 1940) e posteriormente conservados em etanol 70%. Nas observações preliminares foram feitos cortes transversais, com auxílio de lâmina de barbear, que foram submetidos ao processo de dupla coloração com safranina 1% e azul de astra 1% (KRAUS; ARDUIN 1997) e montados em glicerina 60%, em lâminas semi-permanentes.

Para os estudos anatômicos pormenorizados foram feitos cortes histológicos em micrótomo rotativo, a partir de material desidratado em série etanólica-butanólica e incluído em parafina (JOHANSEN, 1940), que posteriormente foram submetidos ao processo de dupla coloração com safranina 1% e azul de astra 1% (KRAUS e ARDUIN 1997). Nos testes histoquímicos foram utilizados lugol para identificação da presença de amido (JOHANSEN 1940), e floroglucina a 2%, preparada em etanol a 95%, para identificação de lignina. Para registro, os cortes foram fotografados em fotomicroscópio, escaneados e analisados.

### 3.5 ÁREA FOLIAR (AF) E MASSA FOLIAR ESPECÍFICA (MFE)

Os valores médios de AF individual das plântulas, submetidas aos diversos tratamentos com  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$ , foram estimados utilizando-se um medidor automático de área foliar LI-3100 (Li-Cor, inc., Lincoln, Nebraska, USA). Os valores de MFE foram calculados pelo quociente entre a biomassa seca foliar individual e a área foliar individual.

### 3.6 COMPOSIÇÃO QUÍMICA

Na matéria seca das diversas partes das plântulas (raízes, caules e folhas) foram analisados os teores de  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$ , bem como os de alguns macro e micronutrientes minerais (P, K, Ca, Mg, Fe, Zn e Cu), utilizando-se um "*Inductively Coupled Plasma with Mass Spectrometry*" (ICP-MS) no Laboratório de Análises Químicas do Serviço Central de Análises de Lyon (França).

Durante as análises com o ICP-MS as amostras, sob forma líquida, após serem nebulizadas foram transportadas sob forma de aerossol ao plasma indutivo com o gás Argônio, de energia de ionização elevada, capaz de ionizar a maioria dos elementos da Tabela Periódica. Dentro do canal central do plasma de Argônio, onde a temperatura é de aproximadamente 8.000°K, as moléculas da amostra foram dissociadas, os átomos excitados e então ionizados. Os íons positivos foram extraídos e transportados ao centro de várias lentes eletromagnéticas, onde foram filtrados em função da relação massa/carga (m/Z). Os íons de mesma relação (m/Z) foram detectados e armazenados

em um sistema de tratamento informatizado. No sistema de aquisição e tratamento de dados os pulsos de contagem, durante um tempo pré-estabelecido, foram estocados em um analisador multicanal (6.000 canais). Cada canal corresponde a uma unidade de massa pré-fixada. O ICP-MS possui grande sensibilidade de análise multielementar da ordem de ppb a ppt e permite analisar todas as massas de  $Z=3$  (Li) à  $Z=92$  (U), com exceção de algumas massas devido a interferências. Neste tipo de procedimento, a amostra é rapidamente analisada permitindo uma varredura de todas as massas em alguns segundos, podendo-se analisar cerca de 100 amostras/dia.

#### 3.6.1 ESPECIAÇÃO DO CROMO NAS FORMAS TRI ( $\text{Cr}^{3+}$ ) E HEXAVALENTE ( $\text{Cr}^{6+}$ )

A determinação da concentração de Cr, nos diferentes estados de oxidação ( $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$ ), foi realizada utilizando um espectrômetro de massa-plasma de alta resolução (ICP-HRMS Finnigan), acoplado ao cromatógrafo líquido de alta performance (HPLC), no Laboratório de Análises Químicas do Serviço Central de Análises de Lyon (França).

#### 3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com cinco tratamentos (referentes às concentrações de  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$ , juntamente com o controle), seis repetições e oito plântulas por unidade experimental. Os resultados experimentais referentes à composição química e a biomassa seca foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Posteriormente foi utilizado o teste de Tukey para determinar diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) nos diversos parâmetros avaliados.

## 4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Trocas gasosas foliares

Observou-se que não houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) nos valores de fotossíntese líquida (A) para as doses de  $\text{Cr}^{3+}$ , ao passo que para as de  $\text{Cr}^{6+}$  verificou-se uma pequena diminuição nos valores de A quando comparadas ao controle, cujos valores nas doses correspondentes a 15 e 30  $\text{mg L}^{-1}$   $\text{Cr}^{6+}$  foram de 1,02 e 0,285  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  respectivamente (Figura 1).

Os efeitos de íons Cr na fotossíntese e na transferência de energia de excitação podem também ser devido às anormalidades na ultraestrutura do cloroplasto ligadas ao desenvolvimento do sistema lamelar, com um amplo espaço tilacoidal e com pouca grana (VANASSCHE; CLIJSTERS, 1983). A desorganização da ultraestrutura do cloroplasto e a inibição do processo de transporte de elétrons devido ao Cr e o desvio de elétrons do lado doador de elétrons de PS-1 para o  $\text{Cr}^{6+}$  é uma possível explicação para o decréscimo na taxa fotossintética induzida por Cr (SHANKER et al., 2005). Segundo estes autores, é possível que os elétrons produzidos pelo processo fotoquímico não sejam necessariamente usados para fixação do carbono, evidenciado pela baixa taxa fotossintética de plantas estressadas por Cr.

Diminuição nos teores de clorofila e proteínas em plantas de *Nymphaea spontanea* tratadas com  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$  foi observada à medida que se aumentava a duração da exposição aos metais (CHOO et al., 2006), assim como de diversas outras plantas vasculares expostas ao Cr (VAJPAYEE, et al., 2000; SHANKER et al., 2005; ZAYED et al., 1998).

Os efeitos nos processos bioquímicos devido à toxicidade do  $\text{Cr}^{6+}$  podem causar mudanças nas metaloenzimas das plantas, deslocando e recolocando íons com capacidade para gerar espécies de oxigênio reativo ( $\text{OH}^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ), causando estresse oxidativo (CHOO *et al.* 2006). Estes autores ainda afirmaram que a diminuição do teor da clorofila em *Nimphaea.espontanea*, pode ser atribuída a inibição da síntese de clorofila, que resulta em uma menor taxa fotossintética devido à ruptura de cloroplastos e conseqüente alteração na fosforilação oxidativa.

VAJPAYEE *et al.*, (2000) detectaram o declínio nos teores das clorofilas a e b pela toxicidade do  $\text{Cr}^{6+}$ , o que acabou afetando a enzima envolvida na biossíntese da clorofila e alterando os sítios de íons Mg, prejudicando a utilização do ácido 8-aminolevulínico e conseqüente formação da clorofila. A desorganização da estrutura do cloroplasto e a inibição do processo de transporte de elétrons por seus desvios no fotossistema I (PS-I), é uma possível explicação para a diminuição da taxa fotossintética em plantas submetidas ao Cr (SHANKER *et al.*, 2005). Segundo esses autores, é possível que os elétrons produzidos pelo processo fotoquímico, não foram mobilizados para a fixação do carbono na fase fotoquímica, o que pode ser evidenciado pela diminuição da taxa fotossintética em plantas submetidas ao Cr.

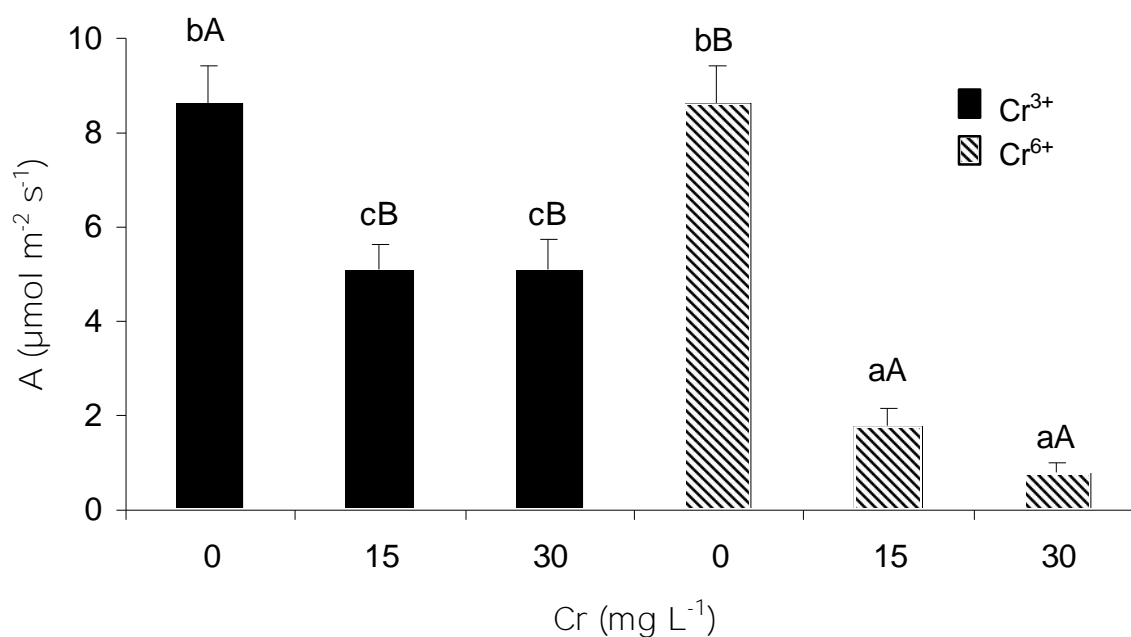


Figura 1: Taxa fotossintética líquida (A) em folhas de plântulas de *G. americana* submetidas às concentrações de 0, 15 e 30 mg L<sup>-1</sup> de Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup> respectivamente em solução nutritiva aos 15 dias após a aplicação dos tratamentos. Letras maiúsculas referem-se às comparações entre as concentrações de cromo dentro da mesma forma de oxidação e as letras minúsculas às comparações entre cromos tri e hexavalente, pelo teste de Tukey (P<0,05). As medições foram efetuadas em irradiância de 800 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Valores médios de (X/4) repetições (±EP).



Em relação à condutância estomática (gs), não foram observadas diferenças significativas entre as doses de  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$ . Entretanto, quando se compara o Cr nos seus dois estados de oxidação ( $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$ ), observa-se uma diminuição nas dose de  $15 \text{ mg L}^{-1}$  para o  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$ , sendo esta diminuição foi mais expressiva para o  $\text{Cr}^{6+}$  (Figura 2). Observou-se também que gs aumentou na dose  $30 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr}^{3+}$  quando comparada com a dose  $15 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr}^{3+}$  (Figura 2). A diminuição da gs em  $\text{Cr}^{3+}$  em nosso estudo foi similar aos obtidos por BARBOSA 2003, em estudos com *G. americana* submetida ao  $\text{Cr}^{3+}$ , apresentando decréscimo na condutância estomática e vapor d'água em todo o período experimental.

O impacto negativo do  $\text{Cr}^{3+}$  na abertura dos estômatos pode ter sido influenciado pela diminuição da absorção de água pelas raízes, promovida pela morte das regiões apicais BARBOSA (2003). O efeito tóxico é significativamente mais elevado para o  $\text{Cr}^{6+}$  promovendo o decréscimo da gs, devido ao alto potencial oxidativo do  $\text{Cr}^{6+}$ , que, por sua vez, pode danificar as membranas e as células-guarda dos estômatos (SHANKER, et al., 2005).

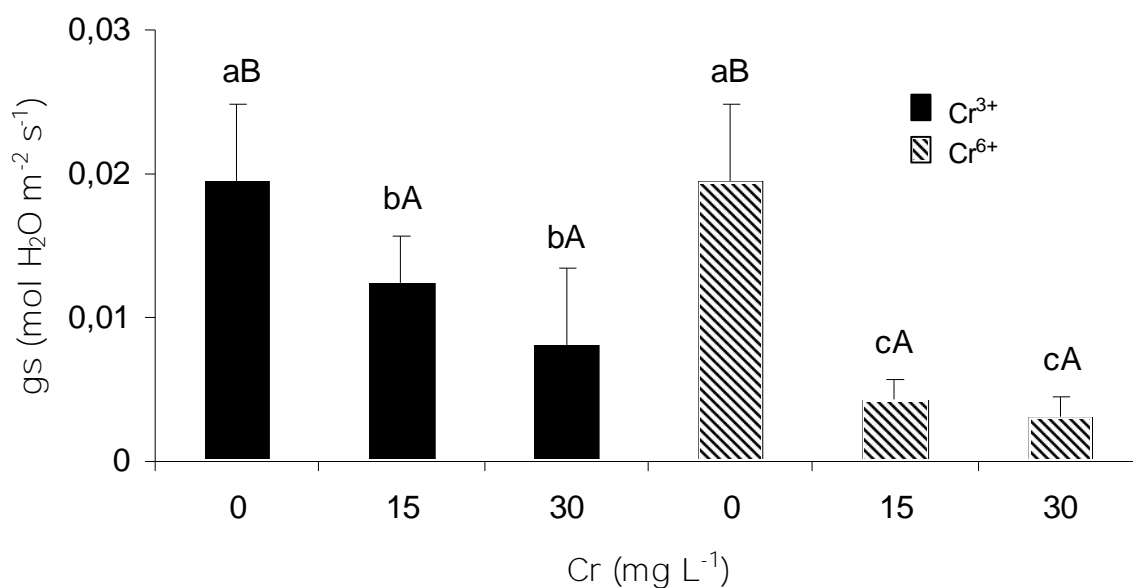


Figura 2: Condutância estomática ao vapor de água (gs) em folhas de plântulas de *G. americana* submetidas às concentrações de 0, 15 e 30 mg L<sup>-1</sup> de Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup> respectivamente em solução nutritiva aos 15 dias após a aplicação dos tratamentos. Letras maiúsculas referem-se às comparações entre as concentrações de cromo dentro da mesma forma de oxidação e as letras minúsculas às comparações entre cromos tri e hexavalente, pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). As medições foram efetuadas em irradiância de 800  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Valores médios de (X/4) repetições ( $\pm\text{EP}$ ).

Não foram observadas diferenças significativas ( $P, 0,05$ ) em relação aos valores da transpiração (E) entre as doses de Cr<sup>3+</sup>. Contudo, para as doses 15 e 30 mg L<sup>-1</sup> Cr<sup>6+</sup>

verificou-se uma diminuição acentuada de E em relação ao controle na ordem de 0,0568 e 0,00903 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, respectivamente (Figura 3). Quando comparadas às duas formas de oxidação, ambas têm sua transpiração diminuída na dose 15 mg L<sup>-1</sup>, sendo essa diminuição mais evidente no Cr<sup>6+</sup>. Esse padrão também foi observado na dose 30 mg L<sup>-1</sup>, entretanto com a elevação da taxa transpiratória em relação ao controle (Figura 3).

Estudos realizados com as folhas de *Brassica oleracea*, demonstraram que o Cr<sup>3+</sup> promoveu decréscimo nos valores de E, sugerindo que a baixa disponibilidade de água devido ao estresse causado pelo Cr<sup>3+</sup>, aumenta o acúmulo de prolina, que desempenha um papel osmorregulador em nível celular (PANDEY et al., 2003). Por outro lado, a distribuição espacial da raiz, prejudicada pela diminuição do diâmetro das traqueídes diminui o movimento longitudinal da água, associada com a redução da superfície da raiz, pode diminuir a capacidade das plantas em absorver água (SHANKER et al., 2005) e proporcionar um decréscimo na taxa transpiratória em virtude do fechamento dos estômatos em resposta a deficiência hídrica.

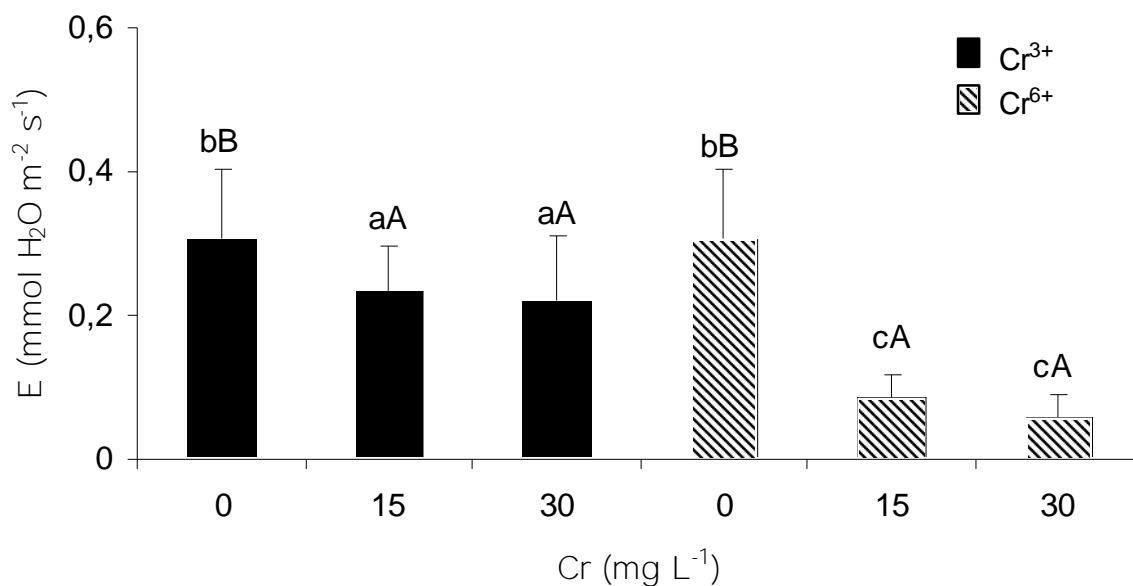


Figura 3: Transpiração (E) em folhas de plântulas de *G. americana* submetidas às concentrações de 0, 15 e 30 mg L<sup>-1</sup> de Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup> respectivamente em solução nutritiva aos 15 dias após a aplicação dos tratamentos. Letras maiúsculas referem-se às comparações entre as concentrações de cromo dentro da mesma forma de oxidação e as letras minúsculas às comparações entre cromos tri e hexavalente, pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). As medições foram efetuadas em irradiância de 800  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Valores médios de (X/4) repetições ( $\pm \text{EP}$ ).

## 4.2 VARIÁVEIS DE CRESCIMENTO

As plântulas de *G. americana* responderam diferentemente às concentrações de  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$ . Verificou-se que o  $\text{Cr}^{3+}$  afetou significativamente ( $P < 0,05$ ) apenas a biomassa de raiz na concentração de  $30 \text{ mg L}^{-1}$ , confirmando a não essencialidade de  $\text{Cr}^{3+}$  no crescimento das plântulas (Tabela 3). Entretanto, para o  $\text{Cr}^{6+}$  houve um decréscimo acentuado nas biomassas de raiz, caule e folha, principalmente na concentração de  $30 \text{ mg L}^{-1}$ , demonstrando a toxicidade elevada do  $\text{Cr}^{6+}$  em comparação ao  $\text{Cr}^{3+}$  para as plântulas de *G. americana*. Segundo SAMANTARAY (1998), para determinadas espécies vegetais, pequenas doses de Cr podem estimular o crescimento vegetativo.

A diminuição da biomassa está associada ao decréscimo de  $A$  e a resistência difusiva ao  $\text{CO}_2$ , promovido pelo Cr, principalmente pelo  $\text{Cr}^{6+}$ , em função de sua maior toxicidade. Em geral, a diminuição do crescimento da raiz se deve a inibição da divisão celular que promove o alongamento das raízes (SHANKER et al., 2005.) ou pode ser devido a um colapso e conseqüente incapacidade das raízes em absorver água, uma vez que as plântulas tiveram um contato direto com o Cr (BARCELO et al., 1985). Em contrapartida, em *Salsola kali*, a diminuição na absorção dos macronutrientes: Ca, K, P e Mg não afetaram a acumulação de matéria seca em raízes (TORRESDEY, 2004), demonstrando uma alta tolerância dessa planta ao metal.

Em estudos com doze espécies vegetais, QIAN et al., (1999), verificaram que a acumulação de biomassa é diferente entre as espécies, atribuindo aos efeitos intraespecíficos e não as diferenças no tamanho das plantas. Esses autores concluem,

portanto, que as taxas de biomassa acumuladas nessas plantas submetidas ao tratamento com metais, variam de espécie para espécie.

Observou-se que o  $\text{Cr}^{3+}$  e o  $\text{Cr}^{6+}$ , nas concentrações de 15 e 30  $\text{mg L}^{-1}$ , não afetaram o diâmetro, ao nível do coleto, e o crescimento em altura das plântulas de *G. americana*. Em contrapartida, proporcionaram um incremento de área foliar (AF) em relação ao controle, na concentração de 15  $\text{mg L}^{-1}$ , que não diferiu significativamente ( $P < 0,05$ ) de 30  $\text{mg L}^{-1}$ . O incremento de AF promovido pelo  $\text{Cr}^{6+}$  contradiz, em parte, os resultados encontrados por outros autores, tendo em vista que o Cr inibe a síntese de clorofila, promove a desorganização de ultraestrutura do cloroplasto, causa clorose e necrose em folhas (BARCELO et al., 1985). Além disso, esses resultados diferem daqueles obtidos por SHANKER et al., (2005), que relataram que o Cr promove decréscimo no crescimento em altura das plantas de várias espécies vegetais, em parte devido ao decréscimo do transporte de nutrientes e de água para a parte aérea, ocasionando um impacto no metabolismo celular. Como as plântulas de *G. americana* foram obtidas por cultivo seminal e por se tratar de uma espécie alógama, essa diferença nos valores de AF pode ser explicada pela sua heterogeneidade genética.

Tabela 1: Biomassa seca de raiz (BSR), caule (BSC), folha (BSF) e total (BST), razão entre raiz e parte aérea (RPA), altura (ALT), diâmetro do coleto (D), número de folhas (NF) e área foliar individual (AF) em plântulas de *G. americana* submetidas a diversas concentrações de Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup> em solução nutritiva aos 15 dias após a aplicação dos tratamentos. Valores médios de seis repetições ( $\pm$ EP).

Variáveis	Controle	15mg/LCr <sup>3+</sup>	30mg/LCr <sup>3+</sup>	15mg/L Cr <sup>6+</sup>	30mg/L Cr <sup>6+</sup>
BSR	7,28 $\pm$ (0,33) a	7,62 $\pm$ (0,24) a	6,98 $\pm$ (0,05) ab	6,17 $\pm$ (0,24) bc	5,52 $\pm$ (0,22) c
BSC	3,85 $\pm$ (0,21) ab	4,02 $\pm$ (0,09) a	3,66 $\pm$ (0,15)ab	3,58 $\pm$ (0,18) ab	3,33 $\pm$ (0,13) b
BSF	8,34 $\pm$ (0,76) a	9,61 $\pm$ (0,23) a	8,51 $\pm$ (0,32) a	6,18 $\pm$ (0,31) b	5,03 $\pm$ (0,33) b
BST	19,7 $\pm$ (1,13) a	21,26 $\pm$ (0,53) a	19,16 $\pm$ (0,45) a	15,94 $\pm$ (0,64) b	13,88 $\pm$ (0,52) b
R/PA	0,61 $\pm$ (0,03) ab	0,56 $\pm$ (0,01) b	0,58 $\pm$ (0,02) ab	0,63 $\pm$ (0,01) ab	0,67 $\pm$ (0,03) a
ALT (m)	18,03 $\pm$ (2,43) a	16,75 $\pm$ (1,67) a	16,89 $\pm$ (1,02) a	13,56 $\pm$ (2,26) a	15,11 $\pm$ (1,12) a
D (cm)	5,72 $\pm$ (0,27) a	5,62 $\pm$ (0,29) a	5,60 $\pm$ (0,18) a	4,77 $\pm$ (0,32) a	5,04 $\pm$ (0,13) a
NF	16,44 $\pm$ (0,58) a	14,06 $\pm$ (1,31) a	14,11 $\pm$ (0,54) a	8,83 $\pm$ (0,53) b	6,83 $\pm$ (1,18) b
AF (cm <sup>2</sup> /plântula <sup>-1</sup> )	0,43 $\pm$ (0,06) b	0,73 $\pm$ (0,08) ab	0,59 $\pm$ (0,11) ab	0,53 $\pm$ (0,06) ab	0,76 $\pm$ (0,05) a

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

### 4.3 ANATOMIA

Nas raízes das plântulas de *G. americana* submetidas às doses de  $\text{Cr}^{3+}$ , foi observada uma acentuada deformação no formato das células dos tecidos mais externos da região cortical (Figuras 4C, 4E e 4G), retração da membrana plasmática (Figura 4F) e um aumento dos espaços intercelulares na dose  $15 \text{ mg L}^{-1}$  (Figura 4C) em relação ao controle (Figuras 4A e 4B) e de maneira menos acentuada para a dose  $30 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr}^{3+}$  (Figura 4E). Ainda neste último tratamento, notou-se a presença de células com conteúdo diferenciado (Figura 4E) e núcleo condensado com formato elíptico nas células do córtex (Figura 4F) quando comparadas ao controle (Figura 4B) e do tratamento  $15 \text{ mg L}^{-1}$  (Figura 4D).

Com o  $\text{Cr}^{6+}$ , as raízes de ambos os tratamentos ( $15$  e  $30 \text{ mg L}^{-1}$ ) mostraram alterações na forma das células na região cortical, semelhantes àquelas observadas para o cromo trivalente (Figura 4G, 4I), entretanto, sem alteração dos espaços intercelulares (Figuras G-I) quando comparado às doses do  $\text{Cr}^{3+}$  e controle. Observaram-se alterações na morfologia do núcleo deste tratamento de forma acentuada, caracterizada pela sua fragmentação e deslocamento para a periferia (Figura 4H e 4I), de maneira semelhante entre as doses de  $15$  e  $30 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr}^{6+}$  quando comparado ao controle.

Testes histoquímicos revelaram o aumento de amido na região ao redor do floema na dose  $30 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr}^{3+}$  quando comparado com o controle, aspecto não observado nas doses de  $\text{Cr}^{6+}$  (Figura não mostrada). Na reação com floroglucina acidificada, constatou-se um aumento da lignificação na região do xilema secundário nas doses de  $\text{Cr}^{6+}$



(Figuras 5C e 5D) quando comparado ao controle. (Figura 5A) e a dose 30 Cr<sup>3+</sup> (Figura 5B).

No caule, não foram observadas grandes alterações anatômicas. O aumento da lignificação da parede celular das células do xilema foi observado proporcionalmente ao incremento da dose de Cr<sup>3+</sup> (Figuras 6G e 6H) e Cr<sup>6+</sup> (Figuras 7G e 7H) em relação ao controle (Figuras 6C e 6D). A partir da dose 15 mg L<sup>-1</sup> Cr<sup>3+</sup>, observou-se uma retração da membrana plasmática nas células da região cortical (Figuras 6F e 7B) em comparação ao controle (Figura 6B), sendo observado também na dose 15 mg L<sup>-1</sup> Cr<sup>6+</sup> (Figura 7F). Neste órgão, teste histoquímico realizado com lugol mostrou reação positiva para amido na região ao redor do tecido vascular constituindo uma bainha amilífera, e nos raios parenquimáticos de ambas as doses de Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup> (Figuras 8A - 8I) . Contudo, a presença de amido na bainha amilífera ao redor do tecido vascular foi maior nas doses de Cr<sup>3+</sup> (Figuras 8C-8E), estando em menor ocorrência nas doses de Cr<sup>6+</sup> (Figuras 8G-8J), em relação ao controle (Figuras 8A e 8B).

Na folha, o tratamento controle apresentou mesofilo dorsiventral, com células de parênquima paliçádico alongadas em duas camadas e parênquima lacunoso distribuído em três camadas (Figuras 9A e 9B), o qual mostrou diminuição do comprimento das células do parênquima paliçádico para os tratamentos 30 mg L<sup>-1</sup>Cr<sup>3+</sup> e 15 e 30 mg L<sup>-1</sup> Cr<sup>6+</sup> especialmente para a dose 30 mg L<sup>-1</sup>Cr<sup>3+</sup> (Figuras 9C e 9D). No tratamento com cromo hexavalente, essa redução ocasionou uma menor espessura do mesofilo na dose 30mg L<sup>-1</sup> Cr<sup>6+</sup> (Figuras 10C e 10D) quando comparado com a dose 15mg L<sup>-1</sup> Cr<sup>6+</sup>. Nessa mesma dose, foi observada compactação das células parenquimáticas próximas ao colênquima da nervura central, caracterizada por enrugamentos e reentrâncias na

membrana plasmática nas doses 15 e 30 mg L<sup>-1</sup> Cr<sup>6+</sup> (Figura 10A, 10C). No teste histoquímico realizado com lugol evidenciou um decréscimo na presença de amido nas células da bainha amilífera ao redor do tecido vascular da nervura central para a dose 15 mg L<sup>-1</sup> Cr<sup>3+</sup> (Figura 11B), quando comparado ao controle (Figura 11A). Entretanto, nas doses 15 e 30 mg L<sup>-1</sup> Cr<sup>6+</sup>, a presença de amido nas células corticais ao redor do tecido vascular foi mais pronunciada (Figuras 11C, 11D).

As alterações na morfologia celular em raízes, caules e folhas de *G. americana* podem estar associadas a eventos de morte celular programada (PCD) ou apoptose, por estresse oxidativo promovido pelo cromo. Segundo PANDA et al., (2005), o Cr induz esse estresse oxidativo ocasionando peroxidação de lipídeos e, conseqüentemente, promovendo danos severos às membranas celulares, iniciado com a degradação de pigmentos fotossintéticos, levando à diminuição do crescimento, embora nesse estudo a análise estatística deste último, indiquem diferenças significativas na altura das plantas tratadas com cromo Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup>.

Plantas e outros organismos aeróbios requerem oxigênio para uma eficiente produção de energia. Durante o processo de redução de O<sub>2</sub> a H<sub>2</sub>O, espécies reativas de oxigênio (ERO) são formadas tais como: O<sub>2</sub><sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e OH<sup>-</sup> (VRANOVÁ et al., 2002). Estresse por metais pesados promove a síntese de ERO em plantas (DIXIT et al., 2002), o que pode neste caso ter ocasionado alterações na morfologia celular nos órgãos analisados.

Segundo VAZQUEZ et al., (1986), as injúrias à membrana plasmática pode ser considerada como um mecanismo primário de toxicidade de Cr, pois altas concentrações podem causar distúrbios à ultra-estrutura dos cloroplastos e,

consequentemente, afetar os processos fotossintéticos. Por ser um agente oxidante forte e apresentar relativa mobilidade, o  $\text{Cr}^{6+}$  poderá causar maiores danos à membrana plasmática, quando comparado ao  $\text{Cr}^{3+}$  (MEI et al., 2002).

O  $\text{Cr}^{3+}$  é conhecido por penetrar nas células bem lentamente por difusão e ser retido pela troca de cátions em sítios localizados na parede das células radiculares (SHANKER et al., 2004). As alterações encontradas na parede celular e membrana plasmática das plantas de *G.americana* podem ser reflexos desse mecanismo de absorção do Cr apontado por esses autores.

Condensação, encolhimento e aumento dos espaços intercelulares como visualizados nesse estudo, são sinais de morte celular programada (LAMB; PENNEL 1997). As células dos tecidos mencionados anteriormente foram alteradas em sua forma o que provavelmente poderá estar associado a um evento de morte celular programada (MCP). A MCP induz a condensação da cromatina, fragmentação nuclear e clivagem do DNA, resultando em fragmentos denominados de corpos apoptóticos (BÖHM, 2003; BEHBOODI, SAMADI, 2004; DREW et al., 2000). Em *Allium cepa*, tratado com cádmio, BEHBOODI e SAMADI (2003) encontraram modificações nucleares consideráveis tais como às encontradas em nosso estudo: fragmentação do núcleo, núcleo marginal, corpos apoptóticos, o que consideram eventos de PCD.

O aumento dos espaços intercelulares identificados nos tecidos de *G. americana* pode ser decorrente da morte dessas células por MCP. Em *S.lancifolia*, a análise em microscopia eletrônica revelou formação de aerênquima lisogênico e condensação nuclear, eventos de PCD. DREW et al., (2000), mostraram que um começo de morte celular em raízes de milho é a ruptura do tonoplasto, que acaba por liberar enzimas do

vacúolo deixando o citoplasma ácido acabando por matar a célula.

Estudos realizados por HAN et al. (2003), com *Brassica juncea* cultivada em  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$ , demonstraram que o retardo no crescimento das plantas foi promovido pela compactação dos parênquimas esponjoso e lacunoso, aumento do número de vacúolos e formação de material eletro denso nas paredes do xilema e floema. Além disso, o Cr pode ainda causar plasmólise ou contração do protoplasma em células radiculares (SHANKER et al., 2004). Em contrapartida, em *Phaseolus vulgaris* o Cr induziu diminuição dos espaços intercelulares, em nível foliar, com a conseqüente diminuição da área foliar, quando comparados às folhas controle (VASQUEZ, 1989). Dessa forma, nesse estudo, as respostas anatômicas de *G. americana* ao tratamento com o Cr apresentaram-se semelhantes às encontradas em outras plantas submetidas a esse metal.



















#### 4.4 COMPOSIÇÃO QUÍMICA

##### 4.4.1 ESPECIAÇÃO de $\text{Cr}^{3+}$ e $\text{Cr}^{6+}$

Os resultados obtidos com o espectrômetro de massa associado a uma fonte de plasma (ICP-MS), acoplado a um cromatógrafo líquido de alta performance, mostraram apenas a presença do  $\text{Cr}^{3+}$ , em todos órgãos vegetais independente dos tratamentos com  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$  (Figuras 12 e 13). O pictograma de amostras de raízes, por exemplo, expostas  $\text{Cr}^{6+}$  (Figura 13), não apresenta pico atestando a presença dessa forma do elemento. Os picos de  $\text{Cr}^{6+}$  presentes no pictograma (Figuras 14 e 15) referem-se apenas a adição de  $500\text{ng g}^{-1}$  de  $\text{Cr}^{6+}$  ao extrato vegetal ao longo do tempo. A adição do  $\text{Cr}^{6+}$  à solução foi efetuada com o objetivo de se obter o pico do  $\text{Cr}^{6+}$  e poder compará-lo com o extrato vegetal original estudado.

Detectou-se, nos tecidos vegetais dos diferentes órgãos das plântulas de *G. americana*, independentemente dos tratamentos com  $\text{Cr}^{3+}$  e, ou  $\text{Cr}^{6+}$ , somente a presença de Cr na forma de  $\text{Cr}^{3+}$ , indicado que o Cr absorvido pelo sistema radicular na forma de  $\text{Cr}^{6+}$  foi totalmente reduzido a  $\text{Cr}^{3+}$  nos tecidos (Figuras 12 e 13).

ZAYED et al., (1998), estudando a especiação em 11 espécies vegetais, atribuíram à redução do  $\text{Cr}^{6+}$  a  $\text{Cr}^{3+}$  em raízes, à enzima redutase do  $\text{Fe}^{3+}$ , devido à propriedade que o Fe tem de interagir com o Cr e aumentar a atividade desta enzima. Uma hipótese que pode explicar as similaridades e as diferenças entre os dois estados de oxidação do Cr ( $\text{Cr}^{6+}$  e  $\text{Cr}^{3+}$ ) nas plantas está no fato de o  $\text{Cr}^{6+}$  ser absorvido e transportado ativamente por carreadores sulfato e imediatamente após no interior das células das raízes ser reduzido a  $\text{Cr}^{3+}$  em nível de citoplasma e ou, vacúolo por meio da

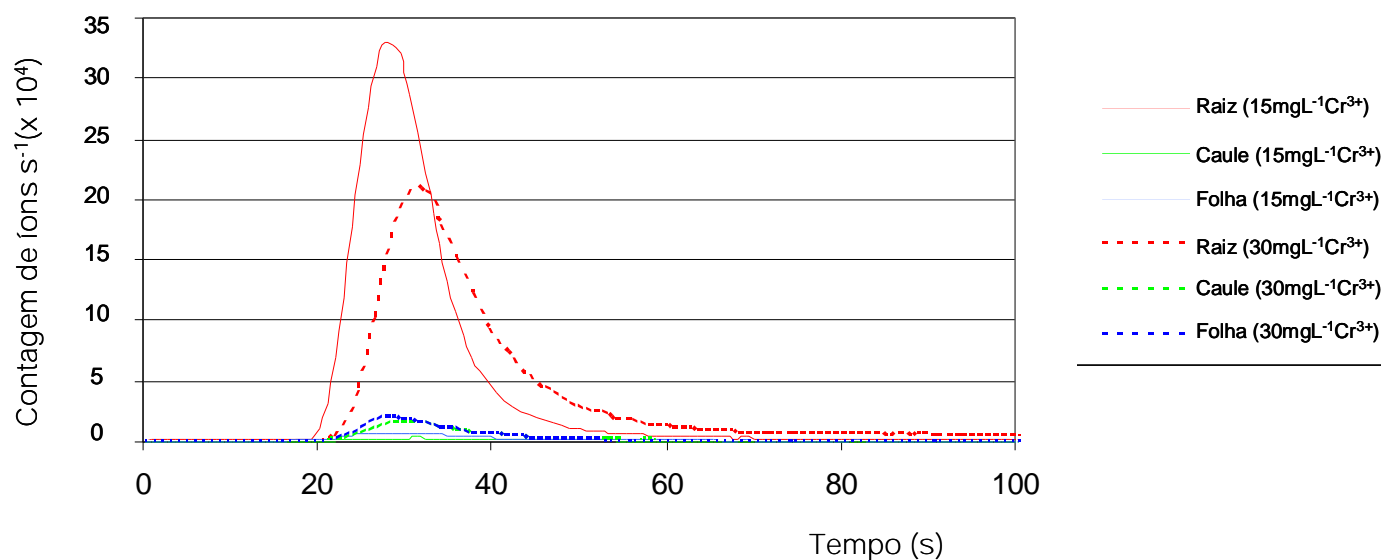


Figura 12: Pictograma correspondente à contagem de  $\text{Cr}^{3+}$  em raízes, caules e folhas de plântulas de *G.americana* cultivadas em solução nutritiva contendo 15 e 30  $\text{mg L}^{-1} \text{Cr}^{3+}$ . Cada curva representa um valor médio de 6 repetições.

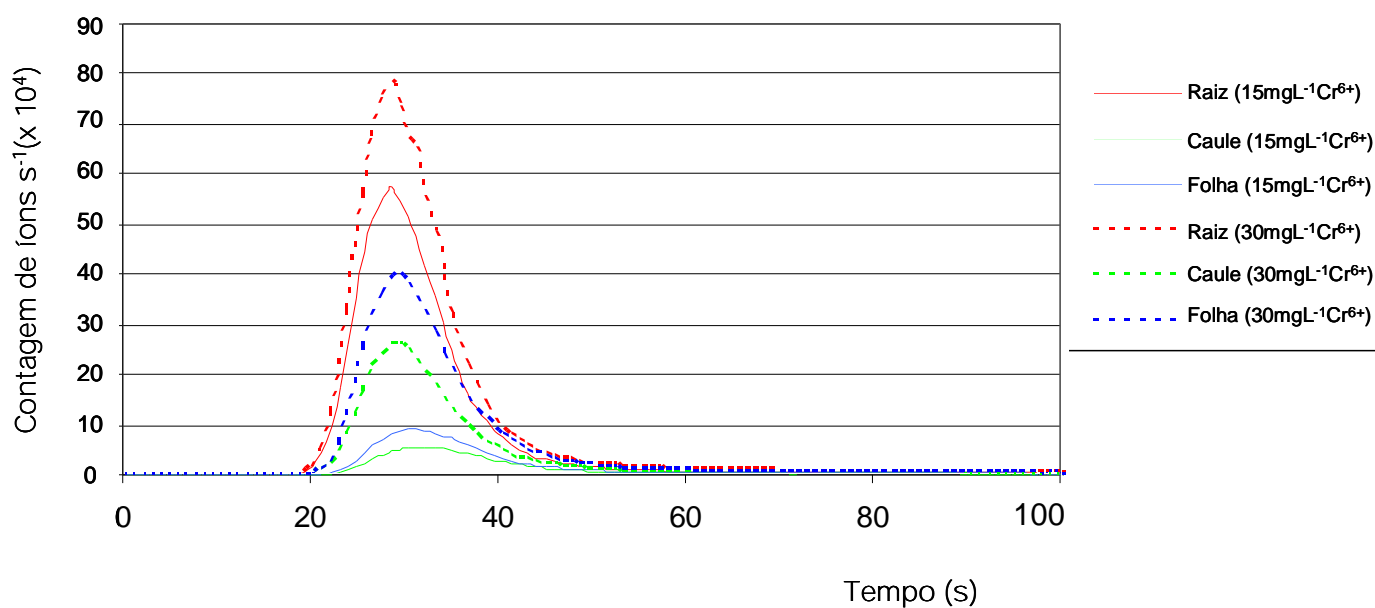


Figura 13: Pictograma correspondente à contagem de  $\text{Cr}^{6+}$  em raízes, caules e folhas de plântulas de *G.americana* cultivadas em solução nutritiva contendo 15 e 30  $\text{mg L}^{-1} \text{Cr}^{6+}$ . Cada curva representa um valor médio de 6 repetições.

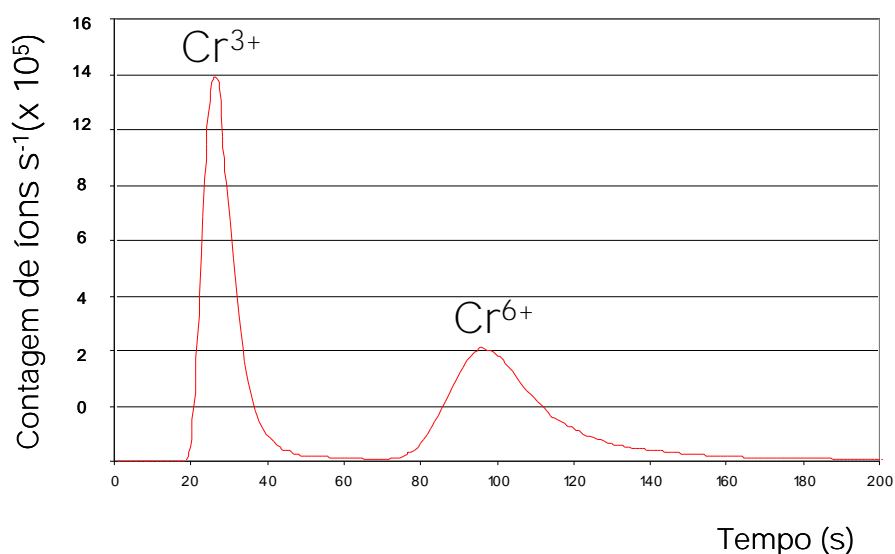


Figura 14: Pictograma correspondente à injeção de uma solução aquosa contendo 500 ng g<sup>-1</sup> de Cr<sup>3+</sup> e 500 ng g<sup>-1</sup> de Cr<sup>6+</sup> sem o material vegetal.

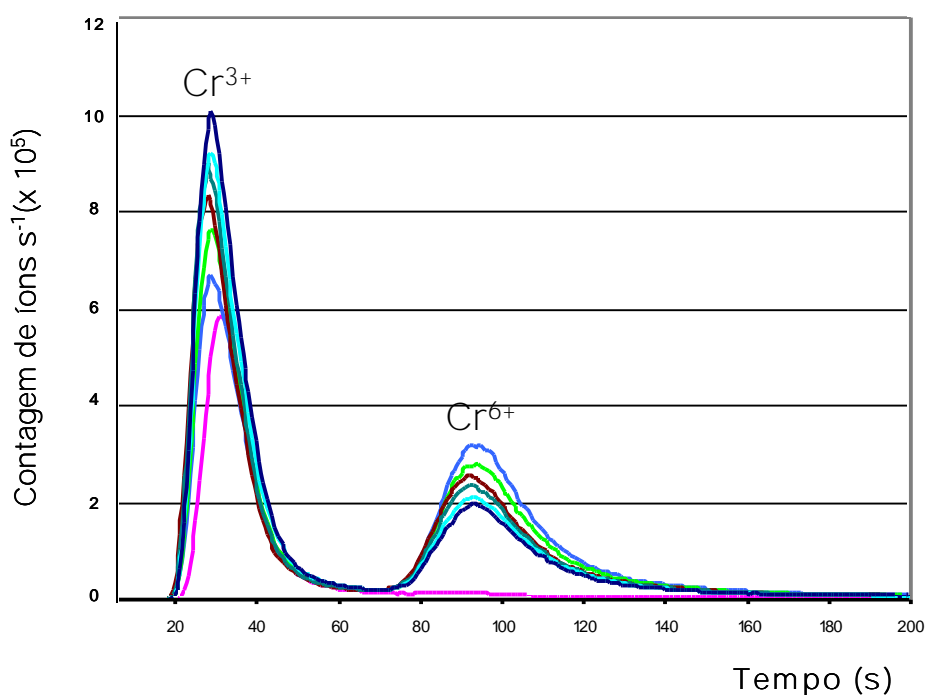


Figura 15: Pictograma correspondente à injeção de solução aquosa contendo 500 ng g<sup>-1</sup> de Cr<sup>3+</sup> e 500 ng g<sup>-1</sup> de Cr<sup>6+</sup> sem o material vegetal e ao Cr em biomassa seca de raízes de plântulas e *Genipa americana* submetidas a 30 mg L<sup>-1</sup> Cr<sup>6+</sup> (linha vermelha). Cada curva representa uma repetição (n=7).

enzima redutase do  $\text{Fe}^{3+}$ , enquanto que, o  $\text{Cr}^{3+}$  é transportado passivamente e retido nas paredes das células em sítios catiônicos (SHANKER et al., 2004; ZAYED et al., 1998).

Em estudos de especiação com o Cr em *Eichornia crassipes*, os resultados obtidos mostraram que o  $\text{Cr}^{6+}$  é rapidamente reduzido no momento da sua absorção e retido nas células dos tecidos radiculares  $\text{Cr}^{3+}$ , pouco sendo translocado para a parte aérea (LYTLE, 1998).

Essa diferença de respostas entre as duas formas químicas de Cr ( $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$ ), se deve ao fato de o  $\text{Cr}^{6+}$  ser um oxidante forte causador de danos severos a todos os tipos de membranas celulares relacionadas aos processos bioquímicos cruciais, tais como, fotossíntese, respiração, absorção e transporte de nutrientes dentre outros (MEI, et al., 2002). Esses autores afirmam ainda que por ser mais móvel que o  $\text{Cr}^{3+}$ , o  $\text{Cr}^{6+}$  é mais absorvido e distribuído nas plantas. A toxicidade de  $\text{Cr}^{3+}$  aparece não como resultado de sua capacidade oxidativa, mas devido a efeitos indiretos tais como mudanças no pH celular e, ou inibição do transporte de íons importantes para o metabolismo das plantas (McGRATH, 1982; MEI, et al., 2002). Pois, o  $\text{Cr}^{3+}$  em solução tende a formar complexos liberando  $\text{OH}^-$ , conduzindo a uma diminuição do pH e a formação de hidróxidos e óxidos de Cr insolúveis.

#### 4.5 TEORES DE CROMO NO JENIPAPO

Observou-se em raízes, um aumento nos teores de Cr com o aumento da concentração de  $\text{Cr}^{3+}$  ou  $\text{Cr}^{6+}$  (Figura 16A). Os valores máximos de Cr acumulados nas raízes foram de 1713 e 1867  $\text{mg kg}^{-1}$  para o  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$  respectivamente na dosagem



de 30 mg L<sup>-1</sup>(Figura 16A), ao passo que no caule e na folha o acúmulo de Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup> foram de 5 e 155 mg kg<sup>-1</sup> e 12 e 311 mg kg<sup>-1</sup> na dosagem 30 mg L<sup>-1</sup> respectivamente (Figuras 16B e 16C).

O Cr ficou acumulado principalmente nas raízes e relativamente pouco foi transportado para a parte aérea das plântulas de *G. americana*. Esse fato vem sendo constatado em vários estudos de fitorremediação com Cr, envolvendo diversas espécies vegetais (HUFFMAN et al., 1973; LYTLE et al., 1998; ZAYED et al., 1998; VAJPAYEE et al., 2000; PULFORD et al., 2001; SHANKER et al., 2004; BARBOSA, 2005; CHOO et al., 2006). As diferenças interespecíficas observadas em relação ao acúmulo de Cr em nível radicular dependem principalmente dos fatores genéticos, da concentração e do tempo de exposição ao elemento metálico (SAMANTARAY et al., 1998).

Segundo SHANKER et al., (2004), a razão do elevado acúmulo de Cr nas raízes das plantas pode ser atribuída ao fato desse metal ser imobilizado nos vacúolos das células radiculares, como resposta das plantas à diminuição da toxicidade ao metal. Esses autores observaram também que o Cr<sup>3+</sup> e o Cr<sup>6+</sup>, uma vez absorvidos pelas raízes, atravessam a endoderme via simplasto; além do mais, o Cr<sup>6+</sup> pode ser prontamente reduzido a Cr<sup>3+</sup> em nível celular, tanto no citoplasma como no vacúolo, no córtex radicular. Por outro lado, ZAYED e TERRY (2002), sugeriram que a localização do Cr nas células, assim como a tendência desse metal em se ligar a outros íons ou precipitar nas membranas celulares, pode resultar em baixa translocação para os tecidos da parte aérea.

SHANKER et al., (2004), estudaram quatro espécies de árvores (*Albizia amara*,

*Casuarina equisetifolia*, *Tectona grandis* e *Leucaena leucocephala*) e constataram que todas as espécies acumularam mais o Cr em suas raízes, com valores da ordem de 425, 464, 476 e 600 mg kg<sup>-1</sup> respectivamente. Os teores de Cr acumulados nas raízes foram cerca de duas vezes mais quando comparado com a parte aérea em dois estados de oxidação (Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup>). Segundo esses autores, a ausência de mecanismos específicos de transporte para o Cr das raízes para a parte aérea, se deve ao fato desse elemento metálico ser altamente tóxico e não-essencial para o crescimento e desenvolvimento das plântulas.

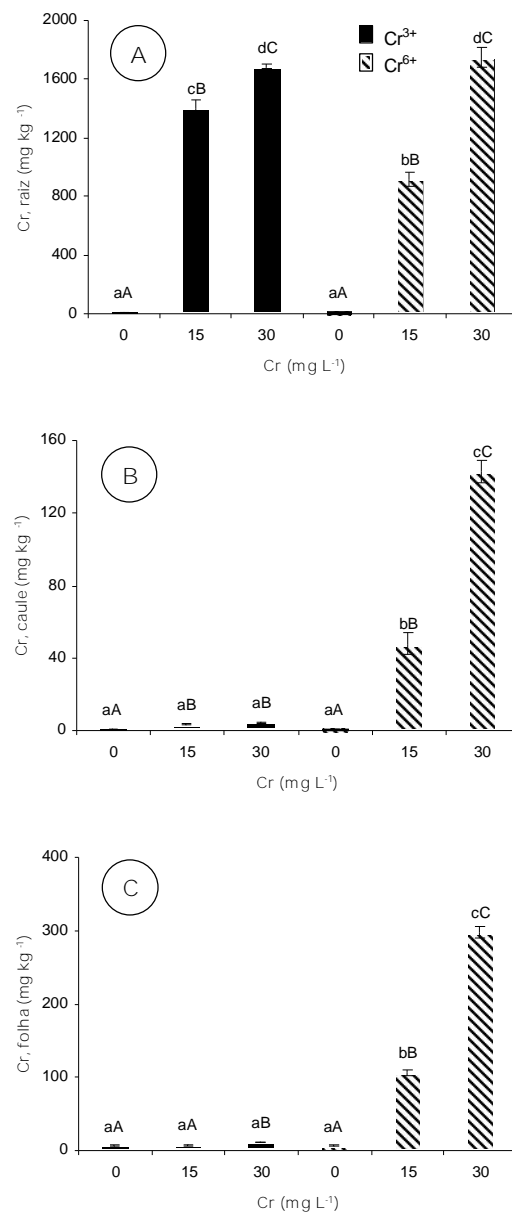


Figura 16: Concentração de Cr em raiz (A), caule (B) e folhas (C) em plântulas de *G. americana* submetidas a concentrações de 15 e 30 mg L<sup>-1</sup> de Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup> em solução nutritiva juntamente com o controle aos 15 dias após a aplicação dos tratamentos. Valores médios de três repetições ( $\pm$  EP). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas e minúsculas no gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). Letras minúsculas referem-se às comparações entre cromos tri e hexavalente e as letras maiúsculas comparações entre as concentrações para o mesmo estágio de oxidação.

#### 4.5.1 O Cromo e a sua interação com os micro e macronutrientes minerais

Os macro e micronutrientes são elementos minerais considerados essenciais para o crescimento e o desenvolvimento vegetal. O suprimento inadequado de um desses elementos essenciais resulta em distúrbio nutricional que se manifesta por sintomas característicos (TAIZ; ZEIGER, 2004). Segundo SAMANTARAY et al., (1998), a solubilidade dos metais pesados pode ser aumentada ou diminuída dependendo da presença de outros elementos minerais no sistema solo-planta.

Devido a sua similaridade estrutural com alguns elementos essenciais, o Cr pode afetar a nutrição mineral das plantas de uma maneira complexa (SHANKER et al., 2005). Observou-se, em nosso estudo, que nas raízes os teores de Zn tiveram um comportamento semelhante em ambas as formas de oxidação de Cr ( $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$ ), em comparação às plantas controle. Na dose correspondente a  $15 \text{ mg L}^{-1}$ , houve um decréscimo em seus teores na ordem de 40%, sendo este mais pronunciado no  $\text{Cr}^{6+}$  cujo valor foi de 60% inferior (Figura 17A).

No caule, o aumento nos teores de Zn foi constatado para ambas as doses de  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$ . O maior valor do teor de Zn foi 88% superior ao controle na dose correspondente a  $30 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr}^{3+}$ , enquanto que para o  $\text{Cr}^{6+}$  a maior valor foi obtido na dose correspondente a  $15 \text{ mg L}^{-1}$  (Figura 17B). Na folha, observou-se que não houve diferença significativa em relação aos teores de Zn na dose  $15 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr}^{3+}$  quando comparado ao controle, ao passo que na dose  $30 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr}^{3+}$  houve um aumento na ordem de cerca de 140% (Figura 17C). Esse padrão também foi observado para o  $\text{Cr}^{6+}$ , cujo aumento do teor de Zn na dose  $15 \text{ mg L}^{-1}$  foi na ordem de 59%, enquanto que na dose  $30 \text{ mg L}^{-1}$  o aumento foi de 44% em relação ao controle (Figura 17C).

Na maioria dos estudos, as interações do Cr e Zn são antagônicas (SHANKER *et al.* 2005), uma vez que os teores de Zn sempre diminuem na presença de Cr em relação às plantas controle. BARCELO *et al.*, (1985), verificaram que o excesso de Cr inibe a translocação de Zn e ADRIANO (1986), mostrou que o Cr interfere na sua absorção via sistema radicular. Cunningham *et al.*, (1975), correlacionaram o aumento do conteúdo de Cr em solos com a diminuição da concentração de Zn e Cu, atribuindo esse fenômeno a um possível bloqueio nos sítios de absorção destes metais.

Segundo TAIZ e ZEIGER (2004), o Zn participa de várias reações enzimáticas e, em algumas espécies vegetais, é utilizado durante a síntese de clorofila. Com a interferência na absorção do Zn pelo Cr, houve em *G.americana* o comprometimento da fotossíntese como demonstrado anteriormente.

Em relação ao Cu, houve um aumento de sua concentração nas raízes de *G. americana* na ordem de 21,2% na dose 15 mg L<sup>-1</sup> Cr<sup>3+</sup> e um decréscimo nessa mesma dose no Cr<sup>6+</sup> de 35%, ao passo que não houve diferença significativa para a dose 30 mg L<sup>-1</sup> em ambas as formas de oxidação de Cr em relação ao controle (Figura 18A). No caule, não houve diferença significativa entre as doses de Cr<sup>3+</sup>, todavia, para o Cr<sup>6+</sup>, observou-se um aumento proporcional na concentração de Cu nas doses 15 e 30 mg L<sup>-1</sup> na ordem de 32 e 38 % respectivamente (Figura 18B). Nas folhas, as concentrações de Cu permaneceram constantes para ambas as concentrações de Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup> (Figura 18C). Em estudos realizados por TORRESDEY *et al.*, (2004), observou-se que o acúmulo de Cu foi reduzido nos tecidos da raiz e das folhas de *Salsola kali* tratadas com 20 mg L<sup>-1</sup> Cr<sup>6+</sup>.

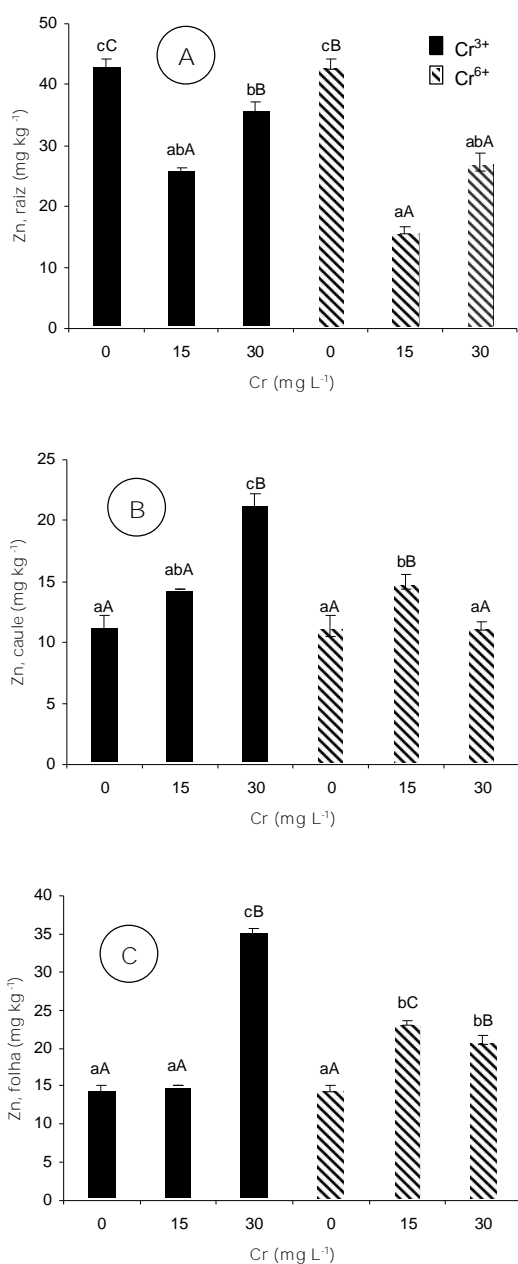


Figura 17: Concentração de Zn em raiz (A), caule (B) e folhas (C) em plântulas de *G. americana* submetidas a concentrações de 15 e 30 mg L<sup>-1</sup> de Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup> em solução nutritiva juntamente com o controle aos 15 dias após a aplicação dos tratamentos. Valores médios de três repetições ( $\pm$  EP). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas e minúsculas no gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Letras minúsculas referem-se às comparações entre cromos tri e hexavalente e as letras maiúsculas comparações entre as concentrações para o mesmo estágio de oxidação.

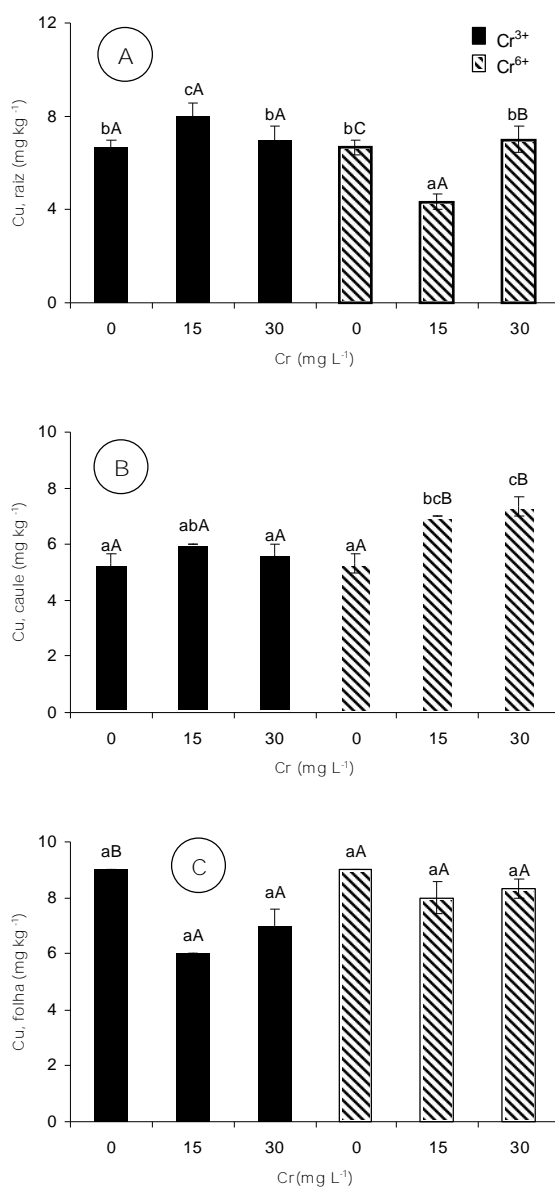


Figura 18: Concentração de Cu em raiz (A), caule (B) e folhas (C) em plântulas de *G. americana* submetidas a concentrações de 15 e 30 mg L<sup>-1</sup> de Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup> em solução nutritiva juntamente com o controle aos 15 dias após a aplicação dos tratamentos. Valores médios de três repetições ( $\pm$  EP). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas e minúsculas no gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Letras minúsculas referem-se às comparações entre cromos tri e hexavalente e as letras maiúsculas comparações entre as concentrações para o mesmo estágio de oxidação.

A interação competitiva entre Cu e Cr foi constatada nas raízes, caules e folhas de plântulas de diversas espécies lenhosas (SHANKER et al., 2005). A inibição do transporte de Cu, promovida pelo  $\text{Cr}^{3+}$ , pode estar associada às propriedades químicas similares deste metais ( $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cu}^{2+}$ ) (MORAL et al., 1996).

Os teores de Fe na raiz de *G. americana* permaneceram constantes independentemente do aumento das concentrações de  $\text{Cr}^{3+}$  em solução nutritiva. Esse padrão foi também observado para dose  $15 \text{ mg L}^{-1}$  do  $\text{Cr}^{6+}$ , porém na maior dose de  $\text{Cr}^{6+}$  os teores de Fe foram superiores em relação ao controle na ordem de 30,5% (Figura 19A). No caule, constatou-se apenas um pequeno aumento no teor de Fe na dose  $30 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr}^{3+}$  na ordem de 10,42%, ao passo que nas demais doses de ambas as formas de oxidação as alterações não foram significativas (Figura 19B). Por outro lado, houve uma diminuição nas concentrações de Fe nas folhas na dose  $15 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr}^{3+}$  na ordem de 27%, ao contrário da dose  $30 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr}^{3+}$ , onde se verificou um aumento da concentração de Fe. Por outro lado, nos tratamentos envolvendo  $\text{Cr}^{6+}$ , não houve diferença significativa na concentração de Fe em relação ao controle (Figura 19C).

O Fe, a exemplo do Cu, está associado às enzimas envolvidas em reações de oxidorredução, tais como as reações dependentes da luz na fotossíntese, onde o  $\text{Cu}^+$  é reversivelmente oxidado a  $\text{Cu}^{2+}$  (TAIZ; ZEIGER, 2004). Segundo SHMIDT et al., (1996), é difícil traçar um padrão dos efeitos dos metais pesados no metabolismo do Fe, porque a sua fisiologia depende do tipo de metal associado, da sua concentração e das estratégias de aquisição de Fe pelas espécies vegetais. Com Cr esse aspecto não é diferente e as suas interações com o Fe variam muito de espécie para espécie



(BARBOSA, 2005). O Cr, mesmo não sendo um elemento essencial para o desenvolvimento das plantas, induz a deficiência de Fe, porque impede a sua translocação para a parte aérea e causa clorose foliar (BARCELO et al., 1985). Segundo esses autores, não foi observado decréscimo de Fe em *Phaseolus vulgaris* L., permanecendo seus teores constantes ou superiores em relação ao controle em raízes e caules, ao passo que em folhas houve uma diminuição na dose correspondente a 15 mg L<sup>-1</sup>.

Em plantas que não acumulam altas concentrações de Fe em suas folhas, como no caso de *Brassica oleracea* e *Lactuca sativa*, a translocação de Cr para a parte aérea é substancialmente menor (ZAYED, et al., 1998). A razão dessa baixa absorção, pode ser devida a sua associação com o Fe e S em função de suas similaridades moleculares (SHANKER, et al., 2004). Segundo SHANKER et al., (2005), as dicotiledôneas sob deficiência de Fe aumentam a atividade da redutase do Fe, promovendo um incremento da capacidade de reduzir o Fe<sup>3+</sup> a Fe<sup>2+</sup> que é a forma de absorção desse elemento pelas raízes nos vegetais. Entretanto, o Cr afeta a absorção de Fe porque inibe essa reação de redução, além de competir com o local de absorção de Fe<sup>2+</sup>.

Em *B. oleracea*, há um decréscimo no teor de Fe em todo o tecido foliar na presença de Cr, quando comparado com as plantas controle (Zayed et al., 1998). Esse fato foi também observado por PANDEY, et al., (2003) trabalhando com a mesma espécie, cujo aumento no teor de Cr causou a deficiência de Fe e promoveu consequentemente decréscimo no teor de clorofila e na atividade das enzimas do grupo heme (catalases e peroxidases). Segundo esses autores, uma das razões se deve ao

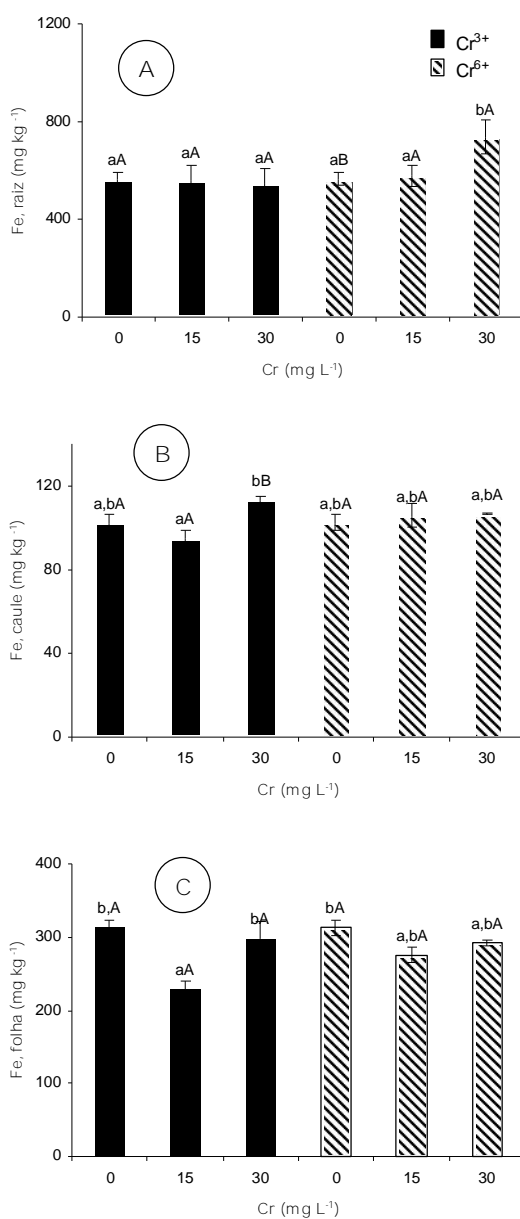


Figura 19: Concentração de Fe em raiz (A), caule (B) e folhas (C) em plântulas de *G. americana* submetidas a concentrações de 15 e 30 mg L<sup>-1</sup> de Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup> em solução nutritiva juntamente com o controle aos 15 dias após a aplicação dos tratamentos. Valores médios de três repetições ( $\pm$  EP). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas e minúsculas no gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05). Letras minúsculas referem-se às comparações entre cromos tri e hexavalente e as letras maiúsculas comparações entre as concentrações para o mesmo estágio de oxidação.

fato da similaridade de suas cargas ( $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$ ), que acaba por levar a uma substituição do  $\text{Fe}^{3+}$  por  $\text{Cr}^{3+}$  nas proteínas heme, resultando numa menor eficiência catalítica.

Em raízes de *G. americana* as concentrações de K apresentaram um decréscimo inversamente proporcional ao incremento das concentrações de  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$ , sendo que essa diminuição foi mais pronunciada nas doses de  $\text{Cr}^{6+}$  na ordem de 47% para 15 mg  $\text{L}^{-1}$  e de 53,4% para 30 mg  $\text{L}^{-1}$  (Figura 20A). Esse fato foi também constatado nos estudos realizados por BARBOSA (2005), utilizando a mesma espécie, submetida a concentrações crescentes de  $\text{Cr}^{3+}$  em solução nutritiva. Por outro lado, os teores de K no caule aumentaram proporcionalmente com o incremento das doses de Cr em solução nutritiva, independentemente do estado de oxidação, cujo valor máximo na dose de 30 mg  $\text{L}^{-1}$   $\text{Cr}^{6+}$  foi na ordem de 96% quando comparado ao controle (Figura 20B). O mesmo fato foi evidenciado com teor de K na folhas, onde o teor máximo de acúmulo de K foi cerca de 94% na dose 30mg  $\text{L}^{-1}$   $\text{Cr}^{3+}$  em relação ao controle (Figura 20C).

O potássio, presente nas plantas como cátion  $\text{K}^+$ , desempenha um papel importante na regulação do potencial osmótico das células vegetais, assim como ativa muitas enzimas envolvidas na respiração e na fotossíntese (TAIZ; ZEIGER 2004). A não absorção de íons  $\text{K}^+$ , assim como de outros nutrientes minerais, está relacionada à diminuição da atividade da  $\text{H}^+$  ATPase na membrana plasmática, devido a sua ruptura

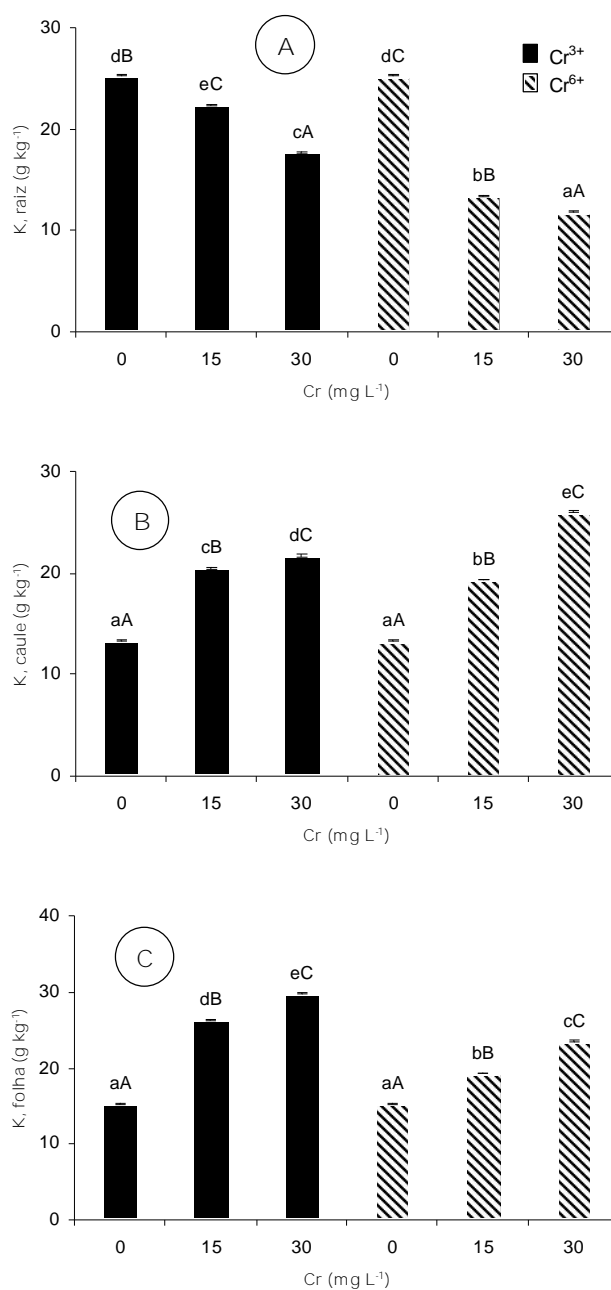


Figura 20: Concentração de K em raiz (A), caule (B) e folhas (C) em plântulas de *G. americana* submetidas a concentrações de 15 e 30 mg L<sup>-1</sup> de Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup> em solução nutritiva juntamente com o controle aos 15 dias após a aplicação dos tratamentos. Valores médios de três repetições ( $\pm$  EP). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas e minúsculas no gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05). Letras minúsculas referem-se às comparações entre cromos tri e hexavalente e as letras maiúsculas comparações entre as concentrações para o mesmo estágio de oxidação.

por radicais livres ( $H_2O_2$ ) (SHANKER et al., 2005). Segundo esses autores, essa diminuição no teor de K, assim como de outros elementos minerais, pode ser devido à redução no crescimento e posterior impedimento da penetração das raízes no solo devido a toxicidade do Cr.

Observou-se um decréscimo nos teores de Mg nas raízes de *G. americana* nas doses de  $30\text{ mg L}^{-1}\text{ Cr}^{3+}$  e de  $\text{Cr}^{6+}$  na ordem de 22,53% e 5,4% respectivamente, ao passo que não houve diferença significativa na dose  $15\text{ mg L}^{-1}\text{ Cr}^{3+}$  e de  $\text{Cr}^{6+}$  em relação ao controle (Figura 21A). O mesmo fato foi observado por BARBOSA (2003), que evidenciou um decréscimo do teor de Mg nas raízes na ordem de 39% na dose correspondente a  $30\text{ mg L}^{-1}\text{ Cr}^{3+}$ . Por outro lado, no caule e nas folhas houve um aumento nas concentrações de Mg proporcional ao incremento das doses de  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$  em solução nutritiva, cujo maior teor verificado em nível foliar foi na ordem de 21,7% na dose correspondente a  $30\text{ mg L}^{-1}\text{ Cr}^{3+}$  (Figuras 21B e 21C).

Em células vegetais o Mg tem um papel específico na ativação de enzimas envolvidas em várias rotas metabólicas, a exemplo da respiração e da fotossíntese, além de fazer parte de várias biomoléculas (TAIZ; ZEIGER 2004). Segundo TORRESDEY et al. (2004), há uma relação antagônica entre Cr e Mg nos tecidos radiculares de *Salsola kali*, uma vez que o aumento na concentração de Cr promove a diminuição na de Mg. Esse decréscimo nos teores de Mg acaba por afetar a fotossíntese, devido a não incorporação desse elemento metálico à molécula de clorofila durante a sua biossíntese.

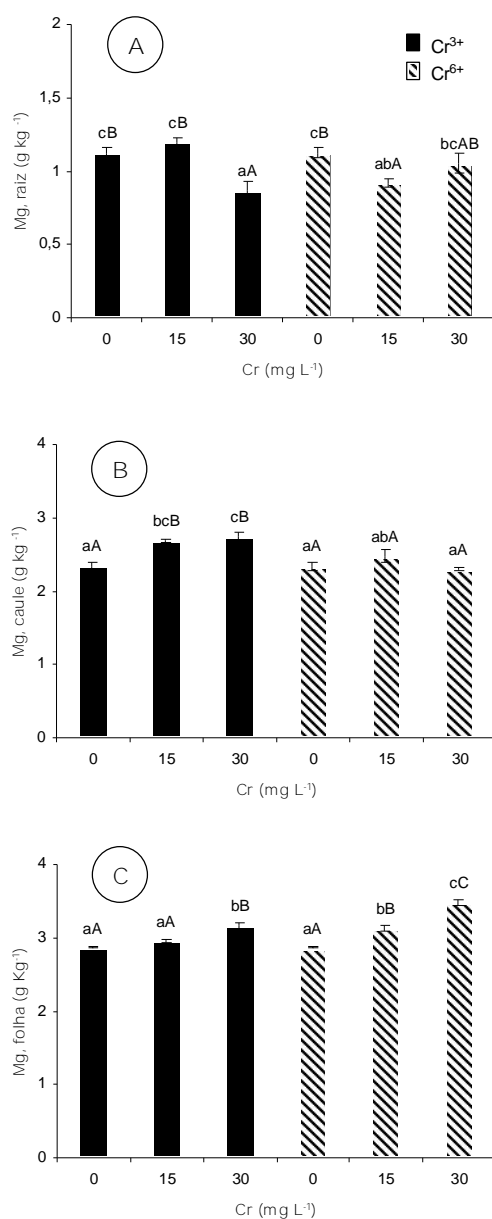


Figura 21: Concentração de Mg em raiz (A), caule (B) e folhas (C) em plântulas de *G. americana* submetidas a concentrações de 15 e 30 mg L<sup>-1</sup> de Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup> em solução nutritiva juntamente com o controle aos 15 dias após a aplicação dos tratamentos. Valores médios de três repetições ( $\pm$  EP). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas e minúsculas no gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Letras minúsculas referem-se às comparações entre cromos tri e hexavalente e as letras maiúsculas comparações entre as concentrações para o mesmo estágio de oxidação.

Observou-se nas raízes de *G.americana* um decréscimo nos teores de Ca com o incremento das doses de  $\text{Cr}^{3+}$ . Em contrapartida, houve um aumento no teor de Ca com incremento de  $\text{Cr}^{6+}$ . O menor percentual do teor de Ca, em relação ao controle, foi de 14 % para dose de  $30 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr}^{3+}$ , ao passo que o maior foi de 48,5 % na dose correspondente  $15 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr}^{6+}$  (Figura 22A). Por outro lado, verificou-se no caule um incremento no teor de Ca com o aumento das doses de  $\text{Cr}^{3+}$ . O mesmo não ocorreu em relação ao incremento de  $\text{Cr}^{6+}$ , cujos teores de Ca permaneceram relativamente constantes. O maior percentual do teor de Ca no caule, em relação ao controle, foi de 19 %, observado na dose de  $30 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr}^{3+}$  (Figura 22B). O mesmo fato foi constatado em nível foliar, a exceção do maior acúmulo de Ca, que ocorreu na dose correspondente a  $15 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr}^{3+}$ , na ordem de 36,4% em relação ao controle (Figura 22C).

Plantas de *Salsola kali*, tratadas com 5 e  $20 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr}^{6+}$ , apresentaram um aumento na absorção de Ca em suas raízes. Esse acúmulo de Ca foi atribuído como uma forma de detoxificação de  $\text{Cr}^{6+}$  por parte dessas plantas (TORRESDEY et al., 2004). Segundo esses autores, houve uma diminuição nos teores de Ca no caule das plantas tratadas com  $\text{Cr}^{6+}$  e um aumento nas tratadas com  $\text{Cr}^{3+}$ . Essa relação negativa apresentada em relação ao  $\text{Cr}^{3+}$  pode ser devida a uma competição ou restrição à absorção de Ca pelas raízes. Na folha dessa mesma espécie, a maior concentração de Ca foi observada na dose de  $10 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr}^{3+}$ , o que representa um decréscimo de 30% quando comparado com as plantas controle.

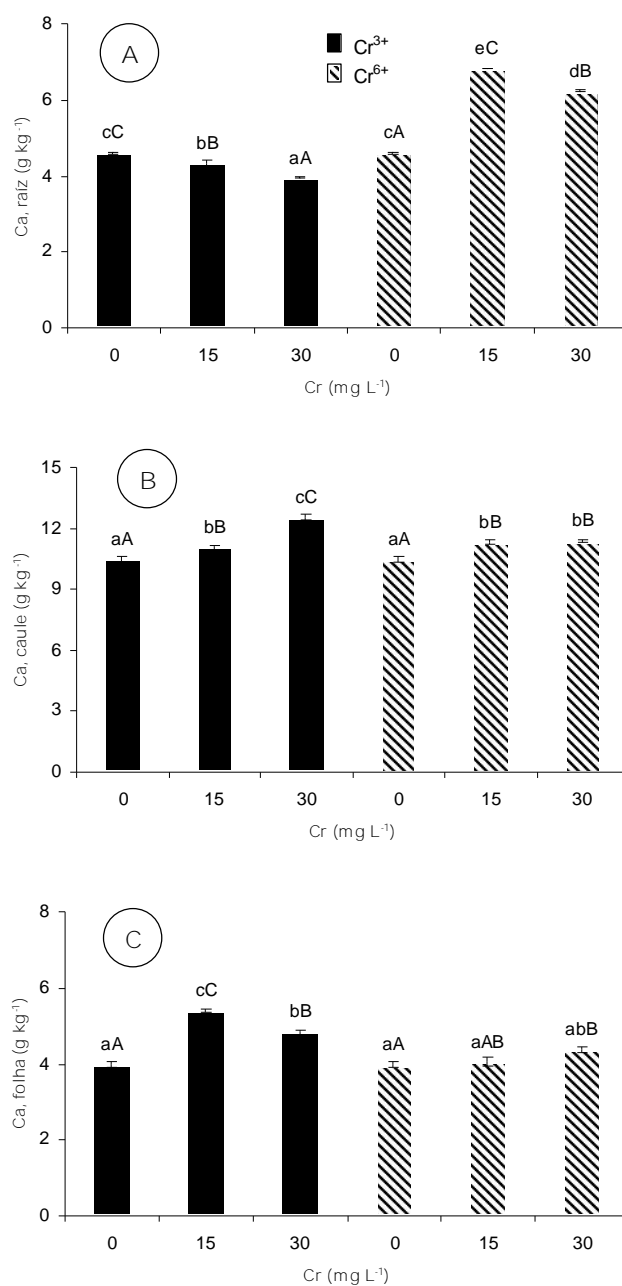


Figura 22: Concentração de Ca em raiz (A), caule (B) e folhas (C) em plântulas de *G. americana* submetidas a concentrações de 15 e 30 mg L<sup>-1</sup> de Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup> em solução nutritiva juntamente com o controle aos 15 dias após a aplicação dos tratamentos. Valores médios de três repetições ( $\pm$  EP). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas e minúsculas no gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). Letras minúsculas referem-se às comparações entre cromos tri e hexavalente e as letras maiúsculas comparações entre as concentrações para o mesmo estágio de oxidação.



Observou-se uma diminuição nos teores de P nas raízes de *G. americana* nas doses correspondentes a  $30 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr}^{3+}$  e  $15 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr}^{6+}$ , cujos decréscimos foram na ordem de 23,4 e 20 % respectivamente (Figura 23A). Nas demais doses, referentes às duas formas de oxidação de Cr, os teores de P permaneceram constantes, quando comparados ao controle. Em contrapartida, BARBOSA (2003) obteve um incremento de 5% nos teores de P nas raízes de plântulas de *G. americana*, no tratamento correspondente a  $30 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr}^{3+}$ . Por outro lado, houve uma diminuição nos teores de P no caule para ambas as formas de oxidação de Cr, principalmente na dose de  $30 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr}^{3+}$ , cujo decréscimo foi de 25% em relação ao controle (Figura 23B). Entretanto, na folha foi observado um aumento no teor de P apenas na dose  $15 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr}^{6+}$  na ordem de 29%, ao passo que nas outras doses e formas de oxidação de Cr não foram observadas variações significativas ( $P < 0,05$ ) nos teores de P (Figura 23C).

TORRESDEY et al. (2004) trabalhando com a espécie *Salsola kali* encontraram resultados semelhantes para plantas tratadas com  $\text{Cr}^{6+}$ , onde foi observada uma diminuição significativa dos teores de P nos tecidos radiculares. O mesmo fato foi constatado por BARCELÓ et al. (1985) em *Phaseolus vulgaris* cultivado no solo em pH 6.0 na presença de  $\text{Cr}^{6+}$ . Segundo SHANKER et al. (2004) o P e o Cr competem pelo mesmo sítio de absorção na raiz, isso, por sua vez, faz com que o Cr seja absorvido pelo sistema radicular e transportado para a parte aérea mais rapidamente em relação ao P, causando deficiência deste elemento nas plantas. Além do mais, a interação entre Cr e P varia entre diferentes espécies e cultivares estudados, cujos trabalhos apontam efeitos antagônicos entre esses elementos (MORAL et al., 1995). Por outro lado, o  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$ , apresentando ações similares, também afetam a absorção de P, causando

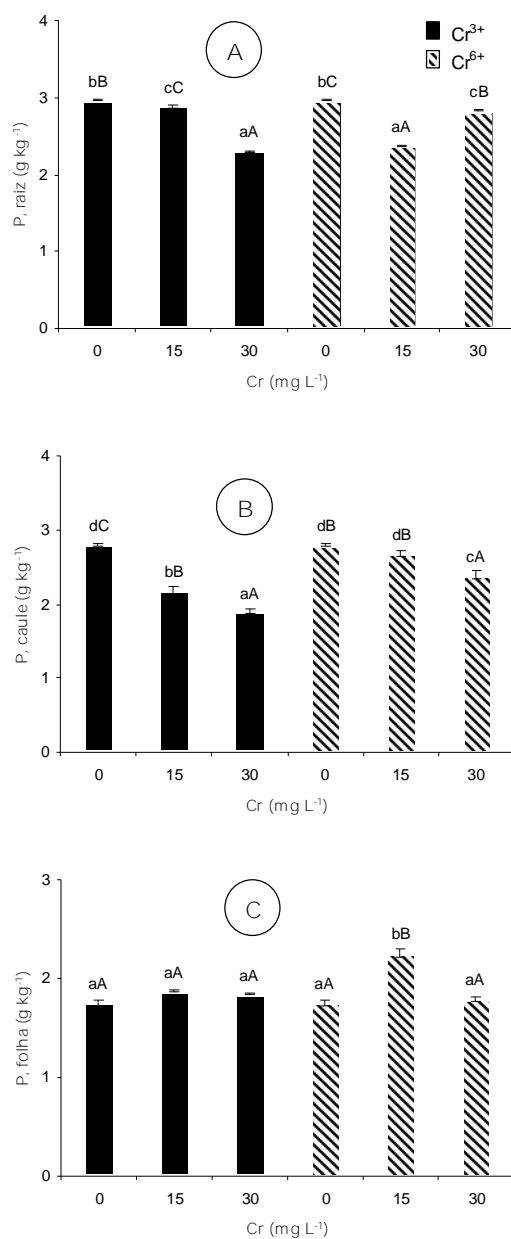


Figura 23: Concentração de P em raiz (A), caule (B) e folhas (C) em plântulas de *G. americana* submetidas a concentrações de 15 e 30 mg L<sup>-1</sup> de Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup> em solução nutritiva juntamente com o controle aos 15 dias após a aplicação dos tratamentos. Valores médios de três repetições ( $\pm$  EP). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas e minúsculas no gráfico não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05). Letras minúsculas referem-se às comparações entre cromos tri e hexavalente e as letras maiúsculas comparações entre as concentrações para o mesmo estágio de oxidação.

sintomas de deficiência aguda deste último elemento (SAMANTARAY et al., 1998).

## 5. CONCLUSÕES

O cromo tri ( $\text{Cr}^{3+}$ ) e hexavalente ( $\text{Cr}^{6+}$ ) afetaram o crescimento e o desenvolvimento das plântulas de *G. americana* cultivadas em solução nutritiva, principalmente na forma de  $\text{Cr}^{6+}$ , provendo alterações (i) nas trocas gasosas foliares, (ii) partição de biomassa, (iii) composição química e (iv) morfologia interna.

O cromo hexavalente foi reduzido a trivalente pelas plântulas de *G. americana* cultivadas em solução nutritiva.

A espécie *G. americana* demonstrou potencialidades fitorremediadoras, principalmente como planta fitoestabilizadora de  $\text{Cr}^{6+}$ , ao reduzi-lo a  $\text{Cr}^{3+}$  e tornando-o menos tóxico, e rizofiltradora de  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$  ao absorvê-los e concentra-los no sistema radicular na forma de  $\text{Cr}^{3+}$ .

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADRIANO, D.C. 1986. Trace Elements in the Terrestrial Environment. New York, Springer Verlag, p. 105-123.

ALMEIDA, A-A F. et al. Tolerance and prospecção of phytoremediator woody species of Cd, Pb, Cu and Cr, v.19, p. 83-98, 2007.

BARBOSA, R.M.T. Avaliação das potencialidades do jenipapeiro como planta fitorremediadora de cromo. Jul.2005.93f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente) – UESC, Ilhéus - BA. Orientador: Prof. Dr. Alex-Alan Furtado de Almeida.

BARCELO, J.; PASCHENRIEDER, CH.; GUNSE, B. 1985. Effect of Cr (VI) on mineral element composition of bush beans. *J. Plant Nutrition*, v.8, n.3, p. 211-217.

BEHROOZ,S.B.; SAMADI, L. Detection of apoptotic bodies and oligonucleosomal DNA fragments in cadmium-treated root apical cells of *Allium cepa* Linnaeus. *Plant Science*,v.167, p.411-416,2004.

BÖHM, I.;SHILD, H. Apoptosis: The complex scenario for a silent cell Death. *Molecular Imaging and Biology*, v.5, n.1, p.2-14, 2003.

CASTILHOS, D. D. et al.. Adição de cromo hexavalente no crescimento, nodulação e absorção de nutrientes em soja. *Ciência Rural*, v.31, n.6, p.969-972, 2001a.

\_\_\_\_\_. Redução química e Biológica do cromo hexavalente aplicado ao solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.25, p.509-514, 2001b.

\_\_\_\_\_.Acúmulo de cromo e seus efeitos na fixaçãobiológica do nitrogênio e absorção de nutrientes em soja. *Revista Brasileira de Agrociências*, v.7, n.2, p.121-124, 2001c.

\_\_\_\_\_. Rendimentos de culturas e alterações químicas do solo tratado com resíduos de curtume e crômio hexavalente. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.26, p.1083-1092, 2002.

CHOO, T.P., *et al.*, Accumulation of chromium (VI) from aqueous solutions using water lilies (*Nymphaea spontanea*). *Chemosphere*, v.62, p.961-967, 2006.

COLLINS, C.H. Liquid chromatographic separation of aqueous species of Cr (VI) and Cr (III). *Journal of chromatography*, v.789, p. 469-478, 1997.

CORRÊA, M. P. Dicionário de Plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, v.4, 1984.

COSTA, M., *et al.* Cr (III) - mediated crosslinks of glutathione or amino acids to the DNA phosphate backbone are mutagenic in human cells. v. 10, p. 962–970 (1997)

COSTA, M. Toxicity and carcinogenicity of Cr (VI) in animal models and humans *Critical reviews in toxicology*, v.27, p.431-42, 1997.

CUNNINGHAM, L. M. *et al.* Physiological and biochemical aspects of cadmium toxicity in soybean. I. Toxicity symptoms and autoradiographic distribution of Cd in roots, stems and leaves. In: *Proc. Intern. Conf. On heavy metal in Environments, Toronto*. p. 97-120, 1975.

DINARDI, A. L. *et al.* Fitorremediação. In: *III Fórum de estudos Contábeis 2003. Faculdades Integradas Claretianas, Curso de Tecnologia em Saneamento Ambiental – Rio Claro – SP – Brasil*.

DIXIT, *et al.* 2002. Chromium íons inactivate electron transport and enhance superoxide generation in vivo in peão (*Pisum sativum* L. vc. Azad) root mitochondria. *Plant. Cell and environment*. v.25, p.687-693, 2002.

DREW, M. C. *et. al.* Programmed cell death and aerenchyma formation in roots, v.5, n.3, p. 123-127, 2000.

EPA – (US Environmental protection Agency). *Toxicological review of hexavalent chromium*. Washington: EPA. P.1-70, 1998.

FERREIRA, A.D.Q. O Impacto do crômio nos sistemas biológicos. Química Nova. Ribeirão Preto – SP, v.25, n.4, p.572-578, 2002.

FIGUEIREDO R. W. *et al.* Características físicas e químicas do jenipapo. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília-DF, v.21, p.421-428, 1986.

FLORA, S. Threshold mechanisms and specificity in chromium (VI). Carcinogenesis, v. 21, n. 4, p. 533 - 541 2000.

GOMES, R.P. Fruticultura Brasileira. 8 ed. São Paulo: Nobel, p.448, 1982.  
HOAGLAND, D.R. & ARNON, D.I. The water culture method for growing plants without soil. Berkeley, University of California, Circular, 347, 39 p. 1950.

HALL, J.L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance, v.53, p. 1-11, 2002.

HUFFMAN, E.W. D. Jr., ALLAWAY, H.W. Chromium in plants: Distribution in tissues, organelles, and extracts and availability of bean leaf Cr to animals. Journal Agriculture Food Chemical, v.21, n.6, p 982-986, 1973.

JOHANSEN, D. Plant Microtechnique. New York: Mc Graw-Hill Book Co. 1940.

JORDÃO, C.P. SILVA, A. C PEREIRA, J.L.; BRUNE, W.. Contaminação por crômio de águas de rios provenientes de curtumes em Minas Gerais. Química Nova, v. 22, p.9-15, 1999.

KLUMPP, A. Variation of nutrient and metal concentrations in aquatic macrophytes along the Rio Cachoeira in Bahia (Brazil). Environment International, v.28, p.165-171, 2002.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. Manual Básico de Métodos em Morfologia Vegetal. Seropédica-RJ: Editora Universidade Rural, 198p. 1997.

LIU, D.; JIANG, W.; LI, M. Effects of trivalent and hexavalent chromium on root growth and cell division of *Allium cepa*. Hereditas, v.117, p 23-29, 1992.

LORENZI, HARRI. *Arvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. 4ed. Nova Odessa-São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA, 2002, 367p.

LOSI, M.E.; AMRHEIN, C.; FRANKENBERGER, W.T. Bioremediation of chromate-contaminated ground water by reduction and precipitation in surface soils. *Journal Environment. Qual.*, v. 23, p. 1141-1550, 1994.

LYTLE, C.M. *et al.* Reduction of Cr (VI) to Cr (III) by Wetland plants: potencial for in situ Heavy metal detoxification. *Environment Science Technology*. v.32, p. 3087-3093, 1998.

MALAVOLTA, E. *Fertilizantes e seu impacto ambiental*. São Paulo-SP: Produquímica Indústria e Comércio Ltda, 1994, 153p.

MANGABEIRA, P.A., *et al.* Bioaccumulation of chromium in aquatic macrophyte *Borreria scabiosoides* Cham. & Schtdl. *Applied Surface Science*, v 252. n. 19. p.6816-6819, 2006.

McGRATH, S. P. *et al.* Heavy metal uptake and chemical changes in the rhizosphere of *Thlaspi caerulescens* and *Thlaspi ohrolencum* grown in contaminated soils. *Plant Soil*. vol. 188, p. 153-159, 1997.

MEI, B. *et al.* Assessment of Cr tolerance and accumulation in selected plant species. *Plant and Soil*, v. 247, p. 223-231, 2002.

MIELKE, M.S.; ALMEIDA, A.<sup>a</sup> F. DE; GOMES, F. P. AGUILLAR, A. G.; MANGABEIRA, P.A.O.. Leaf gas exchange, chlorophyll fluorescence and growth responses of *Genipa americana* seedlings to soil flooding. *Environmental and Experimental Botany*, v.50, p.221-231, 2003.

MISHRA, S. *et al.* A study on the uptake of trivalent and hexavalent chromium by paddy (*Oryza sativa*): possible chemical modifications in rhizosphere, v. 62, p.53-58, 1997.

OTABBONG, E. Chemistry of chromium in some Swedish soils 4. Influence of  $\text{CrO}_3$  and  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  on uptake and translocation of Mn, Cu, Zn, Fe and Al by Rye grass (*Lolium perenne*). Acta. Agriculture Scand., v.39, p. 149-157, 1989.

PANDA, S.K. Chromium stress in plants. Brazil Journal Plant Physiology, v.17, p. 95-102, 2005.

PANDEY, N.; SHARM, P. CHANDRA. Chromium interference in iron nutrition and water relations of cabbage. Environmental and Experimental Botany, v.49, p.195-200, 2003.

PELLERIN, C.; BOOKER, S.M. Focus – Reflections on hexavalent chromium. Environmental Health Perspectives, v.108, n.9, p.403-407, 2000.

PENNEL, R.I.; LAMB, C. Programed Cell Death in Plants. Plant Cell, v.9, p.1157-1168, 1997.

PRASAD, M.N.V. ; FREITAS, H. Removal of toxic metals from solution by leaf stem and root phytomass of *Quercus ilex* L. (holly oak). Environmental Pollution, v.110, p. 277-283, 2000.

PULFORD, I.D. *et. al.* Uptake of chromium by trees: prospects for phytoremediation. Environmental Geochemistry and Health, v.23, p.307-311, 2001.

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

QIAN, J.H. *et al.* Phytoaccumulation of trace elements by wetland plants species III. Uptake and accumulation of ten trace elements by twelve plant species. Journal Environment Qual. , v.28, p.1448-1455, 1999.

RAI, D.; EARY, L. & ZACHARA, E. Environmental chemistry of chromium. Sci. Total Environ., v.86, p. 15-23, 1989.

RODRIGUES R.R.; FILHO, H.F.L. Matas Ciliares: conservação e recuperação. 2 ed. São Paulo-SP: Editora da universidade de São Paulo, 2004, 320p.



SALT, D. E. et al. Phytoremediation. Annual Review Plant Physiology. Plant. Mol. Bio, vol. 49, p. 643-668, 1998.

SALVADOR, J.L.G. Comportamento de espécies florestais nativas em áreas de depleção de reservatórios. IPEF Piracicaba, v.33, p. 73-78, 1986.

SAMANTARAY, S.; ROUT, G.R.; DAS, P. Role of chromium on plant growth and metabolism. Acta Physiology Plant., v.20, p. 201-212, 1998.

SANTOS, R.O.S. Caracterização de jenipapeiros (*Genipa americana* L.) em Cruz das Almas BA. Jul.2001.64f. Dissertação – UFBA, Cruz as Almas - BA.

SHARMA, A. BHATTACHARYYA, K.G. Adsorption of chromium(VI) on *Azadirachta indica* (Neem) leaf powder. Kluwer Academic Publishers, v.10, p. 327-338, 2004.

SHANKER, A.K. et al. Chromium toxicity in plants. Environmental International. v.31, p.739-753, 2005.

SHANKER, A.K. et al. Phytoaccumulation of chromium by some multipurpose-tree seedlings. Agroforestry Systems, v.64, p.83-87, 2005.

SHANKER, A.K. et al. Especiation dependant antioxidative response in roots and leaves of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench cv CO 27) under Cr (III) and Cr(VI) stress. Plant and soil, v.265, p.141-151, 2004.

SHMIDT, W. Influence of chromium (III) on root-associated Fe(III) reductase in *Plantago lanceolata* L. Journal of Experimental Botany, v.47, n.299, p.805-810, 1996.

SILVA, A.P. et al. Caracterização Química e Física do jenipapo (*Genipa americana* L.) armazenado. Sci.agric.Piracicaba-SP, v.55, p.29-34, 1998.

SMITS, E.P., Phytoremediation. Annual Review Plant Biology, v.56, p.15-39, 2005.

SRIDHAR, B.B.M. Anatomical changes due to uptake and accumulation of Zn and Cd in Indian mustard (*Brassica juncea*). Environmental and Experimental Botany, v.54, p.

131-141, 2005.

SRIVASTAVA, S. et al. Chromium mobilization and plant availability – the impact of organic complexing ligands , v.212, p. 203-208, 1999.

VAJPAYEE, U.N. et al. Chromium – Induced physiologic changes in *Vallisneria spiralis*L. and its role in phytoremediation of Tannery effluent. Bull.Environ.Contam.Toxicol.v.67, p. 246-256,2000.

VAN ASSCHE, F. et al. Physiological aspects of metal toxicity in plants- In: Envits. Ltd., Edimburgh. IBSN. 0-905941-43-8, 1988.

VAN ASSCHE, F.; CLIJSTERS, H. 1983. Multiple effects of heavy metals on phoyosynthesis. In: Marcelle, R., ed. Effects of stress on photosynthesis. The Hague: Nijhoff/Junk, p. 371-382.

VASQUEZ, M. D. et al. Chromium VI induced structural and ultrastructural changes in bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) Annals of Botany. vol. 59, p. 427-438, 1986.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. 3 ed. Porto Alegre – Rs: Artmed, 2004, 719p.

TORRESDEY,G.L.J.et al . Differential uptake and transport of trivalent and hexavalente chromium by tumbleweed (*Salsola kali*) 2004.Archives of Enviromental Contamination and Toxicology, v.48, p.225-232, 2004.

ZAYED, A. et al. Chromium accumulation, translocation and chemical speciation in vegetable crops.Planta.v.206, p.293-299, 1998.

ZAYED, A. M.; TERRY. N. Chromium in the environment: factors affecting biological remediation. Plant and soil , v.249, p. 139-156,2002.

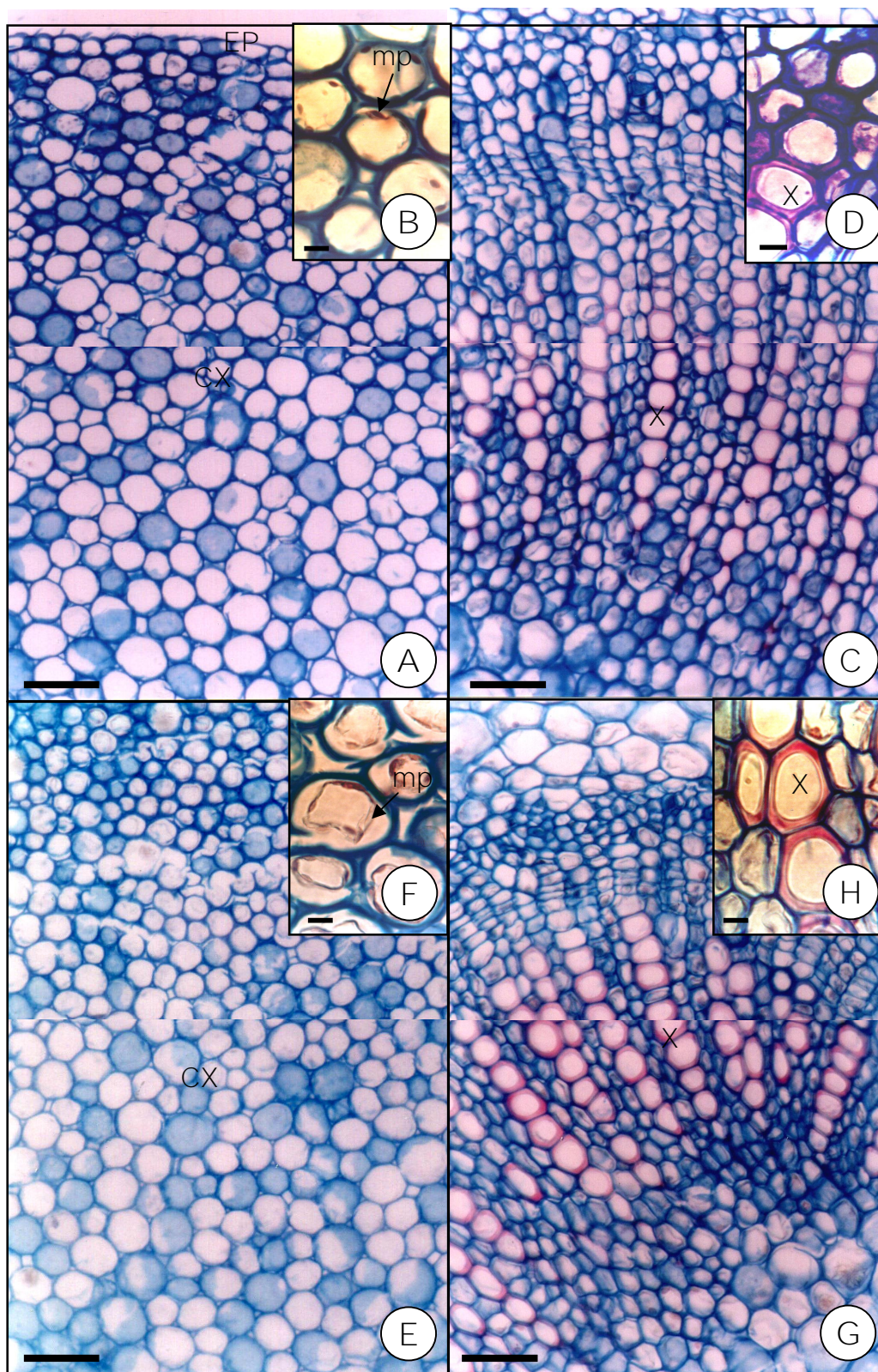


Figura 6: G-H -Secção transversal do caule submetido as concentrações de  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$ . (A, B, C, D) Controle, (E, F, G, H) tratamento  $15 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr}^{3+}$ . Abreviaturas: epiderme(EP),córtex (CX), membrana plasmática (mp), xilema (X). Azul de astra e safranina a 1%., Escala: (A, C, E, G)  $60 \mu\text{m}$ , (B, D, F, H)  $10 \mu\text{m}$ .



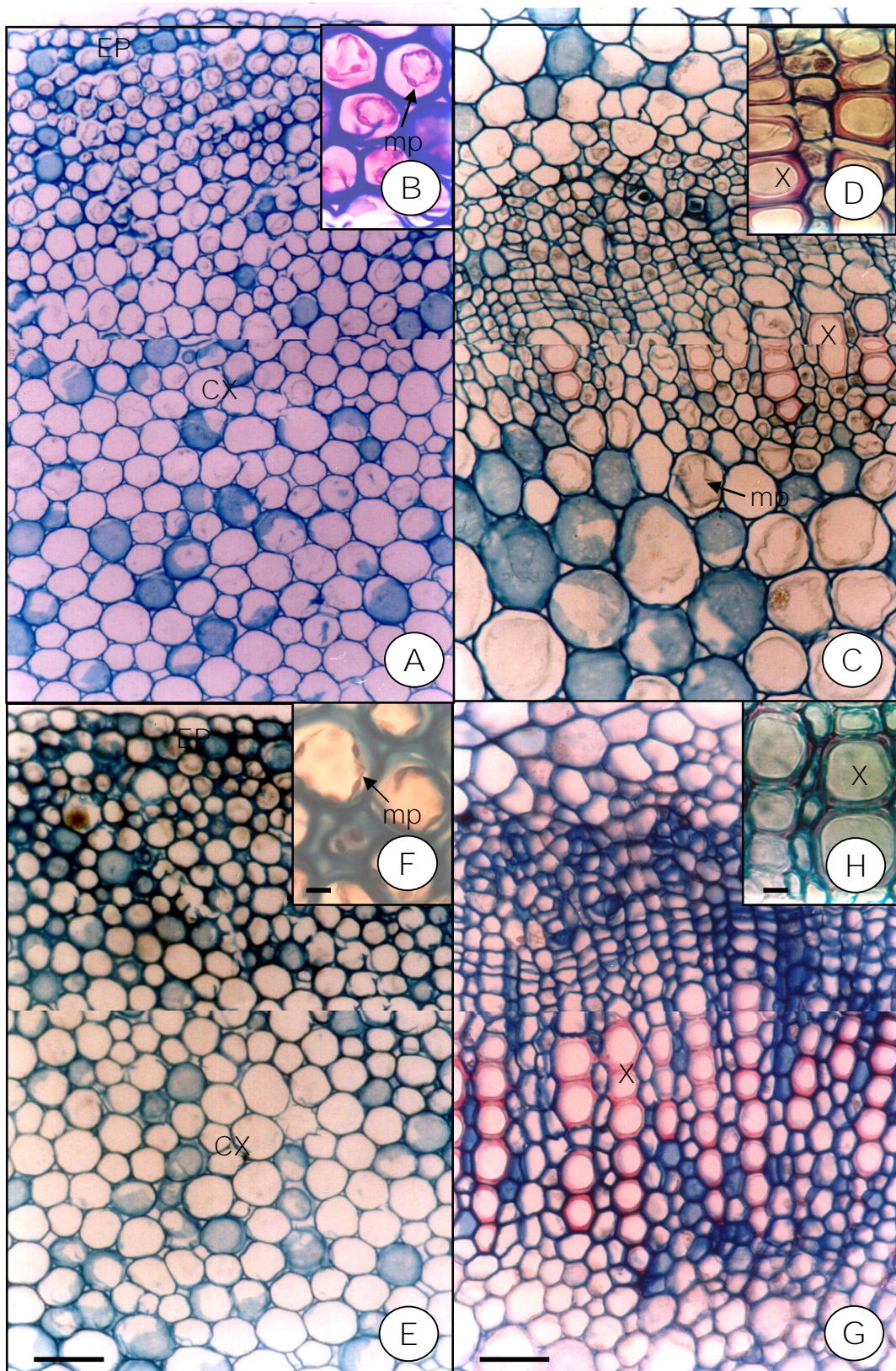


Figura 7: G-H - Secção transversal do caule submetido as concentrações de Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup>. (A, B, C, D) 30mg L<sup>-1</sup> Cr<sup>3+</sup>, (E, F, G, H) tratamento 15 mg L<sup>-1</sup> Cr<sup>6+</sup>. Abreviaturas: epiderme(EP),córtex (CX), membrana plasmática (MP), xilema (X). Azul de astra e safranina a 1%,. Escala: (A, C, E, G) 60 µm, (B, D, F, H) 10 µm.



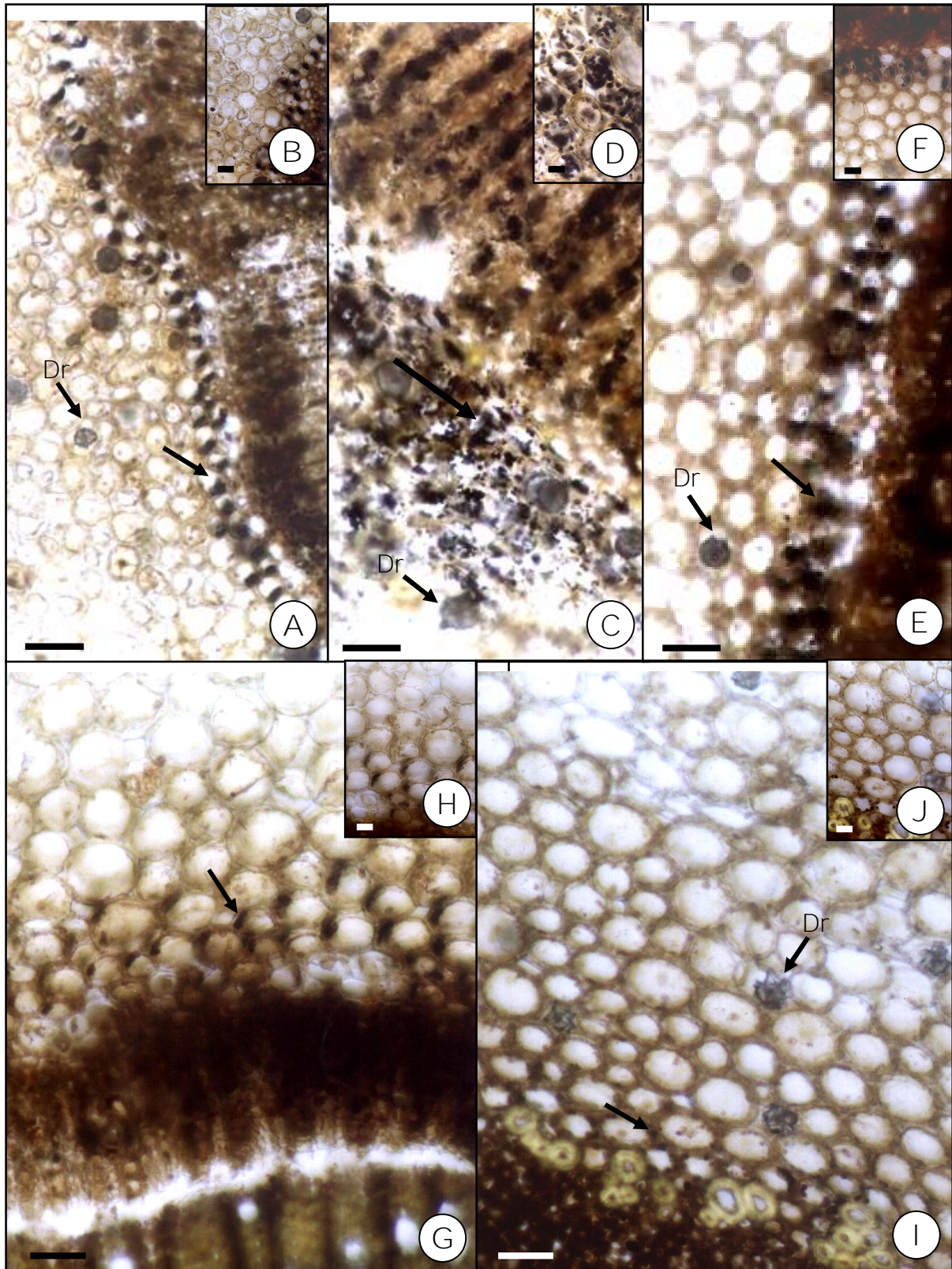


Figura 8: (I-J): Secção transversal do caule submetido ao  $\text{Cr}^{3+}$   $\text{Cr}^{6+}$ , teste histoquímico com lugol a 1%. (A, B) Controle, (C-D) tratamento  $15 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{Cr}^{3+}$ , (E-F), tratamento  $30 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{Cr}^{3+}$ , (G-H) tratamento  $15 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{Cr}^{6+}$ ,  $30 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{Cr}^{6+}$ , verifica-se o acúmulo de amido na região cortical e raios parenquimáticos (setas). Abreviaturas: drusas (Dr). Escala: (A, C, E, G, I)  $60 \mu\text{m}$  (B, D, F, H, J)  $30 \mu\text{m}$ .



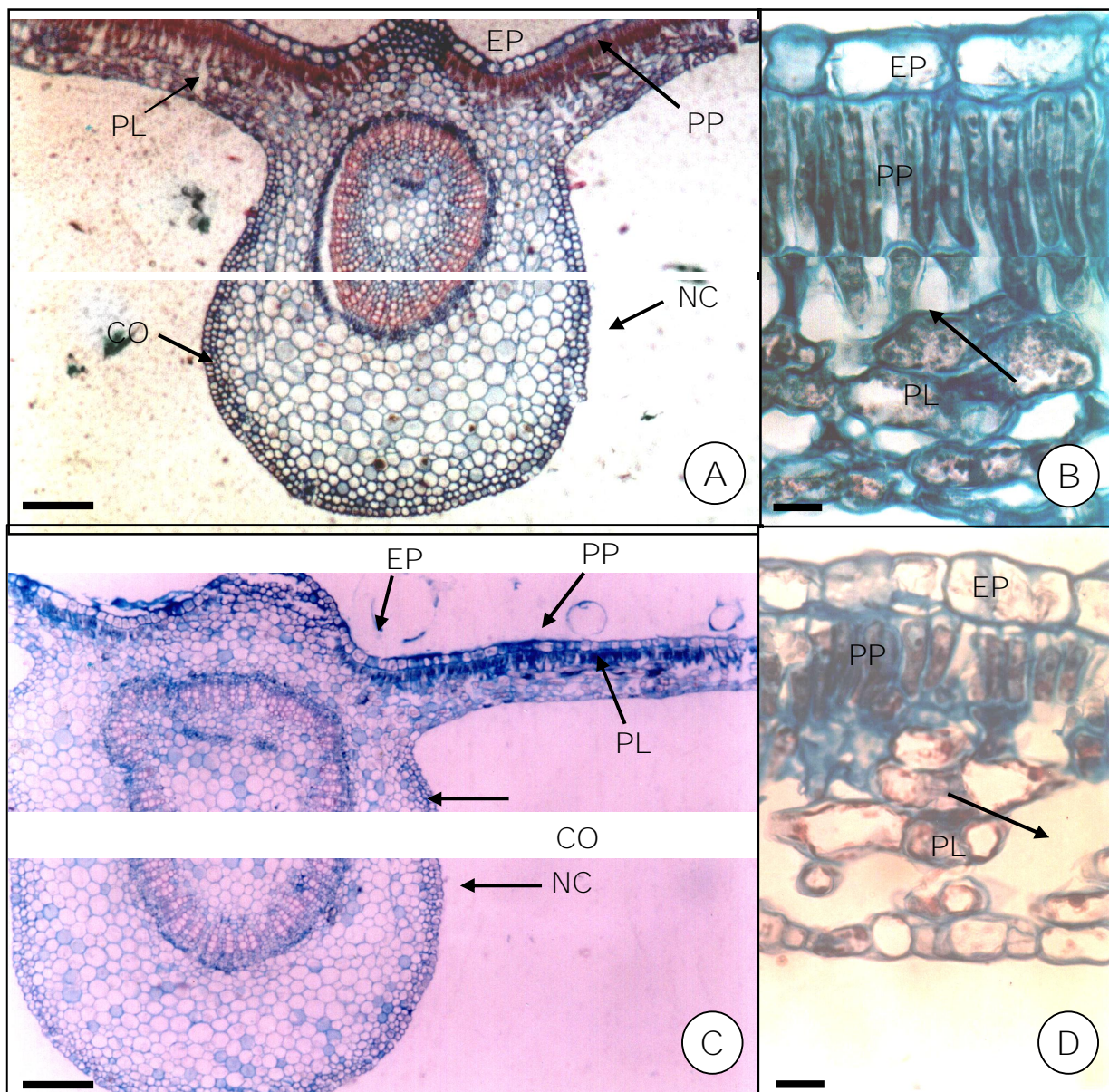


Figura 9: A-D -Secção transversal da folha submetida ao Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup>. (A-B) Controle: A nervura central, B:detalhe do mesofilo; (C-D) tratamento 30 mg L<sup>-1</sup> Cr<sup>3+</sup>: C nervura central, D detalhe do mesofilo. Setas indicam espaços intercelulares.Abreviaturas: Nervura central (NC), epiderme (EP), parênquima paliçádico (PP), parênquima lacunoso (PL), colênquima(CO).Azul de astra e safranina a 1%,. Escala: (A, C) 170 µm, (B, D) 30 µm.



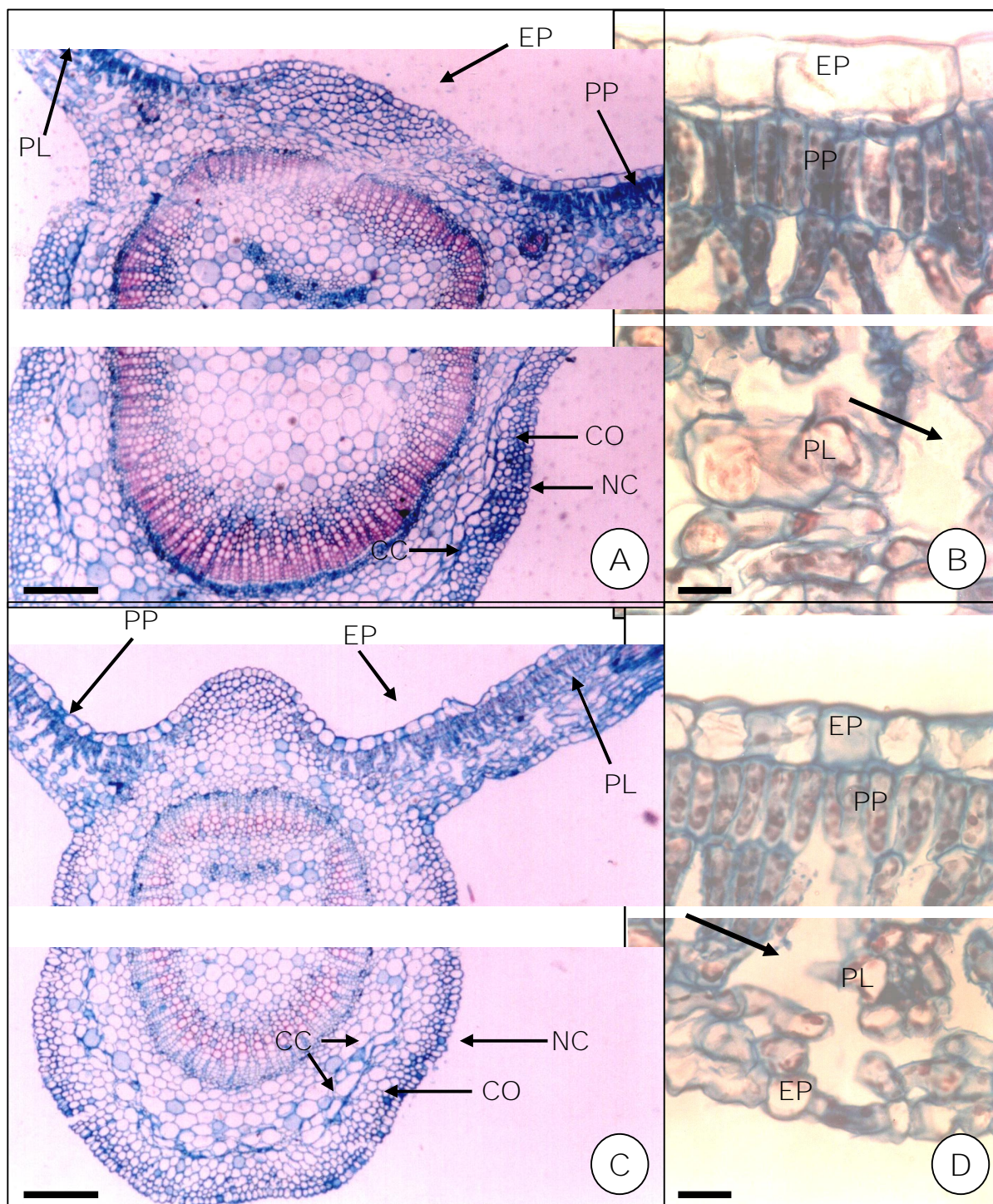


Figura 10: A-D : Secção transversal da folha submetida ao Cr<sup>3+</sup> e Cr<sup>6+</sup> (A-B) tratamento 15 mg L<sup>-1</sup> Cr<sup>6+</sup>: A nervura central, B detalhe do mesofilo; (C-D) tratamento 30 mg L<sup>-1</sup> Cr<sup>6+</sup>: C nervura central, D detalhe do mesofilo. Setas indicam espaços intercelulares. Abreviaturas: Nervura central (NC), epiderme (EP), parênquima paliádico (PP), parênquima lacunoso (PL), colênquima (CO), colapso celular (CC). Azul de astra e safranina a 1%. Escala: (A, C) 170 µm, (B, D) 30 µm.



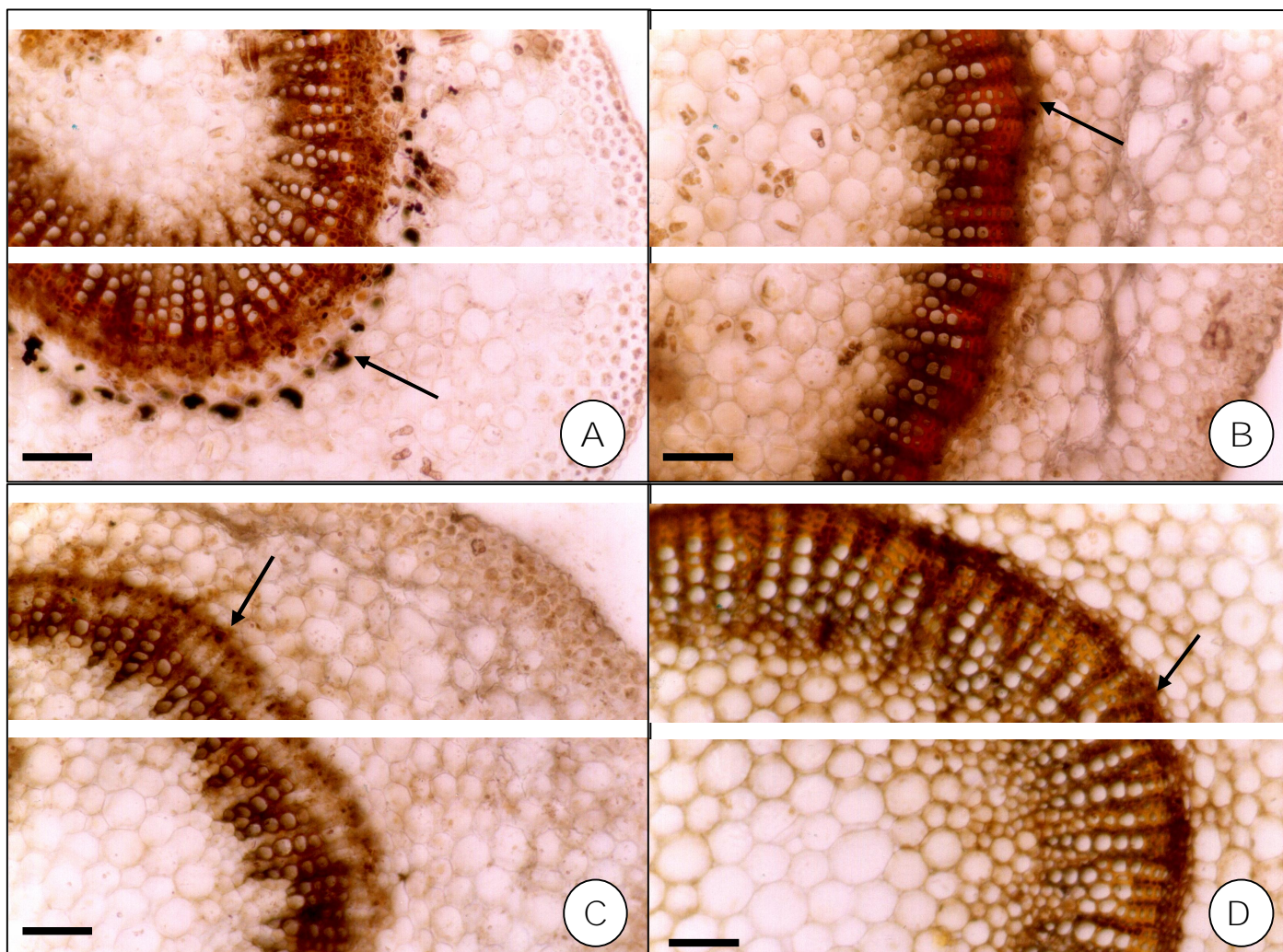


Figura 11: A-D -Secção transversal da nervura central da folha de *Genipa americana* submetida ao  $\text{Cr}^{3+}$   $\text{Cr}^{6+}$  -teste histoquímico com lugol. (A) Controle, (B) tratamento  $15 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{Cr}^{3+}$ , (C) tratamento  $15 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{Cr}^{6+}$ , (D) tratamento  $30 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{Cr}^{6+}$ .Setas indicam amido nas células de parênquima próximas ao tecido vascular. Escala: (A, B, C, D)  $60 \mu\text{m}$ .



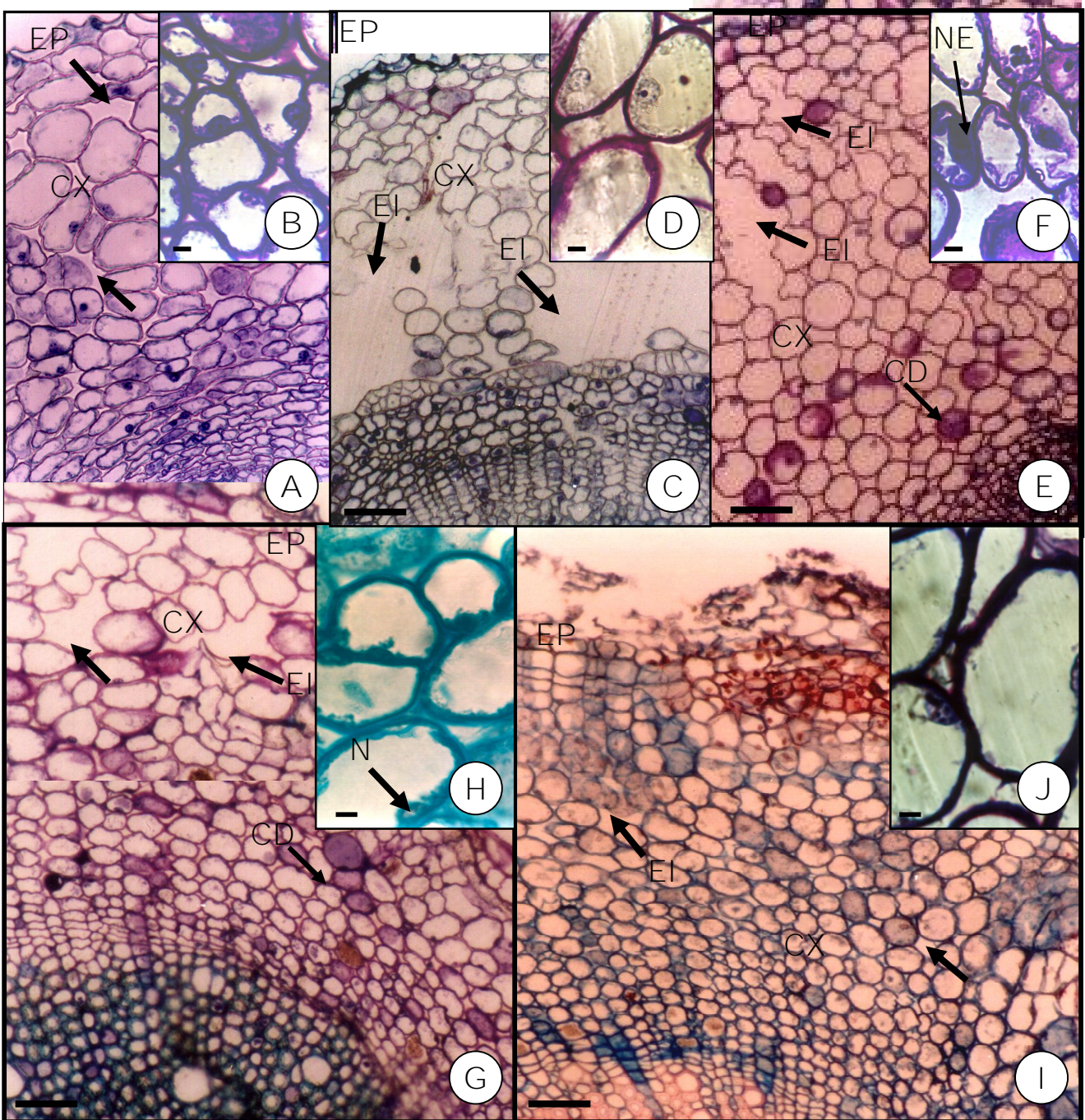


Figura 4: A-J - Secção transversal da raiz submetida ao tratamento com o  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$ . (A-B) Controle: A região cortical, B detalhe das células da região cortical; (C-D) tratamento  $15 \text{ mg L}^{-1} \text{Cr}^{3+}$ , C região cortical, D detalhe das células da região cortical; (E-F) tratamento  $30 \text{ mg L}^{-1} \text{Cr}^{3+}$ , E região cortical, F detalhe das células da região cortical; (G-H) tratamento  $15 \text{ mg L}^{-1} \text{Cr}^{6+}$ , G região cortical, H detalhe das células da região cortical; (I-J) tratamento  $30 \text{ mg L}^{-1} \text{Cr}^{6+}$ , I região cortical, J detalhe das células da região cortical. Abreviaturas: espaços intercelulares (EI), córtex (CX), epiderme (EP), células com conteúdo denso (CD), núcleo elíptico (NE). Azul de astra e safranina a 1%. Escala: (A, C, E, G, I)  $60 \mu\text{m}$ , (B, D, F, H, J)  $10 \mu\text{m}$ .



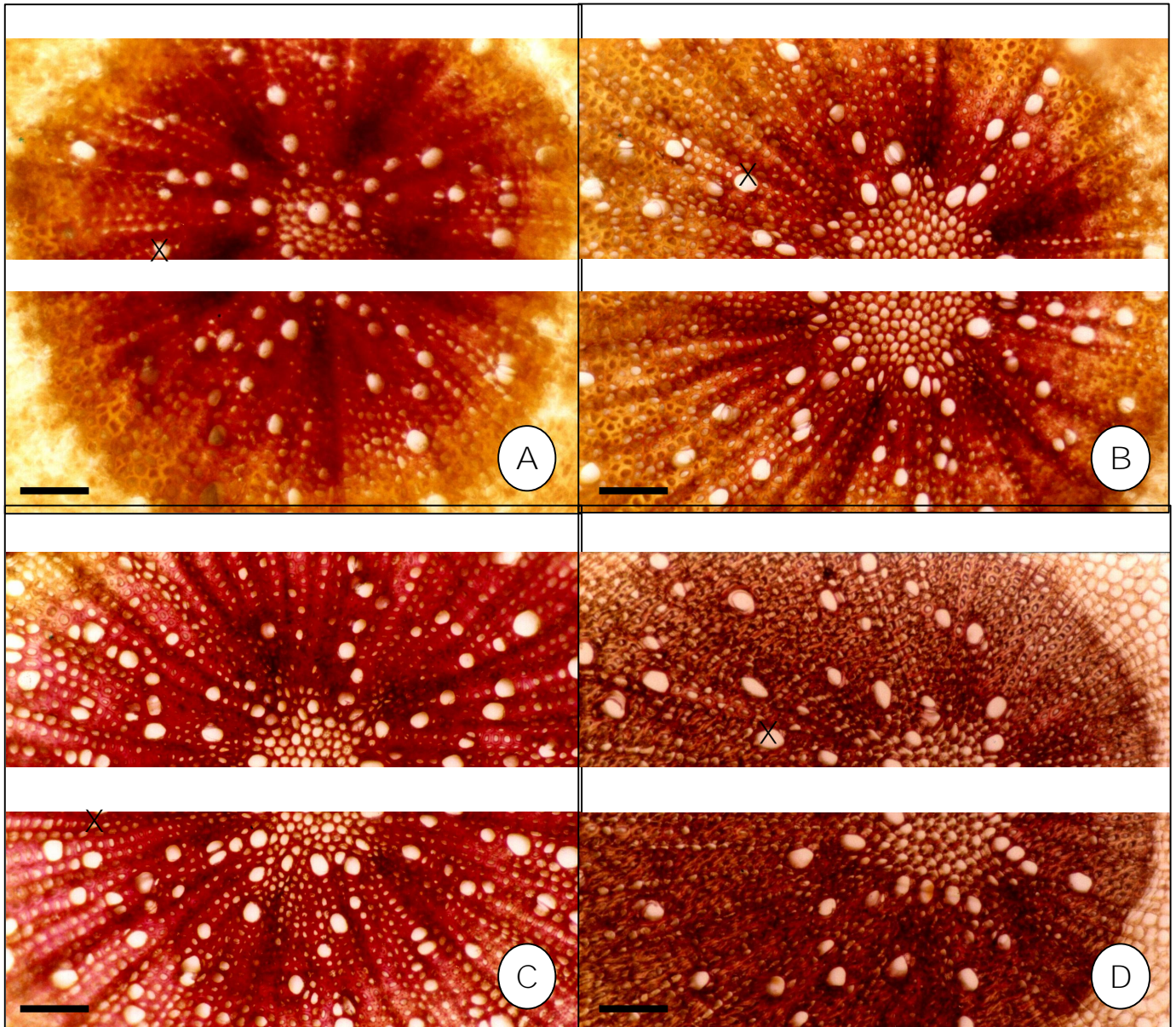


Figura 5: A-D - Secção transversal da raiz - reação com floroglucina acidificada a 1%, evidenciada pelas paredes celulares lignificadas - submetida as concentrações de  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$ . (A) Controle, (B) tratamento  $30\text{mg L}^{-1} \text{Cr}^{3+}$ , (C) tratamento  $15\text{mg L}^{-1} \text{Cr}^{6+}$ , (D) tratamento  $30\text{mg L}^{-1} \text{Cr}^{6+}$ . Escala:  $60\ \mu\text{m}$ .

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)