

# ***Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit: TOLERÂNCIA AO METAL PESADO CHUMBO**

CARLOS E. **CHINO**<sup>1</sup>; ANA M. M. A **LAGÔA**<sup>2</sup>; MARLENE A. **SCHIAVINATO**<sup>3</sup>

Nº 0700003

## **Resumo**

A contaminação do solo, de cursos de água de lençóis freáticos por metais pesados tem sido uma constante nesses últimos anos de intensa industrialização e expansão demográfica. A fitoextração é uma técnica que consiste em utilizar plantas hiperacumuladoras de metais pesados com o objetivo de remediar solos contaminados por esse metal. Para uma planta ser hiperacumuladora, ela deve ter a habilidade de absorver, acumular e tolerar altas concentrações de metal pesado. O objetivo deste trabalho foi avaliar a tolerância da espécie *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit a altas concentrações de chumbo (Pb), bem como a influência desse metal na nodulação e fixação de N<sub>2</sub>. Foram postas para germinar 10 sementes de leucena, previamente escarificadas em ácido sulfúrico, diretamente em vasos contendo areia lavada já contaminada com 4 diferentes concentrações de chumbo (acetato de chumbo): 0µM L<sup>-1</sup> (controle), 400µM L<sup>-1</sup>, 800µM L<sup>-1</sup> e 1600µM L<sup>-1</sup>. Um grupo de plantas recebeu aplicação de estirpes de rizóbios selecionadas. Uma vez por semana cada vaso (contendo duas plantas) foi regado com 100mL de solução nutritiva, contendo ou não N mineral. Foram utilizados, como parâmetros de crescimento, as seguintes medidas: altura, número de folhas e de nódulos radiculares e massa seca da parte aérea, das raízes e dos nódulos radiculares. O Pb não afetou o crescimento e a nodulação das plantas em nenhuma das concentrações aplicadas. As plantas de leucena apresetam, portanto, tolerância as concentrações utilizadas do metal pesado Pb. Mais estudos devem ser feitos para elucidar a interação do chumbo no desenvolvimento desta espécie.

1. Bolsista CNPq: Graduação em Ciências Biológicas, IB/UNICAMP, Campinas-SP, carloschino@gmail.com
2. Orientador: Pesquisador, Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas-SP
3. Orientador: Pesquisador, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP

## Introdução

A degradação do meio ambiente, proporcionada principalmente por ações antropogênicas, tem afetado profundamente o ecossistema. Nesse contexto, a contaminação do meio ambiente por metais pesados (MP) tem sido uma constante (PAIVA *et al.*, 2002). Este é um tema bastante discutido, devido à presença desses compostos em agrotóxicos, resíduos da indústria de siderurgia e mineração, componentes do lixo urbano, em diversos produtos depositados no solo como fertilizantes fosfatados, entre outros.

Consideram-se MP compostos que possuem densidade maior ou igual à  $5 \text{ g.cm}^{-3}$  e que possuem algum efeito tóxico em células microbianas ou em qualquer célula viva. São aproximadamente 65 elementos e entre eles encontram-se o Rb, Cr, Al, Cd, Ag, Au, Hg e Pb, que não apresentam uma função essencial aparente nos vegetais. Esses elementos podem ser facilmente acumulados nas células por processos físico-químicos e biológicos, podendo assim entrar na cadeia alimentar por bioacumulação (ANDRADE, 2001).

Os efeitos tóxicos do Pb ocorrem nos processos de fotossíntese, de mitose e de absorção de água, levando a uma coloração verde escura nas folhas, murchamento das folhas mais velhas, folhagem atrofiada, raízes escurecidas e pouco desenvolvidas. A tolerância ao Pb ocorre associada às propriedades das membranas, influenciando na plasticidade e na elasticidade das paredes celulares, aumentando assim a rigidez destes órgãos (KABATA-PENDIAS e PENDIAS, 1992).

A remediação de áreas degradadas é uma exigência legal (prevista pela legislação brasileira) e uma obrigação social que precisa ser executada. Assim, cria-se uma enorme demanda tecnológica, oportunidades de pesquisas científicas e grandes possibilidades de negócios. Com o intuito de remediar o ambiente, têm sido desenvolvidas tecnologias envolvendo processos químicos ou físicos, que são muitas vezes de difícil execução e/ou de grande custo (ACCIOLY e SIQUEIRA, 2000).

Mas recentemente, tem sido dada muita importância a uma tecnologia emergente chamada fitorremediação. Embora com algumas diferenças conceituais, fitorremediação é um tipo de biorremediação que envolve a utilização de plantas e sua microbiota associada para remover, mobilizar ou tornar inofensivos ao ecossistema, os contaminantes do solo (CUNNINGHAM *et al.*, 1996).

Dentre as formas de fitorremediação, a mais utilizada e conhecida é a fitoextração. Essa técnica envolve a utilização de plantas hiperacumuladoras que retiram MPs presentes no solo, e os acumulam principalmente na parte aérea (KHAN *et al.*, 2000). Plantas hiperacumuladoras são as

que suportam uma quantidade 100 vezes maior de metal acumulado em seu organismo que outras plantas não acumuladoras. (LASAT, 2002). Uma vez que acumulam o MP, essas plantas podem ser encaminhadas para aterros sanitários ou para reciclagem do metal absorvido. (KHAN *et al.*, 2000).

A técnica de fitoextração depende de uma série de fatores como a disponibilidade do metal no solo, a extensão da área a ser descontaminada e a habilidade da planta em interceptar, absorver, acumular e tolerar altas concentrações de MP (KÄRENLAMPI *et al.*, 2000; LASAT, 2002). Além disso, a planta deve ter alta taxa de crescimento, ser facilmente colhida, ter alta biomassa e ter sistema radicular profuso (GARBUSU e ALKORTA, 2001).

Várias evidências indicam que alguns microrganismos possuem o potencial de alterar a mobilidade de certos metais, o que causa, conseqüentemente, o aumento do potencial que a raiz tem de absorver os metais contidos no solo (LASAT, 2002). Algumas características estruturais e bioquímicas conferem aos microrganismos condições de sobreviverem na presença de concentrações altas de MP, como por exemplo, paredes celulares impermeáveis a determinados elementos, produção de polissacarídeos extracelulares ou excreção de outros metabólitos que imobilizam o metal potencialmente tóxico (ANDRADE, 2001).

A *Leucaena leucocephala*, conhecida no Brasil como “leucena”, é uma leguminosa (Mimosoideae) originária do México e é encontrada em toda região tropical. Esta espécie possui potencial múltiplo de utilização, sendo empregada como fonte de proteínas para alimentação animal, no reflorestamento de áreas degradadas, para elevar a qualidade físico-química do solo e como meio de controlar plantas infestantes. Além disso, essa espécie possui alta taxa de germinação, facilidade de nodulação e se adapta facilmente em diferentes ambientes (SKERMAN, 1977, citado por PIRES *et al.*, 2001).

## **Matériel e Métodos**

Os experimentos foram desenvolvidos no Centro de Ecofisiologia e Biofísica do IAC e no Departamento de Fisiologia Vegetal da Unicamp.

Foram utilizadas sementes de *Leucena leucocephala* coletadas no campus da UNICAMP.

As plantas foram cultivadas em vasos plásticos (1 litro) com substrato contendo areia lavada e mantidas em casa de vegetação do Departamento de Fisiologia Vegetal da Unicamp, sob

condições fotoperiódicas naturais durante todo o período experimental. Os vasos juntamente com a areia lavada passaram pelo processo de autoclavagem para esterilização.

Foram postas para germinar 10 sementes de leucena diretamente nos vasos, sendo 7 vasos por tratamento. Os vasos serão previamente contaminados com chumbo  $[Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O]$  nas concentrações de 0, 400, 800 e 1600  $\mu M \cdot L^{-1}$ . As sementes de leucena foram previamente escarificadas por imersão em  $H_2SO_4$  por 5 minutos. Após 7 dias, foi realizado o desbaste deixando-se duas plantas por vaso sendo que um grupo de plantas recebeu a aplicação de 2 mL/vaso de uma estirpe de rizóbio previamente selecionada. A partir dessa data as plantas passaram a ser regadas com solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1939) modificada, contendo ou não N mineral.

O desenvolvimento das plantas foi analisado por meio das seguintes medidas de crescimento: altura, número de folhas e de nódulos radiculares, massas seca da parte aérea, das raízes e dos nódulos radiculares. Além disso, foi feita uma determinação da taxa de germinação para as diferentes concentrações de Pb.

O delineamento experimental adotado foi o de blocos ao acaso, utilizando-se seis repetições por tratamento para cada espécie.

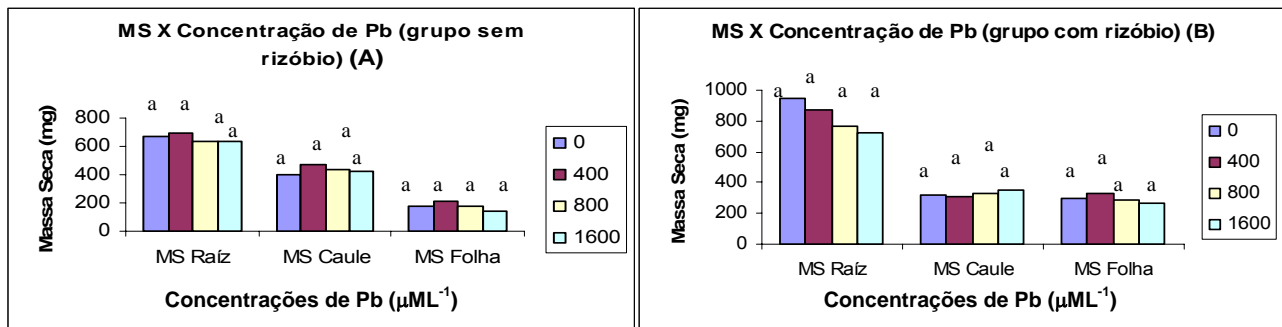
Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, nos resultados significativos, utilizando-se o programa computacional Varpc (SODEK, 1993).

## Resultados

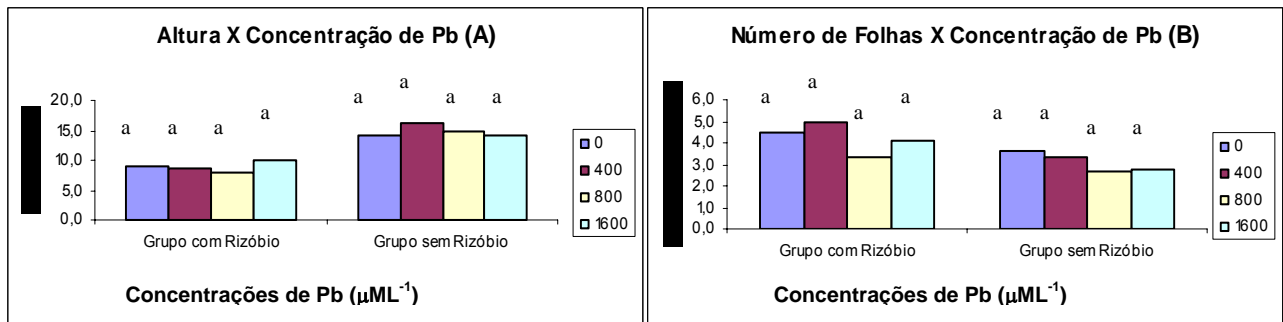
**Tabela 1.** Médias da taxa de germinação (%), de sementes de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit submetidas a diferentes concentrações de chumbo (0, 400, 800 e 1600  $\mu mol \cdot L^{-1}$ ). Letras iguais representam resultados não significativos entre tratamentos, pelo teste de Tukey a 5%.

\* p= proporção de germinação.

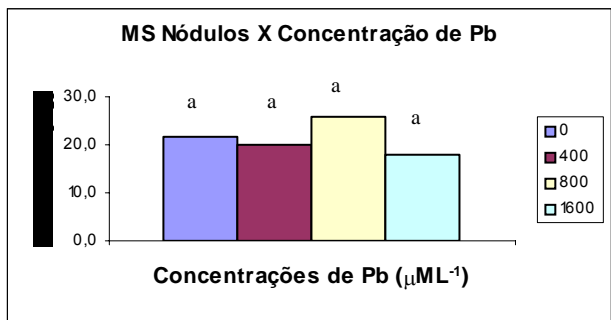
Germinação (arco seno $\sqrt{p^*}$ ) Dias de contagem	Concentração Cd ( $\mu mol \cdot L^{-1}$ )			
	0	400	800	1600
1	15,7 a	15,4 a	8,8 a	11,7 a
2	28,2 a	31,8 a	25,6 a	25,6 a
3	37,0 a	41,6 a	34,9 a	35,5 a
4	39,1 a	45,9 a	40,4 a	39,0 a
5	41,5 a	51,0 a	43,7 a	43,7 a
6	43,4 a	50,5 a	45,0 a	45,8 a
7	44,9 a	51,4 a	46,3 a	47,5 a



**FIGURA 1.** Média da massa seca de plantas crescidas em diferentes concentrações de chumbo (0, 400, 800, 1600 µM L<sup>-1</sup>). (A) Grupo sem aplicação de rizóbio. (B) Grupo com aplicação de rizóbio.



**FIGURA 2.** (A) Média da altura e (B) média do número de folhas de plantas crescidas em diferentes concentrações de chumbo (0, 400, 800, 1600 µM L<sup>-1</sup>).



**FIGURA 3.** Média da massa seca de nódulos de plantas crescidas em diferentes concentrações de chumbo (0, 400, 800, 1600 µM L<sup>-1</sup>).

Não foi observado nenhum tipo de alteração nas plantas de leucena como o atrofiamento das folhas ou escurecimento e mau desenvolvimento das raízes.

Não houve também diferença significativa entre o grupo de plantas que recebeu a aplicação de rizóbio e o grupo que não recebeu.

Em todos os parametros de crescimento observados (germinação, massa seca de raiz, caule, folha e nódulos, altura e número de folhas), após aplicado o teste de Turkey a 5%, não foi constatado nenhum valor estatisticamente diferente.

Análises de proteínas e de Nitrogênio estão sendo realizadas e serão apresentadas no relatório final.

## Conclusão

O Pb não afetou o crescimento e a nodulação das plantas em nenhuma das concentrações aplicadas. As plantas de leucena apresentaram, portanto, tolerância às concentrações utilizadas do metal pesado Pb. Mais estudos devem ser feitos para elucidar a interação do chumbo no desenvolvimento desta espécie.

## Referências Bibliográficas.

ACCIOLY, A.M.A.; SIQUEIRA, J.O. Contaminação química e biorremediação do solo. **Tópicos em Ciência do Solo**, v.1, p.299-351, 2000.

ANDRADE, S.A.L. **Interação de micorriza e chumbo no desenvolvimento da soja e seu efeito na atividade microbiana do solo**. 136p. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular na área de Microbiologia)- Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

CUNNINGHAM, S.D.; ANDERSON, T.A.; SCHWAB, A.P.& HSU, F.C. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. **Advances in Agronomy**, v.56, p.55-114, 1996.

GARBISU, C.; ALKORTA, I. Phytoextraction: a cost effective plant-based technology for the removal of metals from the environment. **Bioresource Technology**, v.77, p.229 – 236, 2001.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. The water culture method growing plants without soil. U. Calif. Agric. Exp. Sta., Califórnia, Circular 347, 1939.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. 2.ed. Boca Raton: CRC Press, 1992.

KÄRENLAMPI, S.; SCHAT, H.; VANGRONSVELD, J.; VERKLEIJ, J.A.C.; LELIE, D.; MERGEAY, M.; TERVAHAUTA, A.I. Genetic engineering in the improvement of plants for phytoremediation of metal polluted soils. **Environmental Pollution**, v.107, p.225-231, 2000.

KHAN, A.G.; KUEK, C.; CHAUDHRY, T.M.; KHOO, C.S.; HAYES, N.J. Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. **Chemosphere**, v.41, p.197-207, 2000.

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

PAIVA, H.N.; CARVALHO, J.G.; SIQUEIRA, J.O. Índice de translocação de nutrientes em mudas de cedro (*Cedrela fissilis* Vell.) e de ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* (Mart.) Standl.) submetidas a doses crescentes de cádmio, níquel e chumbo. **Revista Árvore**, Viçosa, p.26, n.4, p.467-473, 2002.

PIRES, N.M.; SOUZA I.R.P.; PRATE, H.T.; FARIA, T.C.L.; PEREIRA, A.P.; MAGALHÃES, P.C. Efeito do extrato aquoso de leucena sobre o desenvolvimento, índice mitótico e atividade da peroxidase em plântulas de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.13, n.1, p.55-65, 2001.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. **Biologia Vegetal**. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 906 p. ROBINSON, B.; FERNANDEZ, J. E.; MADEJÓN, P.; MARAÑHÓN, T.; MURILLO, J. M.; GREEN, S.; BRENT, C. Phytoextraction: an assessment of biochemical and economic viability. **Plant Soil**, v.249, p.117-125, 2003.

SODEK, L. **Análise de variância (Varpc)**. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 1993.