



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATOLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
MESTRADO EM ECOLOGIA E PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL

MAX VINÍCIUS DE PAULA ABREU

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE NÍQUEL (NI) SOBRE
A GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DE *Leucaena leucocephala*
(Lam.) DE WIT.**

Goiânia
2015

MAX VINÍCIUS DE PAULA ABREU

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE NÍQUEL (NI) SOBRE
A GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DE *Leucaena leucocephala*
(Lam.) DE WIT.**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Ecologia e Produção Sustentável da Pontifícia Universidade Católica de Goiás como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Jales Teixeira Chaves Filho

Goiânia
2015

Dados Internacionais de Catalogação da Publicação (CIP)
(Sistema de Bibliotecas PUC Goiás)

Abreu, Max Vinicius de Paula.
A162i Influência de diferentes concentrações de níquel (ni) sobre a
germinação e crescimento inicial de *Leucaena leucocephala*
(lam.) de wit. [manuscrito] / Max Vinicius de Paula Abreu – 2015.
72 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica de
Goiás, Programa de Mestrado em Ecologia e Produção
Sustentável, 2015.

“Orientador: Prof. Dr. Jales Teixeira Chaves Filho”.
Bibliografia.

1. Leucena. 2. Níquel. 3. Fitorremediação. I. Título.


CDU 632.95.024(043)

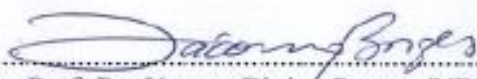
MAX VINÍCIUS DE PAULA ABREU

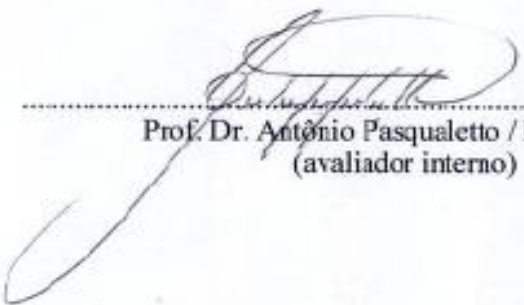
**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE NÍQUEL SOBRE
A GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DE *Leucaena leucocephala*
(Lam.) DE WIT.**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DEFENDIDA E APROVADA EM 27 DE FEVEREIRO DE 2015

BANCA EXAMINADORA


.....
Prof. Dr. Jales Teixeira Chaves Filho / PUC Goiás
(presidente-orientador)


.....
Prof. Dr. Jácomo Divino Borges / UFG
(avaliador externo)


.....
Prof. Dr. Antônio Pasqualetto / PUC Goiás
(avaliador interno)

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação aos meus pais Marcos Cabral de Abreu e Shirleny Maria de Paula; ao meu falecido irmão Lucas Vinícius de Paula; aos meus avós que se foram e os que ainda estão na terra; aos meus tios, meus primos, meus amigos e à minha querida e amada Naiara Monique que tanto me dá forças para continuar seguindo em frente.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás – FAPEG, pela concessão de bolsa de estudos, pois sem ela não seria possível estar concluindo mais esta etapa tão importante em minha vida.

Ao programa de Mestrado em Ecologia e Produção Sustentável – MEPS da PUC-Goiás e a todo seu quadro de docentes, pelo carinho e atenção direcionadas à minha pessoa, em especial ao meu orientador Dr. Jales Teixeira Chaves Filho que se tornou um verdadeiro amigo, me repassando sempre um pouco do seu vasto conhecimento, não somente sobre a ciência da botânica, mas sim, sobre o conhecimento da vida, sendo sempre uma pessoa muito carinhosa e atenciosa. Um exemplo de profissional dedicado e competente que ama o que faz, sempre repassando seu conhecimento a diante, até mesmo durante o caminho a congressos e em mesas de restaurantes. Uma pessoa de conhecimento invejável que tive a honra de conhecer melhor e terei orgulho em recordá-lo pelo resto de minha vida. Agradeço cada segundo do seu tempo destinado a mim professor, muito obrigado!!

Aos queridos professores do curso de Biologia da PUC Goiás e dos demais departamentos que colaboraram efetivamente para que eu chegasse até aqui, em especial aos professores Henrique Labaig, Gitair Moreira, Roberto Malheiros, Vilma Sousa, José Wellington e Peixoto da Cruz.

Aos colegas de trabalho da Agência Municipal de Meio Ambiente de Goiânia e da Secretaria de Meio Ambiente de Goianira, em especial à atual secretária Nilda Jacinto, pela compreensão, apoio e incentivo para que eu concluísse este mestrado. Por fim, aos colegas de mestrado e à equipe de estagiários do Laboratório de Biologia Vegetal da PUC-Goiás, em especial aos graduandos Gabriel Lucas, Fausto Dias, Lucas França e Gustavo Ribeiro que tanto colaboraram com a execução dos experimentos. Muito obrigado à todos!!

“É melhor atirar-se à luta em busca de dias melhores, mesmo correndo o risco de perder tudo, do que permanecer estático, como os pobres de espírito, que não lutam, mas também não vencem, que não conhecem a dor da derrota, nem a glória de ressurgir dos escombros. Esses pobres de espírito, ao final de sua jornada na Terra não agradecem a Deus por terem vivido, mas desculpam-se perante Ele, por terem apenas passado pela vida.”

Bob Marley

RESUMO

O objetivo deste estudo foi investigar e avaliar a influência de diferentes concentrações de níquel sobre a germinação e crescimento inicial de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit., visando sua utilização em projetos de recuperação de áreas contaminadas. Foram definidos cinco tratamentos em relação às concentrações de níquel: A-0 mg.L⁻¹ (controle); B-40 mg.L⁻¹, C-80 mg.L⁻¹, D-120 mg.L⁻¹ e E-200 mg.L⁻¹. Cada tratamento teve dez repetições, onde cada unidade experimental foi considerada como sendo um recipiente plástico (350 mL) contendo dois discos de papel de filtro e vinte sementes escarificadas da espécie. Cada recipiente recebeu 10 mL de solução de nitrato de níquel (Ni(NO₃)₂) de acordo com a respectiva concentração e foram colocados em bancada do laboratório de Biologia Vegetal da PUC-Goiás até a coleta dos dados referentes à germinação e crescimento inicial. As diferentes concentrações contendo níquel foram obtidas pela diluição de uma solução estoque padronizada (100,0 mg.L⁻¹ utilizando (Ni(NO₃)₂). Para verificar o efeito do níquel sobre o crescimento das mudas de *L. leucocephala* foi conduzido um segundo experimento utilizando plantas com 120 dias após a germinação. Para isso, foi realizada a produção de 80 mudas em 40 sacos plásticos (20x15 cm) contendo uma mistura de areia e substrato orgânico (1:1), com duas mudas em cada saco plástico. As mudas permaneceram no viveiro do Laboratório de Biologia Vegetal da PUC-Goiás por um período de 180 dias e receberam água periodicamente e solução nutritiva completa de Hoagland quinzenalmente. Foram definidos quatro tratamentos em relação às concentrações de níquel: A-0 mg.L⁻¹ (controle); B-100 mg.L⁻¹, C-200 mg.L⁻¹ e E-400 mg.L⁻¹, sendo 10 repetições para cada tratamento. Os dados foram analisados através do teste de ANOVA e de Tukey ao nível de 5% de significância. Os resultados demonstraram que a germinação e crescimento inicial das plantas de *L. leucocephala* não foram afetadas significativamente pelas diferentes concentrações de níquel, revelando que a espécie em estudo possui considerável resistência a este metal pesado sem que haja danos à sua fisiologia e desenvolvimento, tornando promissor o seu emprego na recuperação de áreas contaminadas por este elemento e criando alternativa sustentável para remediação dessas áreas através da fitorremediação.

Palavras chave: *Leucaena leucocephala*, Fitorremediação, Metais pesados, Níquel, Crescimento.

ABSTRACT

The objective of this study was to investigate and evaluate the influence of different nickel concentrations on germination and initial growth of *Leucaena leucocephala* (Lam.) the Wit., aiming its use in restoration projects of contaminated areas. Initially defined five treatments for nickel concentrations, A-0 mg.L⁻¹(control), B-40 mg.L⁻¹, C-80 mg.L⁻¹, D-120 mg.L⁻¹e E-200 mg.L⁻¹. Each treatment had ten repetitions, where each experimental unit was considered as a plastic container (350 ML) containing, two filter paper discs and twenty scarified seeds of the species. Each recipient received 10 ML of nickel nitrate solution (Ni(NO₃)₂) according to its concentration and then were placed in a bench of plant Biology Laboratory at PUC-Goiás, until the collection of data on germination and early growth. The nickel containing different concentrations were obtained by diluting a standard stock solution (100.0 mg L⁻¹) using (Ni(NO₃)₂). To verify the effect of nickel on the growth of *L. leucocephala* seedlings was mounted a second experiment using plants with 120 days after germination. For this, was performed the production of 80 seedlings in 40 plastic bags (20x15 cm) containing a mixture of sand and organic substrate (1.1), 2 seedlings being allocated in each plastic bag. The seedlings remain in the nursery of the Plant Biology Laboratory at PUC-Goiás for a period of 180 days and periodically received water and nutrient solution complete of Hoagland Fortnightly. Four treatments were set for nickel concentrations, A-0 mg.L⁻¹ (control), B-100 mg.L⁻¹ C-200 mg.L⁻¹,D-400 mg.L⁻¹, with 10 replicates for each treatment. The data were analyzed using ANOVA and Tukey at 5% significance level. The results showed that the germination and initial growth of *L. leucocephala* plants was not significantly affected by different concentrations of nickel, revealing that the species under study has considerable tolerance to this Heavy Metal without damage to their physiology and development, making promising its use in the recovery of areas contaminated by this element and creating sustainable alternative for remediation of these areas though Phytoremediation.

Keywords: *Leucaena leucocephala*, Phytoremediation, Heavy Metals, Nickel, Growth.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	10
1. REFERENCIAL TEÓRICO	13
1.1. ÁREAS CONTAMINADAS.....	13
1.1.1. Poluição ambiental por metais pesados	13
1.1.2. Contaminação do solo por metais pesados	14
1.2. METAIS PESADOS	15
1.2.1. Definição e características	15
1.2.2. Efeito dos metais pesados sobre a saúde humana	16
1.2.3. Efeito dos metais pesados em plantas	17
1.2.3. Efeito do níquel em plantas	18
1.3. REMEDIAÇÃO DE ÁREAS CONTAMINADAS	19
1.3.1. Técnicas de remediação.....	19
1.3.2. Fitorremediação	20
1.3.3. Uso de espécies arbóreas na fitorremediação.....	22
1.3.4. A espécie em estudo: <i>Leucaena leucocephala</i> (Lam.) de Wit.	23
2. MATERIAL E MÉTODOS	25
2.1. MATERIAL VEGETAL	25
2.2. INSTALAÇÃO DOS EXPERIMENTOS	26
2.2.1. Instalação do Experimento I	26
2.2.2. Instalação do Experimento II	27
2.3. COLETA DE DADOS.....	28
2.3.1. Experimento I.....	28
2.3.2. Experimento II.....	29
2.3.2.1. Estudo do efeito do níquel sobre o crescimento das mudas.....	29
2.3.2.2. Matéria seca	30
2.3.2.3. Substrato	32
2.4. ANÁLISE DE DADOS	33
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
3.1. GERMINAÇÃO	34
3.2. ALTURA.....	42
3.3. DIÂMETRO DO CAULE.....	45
3.4. NÚMERO DE FOLHAS.....	49
3.5. PESO SECO DA PARTE AÉREA.....	51
3.6. PESO SECO DA RAIZ.....	53
3.7. SUBSTRATO.....	55
CONCLUSÃO	60
REFERÊNCIAS	61

INTRODUÇÃO

A civilização humana, em sua busca histórica de crescimento, desenvolvimento e aprimoramento tecnológico, acarreta impactos diferenciados sobre o meio natural, quando comparada às demais populações naturais. Sobretudo a partir da revolução industrial, no século XIX, até os dias atuais, o desenvolvimento exponencial de novos processos produtivos deu início a uma nova era de desafios ambientais dele decorrentes (PESSOA, 2010).

O alarmante crescimento populacional, aliado à exploração indiscriminada dos recursos naturais e à geração e manejo inadequado de resíduos, vem tornando a atividade antropogênica extremamente impactante ao ambiente, o que caracteriza um modelo de desenvolvimento insustentável (MONTEIRO, 2008).

Dentre as atividades antrópicas mais danosas ao meio ambiente, a atividade industrial através do descarte de substâncias químicas exerce a função de principal vilã da contaminação do solo, da água e do ar, resultando na poluição ambiental. Entretanto, outras atividades como a agrícola, a mineração e o lançamento de esgoto doméstico inadequado em corpos hídricos participam ativamente do processo de contaminação e degradação ambiental (MONTEIRO, 2008).

A mineração promove a degradação do meio físico, de escalas pontuais até escalas regionais. A exploração de minerais leva a supressão da vegetação, altera drasticamente a paisagem e perturba totalmente o ecossistema, causando a contaminação dos ambientes por metais pesados (GARDNER, 2001).

Os metais pesados são elementos que ocorrem naturalmente no solo, sendo que alguns deles são essenciais para várias funções fisiológicas nos seres vivos, como o cobre (Cu), níquel (Ni), cromo (Cr), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn). Entretanto, quando ocorrem em elevadas concentrações, podem causar danos ao ambiente e à cadeia alimentar. A existência de contaminação do solo por metais pesados em mineradoras, muitas delas desativadas, pode ser fonte de risco para a saúde de quem vive em seu entorno, pois, dependendo do tipo de contaminante, o material poderá percolar

para o aquífero subterrâneo contaminando fontes de abastecimento de água (ZEITOUNI, 2003).

Conseqüentemente, os metais vão se acumulando no organismo por exposição crônica aos mesmos e causando uma enorme variedade de sintomas, podendo ter uma influência direta em alterações do comportamento por diminuição das funções cerebrais, influenciando na produção e utilização dos neurotransmissores, além de alterar os processos metabólicos (NASCIMENTO; XING, 2006). Também são suscetíveis à exposição destes tóxicos os sistemas gastrintestinal, neurológico, cardiovascular e urológico, causando uma disfunção dos mesmos. Sabe-se que quantidades diminutas de determinados metais tóxicos já causam efeitos deletérios, porém, estes efeitos variam com o modo, a quantidade e o grau da exposição, com o estado nutricional, o metabolismo individual e a capacidade de desintoxicação (MEIRELLES, 2004).

Para a recuperação de solos contaminados por metais pesados, é necessária a adoção de técnicas que amenizem a biodisponibilidade dos metais no ambiente (ACCIOLY; SIQUEIRA, 2000) e o emprego de espécies tolerantes à contaminação capazes de sobreviver e completar o seu ciclo de vida (SHAW, 1989).

Segundo Cunningham et al. (1996), técnicas de biorremediação podem promover a descontaminação, ainda que parcial, de uma área (técnicas de tratamento) ou isolar o material contaminado de forma a evitar a dispersão dos poluentes (técnicas de confinamento). Dentro deste contexto, a biotecnologia oferece a fitorremediação como alternativa capaz de empregar sistemas vegetais fotossintetizantes e sua microbiota com o fim de desintoxicar ambientes degradados ou poluídos.

A fitorremediação oferece várias vantagens que devem ser levadas em consideração, onde grandes áreas podem ser tratadas de diversas maneiras, a baixo custo, com possibilidades de remediar águas contaminadas, o solo e subsolo e, ao mesmo tempo, embelezar o ambiente. Entretanto, o tempo para se obter resultados satisfatório pode ser longo (CUNNINGHAM et al., 1996).

Na fitorremediação, as plantas auxiliam removendo, contendo, transferindo, estabilizando e tornando inofensivos os metais pesados presentes

no solo. A fitoextração emprega plantas hiperacumuladoras para remover os metais do solo pela absorção e acúmulo nas raízes e na parte aérea, que poderão ser posteriormente dispostas em aterros sanitários ou recicladas para a recuperação do metal (KHAN et al., 2000).

A absorção de metais pesados pelas plantas varia de acordo com a espécie vegetal e entre as diferentes partes da planta, absorvendo pelas raízes, íons tóxicos de metais pesados, particularmente Cd, Pb, Cu, Hg, Zn e Ni, que se acumulam em suas células (MOHR; SCHOPFER, 1995).

As espécies reconhecidamente tolerantes e hiperacumuladoras de Ni pertencem às famílias: Boraginaceae, Cruciferae, Myrtaceae, Mimosaceae e Caryophyllaceae (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 1992).

A espécie *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. está entre as espécies da família Mimosaceae de rápido crescimento, fixadoras de nitrogênio, que têm despontado como alternativa promissora (FRANCO; FARIA, 1997; RESENDE; KONDO, 2001) para a recuperação da cobertura vegetal e reabilitação de áreas degradadas, uma vez que apresenta simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio, melhorando a fertilidade dos solos.

Portanto, o objetivo deste estudo foi investigar e avaliar a influência de diferentes concentrações do metal pesado níquel sobre a germinação e crescimento inicial de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit., visando sua utilização em projetos de recuperação de áreas contaminadas, criando alternativa sustentável para o tratamento de áreas contaminadas por este elemento.

1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 ÁREAS CONTAMINADAS

1.1.1 Poluição ambiental por metais pesados

De acordo com Patricio (2009), a dimensão ambiental deve constituir uma variável essencial no planejamento do desenvolvimento humano na terra. A utilização inadequada dos recursos naturais viola os ecossistemas, prejudicando ou mesmo destruindo sua capacidade de auto-regulação e renovação, resultando em progressiva redução da biodiversidade, degradação ambiental e, enfim, das condições de vida.

A contaminação do ambiente por metais pesados não se mostra um evento recente. Segundo Baird (2002), na época dos romanos, foram escavados minérios para a extração de metais, cujos resíduos da extração contaminaram o território ao redor da mina. Com isso, observa-se que além do perigo da atividade realizada ser desconhecido, havia muito menos a preocupação com a contaminação, causando problemas para a saúde humana e o ambiente (FIEMG, 2012).

Uma área contaminada pode ser definida como um local ou terreno onde é comprovada a poluição ou a contaminação causada pela introdução de quaisquer substâncias ou resíduos que foram depositados, enterrados, armazenados ou infiltrados de uma forma planejada, natural ou acidental (CETESB, 2007)

Atualmente, a contaminação por metais pesados tem sido considerada um dos mais sérios problemas ambientais. As fontes antrópicas são as principais responsáveis pela contaminação ambiental, principalmente em detrimento do crescimento populacional (SOARES, 2004), associado diretamente com o crescimento das atividades industriais e de mineração.

As atividades de extração mineral são de grande relevância para o produto interno bruto do Brasil, porém, as principais consequências causadas por esse setor são as perdas da biodiversidade, a perda da fertilidade natural do solo e a interferência nos recursos hídricos (PATRICIO, 2009).

Nesse sentido, conforme relata Gardner (2001), a exploração mineral acarreta a destruição de toda a vegetação, altera drasticamente as condições edáficas, a paisagem e perturba totalmente o ecossistema, podendo causar ainda consequências fora de sua área de ação, sobretudo pela descarga de resíduos contaminados e químicos.

1.1.2 Contaminação do solo por metais pesados

O solo possui grande capacidade de retenção de metais pesados, porém, se esta capacidade for ultrapassada, os metais alterarão sua disponibilidade para o meio. Assim, os mesmos penetram na cadeia alimentar dos organismos vivos ou podem ser lixiviados, colocando em risco a qualidade dos sistemas aquáticos adjacentes e as águas subterrâneas (CAMPOS et al., 2007; TAVARES & CARVALHO, 1992).

Para Bissani et al. (2003), a contaminação do solo por metais pesados é extremamente perniciosa por serem estes altamente persistentes no ambiente. Ao contrário da maioria dos contaminantes orgânicos, os metais não podem ser degradados ou prontamente destoxificados pelos seres vivos, tornando, assim, um agravante problema de poluição, ao longo do tempo.

Segundo Guilherme (1999) e Chang et al. (1994), os metais considerados importantes poluentes ambientais são: As, Bi, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Sb e Zn, sendo os elementos Cd, Cu, Zn e Pb, os mais perigosos, devido à toxicidade e ao seu potencial de acumulação no solo.

Esses poluentes ou contaminantes podem ser transportados propagando-se tanto pelo ar quanto pelo próprio solo, pelas águas subterrâneas e superficiais, alterando as características naturais e determinando impactos negativos e com riscos, localizados na área em si ou em seus arredores (CETESB, 1999).

De acordo com Borges (2007), os metais pesados são considerados uma grande fonte de contaminação dos solos porque são elementos estáveis no ambiente, não podendo ser degradados. Desta forma, os estudos têm se concentrado no acúmulo dos mesmos no solo.

1.2 METAIS PESADOS

1.2.1 Definição e características

Segundo Tavares (2009), o termo metal pesado é aplicado a um grupo heterogêneo de elementos, incluindo metais, ametais e semi-metais. Muitas vezes são utilizados alguns sinônimos, como elementos-traço ou metais-traço, que não são adequados, visto que o quantitativo traço na química analítica quantitativa é reservado para designar concentrações ou teores de quaisquer elementos que não podem, por serem muito baixos, serem quantificados pelos métodos empregados na sua determinação.

A característica principal destes elementos é de possuírem peso específico maior do que 6 g cm^{-3} (alguns autores aceitam 5 g cm^{-3}) ou número atômico maior do que 20 (ALLOWAY, 1995). Segundo Garcia et al. (1990), considera-se que $4,5 \text{ g cm}^{-3}$ é a densidade mínima para que um elemento seja considerado metal pesado. Genericamente, atribui-se a denominação de metal pesado a todo e qualquer elemento tóxico às plantas e animais, incorrendo-se no erro de considerar como metal o As (semi-metal), o F e o Se (ametais), e o Al (metal leve).

Alguns metais pesados são nutrientes essenciais aos vegetais e, como são absorvidos na nutrição vegetal em pequenas quantidades, são chamados de micronutrientes (Cu, Fe, Mn, Zn), outros são benéficos ao crescimento das plantas (Co e Ni) e outros não são essenciais ou não apresentam função biológica, causando toxicidade em concentrações que excedem a tolerância das plantas e, não causando deficiência em baixas concentrações, como os macronutrientes (As, Hg, Pu, Sb, Ti e U) (TAVARES, 2009).

De acordo com Alloway & Ayers (1996), esses elementos encontram-se distribuídos por toda a natureza e apresentam uma variedade de papéis nos sistemas biológicos, variando de reguladores de processos biológicos até importantes componentes da estrutura das proteínas. Uma importante característica biológica é que todos esses metais têm potencial para tornarem-se tóxicos quando alcançam valores acima das concentrações limites.

1.2.2 Efeito dos metais pesados sobre a saúde humana

A exposição humana aos metais tóxicos pelo meio ambiente aumentou drasticamente nos últimos 50 anos. Dentre os metais que podem causar danos à saúde humana pode-se destacar o alumínio (Al), bário (Ba), chumbo (Pb), cádmio (Cd), mercúrio (Hg), crômio (Cr), manganês (Mn) e níquel (Ni); estes metais podem ser obtidos por diversas fontes antrópicas (SALGADO,1996; ZEITOUNI et al., 2007).

Segundo Santos & Rodella (2007), os efeitos tóxicos dos metais no ser humano sempre foram considerados como eventos de curto prazo, agudos e evidentes, como a anúria e adiarrréia sanguinolenta, decorrentes da ingestão de mercúrio. Atualmente, ocorrências a médio e longo prazos são observadas, e as relações causa-efeito são pouco evidentes e quase sempre subclínicas. Geralmente, esses efeitos são difíceis de serem distinguidos e perdem em especificidade, pois podem ser provocados por outras substâncias tóxicas ou por interações entre esses agentes químicos.

Os riscos dependem muito das características e concentrações dos contaminantes existentes na área, podendo ser nomeados como agudos, iminentes ou crônicos. No caso de risco agudo, a exposição a altas concentrações de contaminantes pode provocar danos à saúde e ao meio ambiente. Situações de risco crônico, ou seja, com exposição a baixas concentrações, podem provocar danos à saúde, mas somente nos casos de longo período de exposição. Já no risco iminente há elevada probabilidade de acontecer graves danos à saúde (CETESB, 2007).

De acordo com pesquisas da Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC, 2014), os metais pesados são importantes responsáveis por desencadear doenças relacionadas ao câncer. O níquel, por exemplo, pode causar câncer nos pulmões, na cavidade nasal e nos seios paranasais nos casos de exposição crônica a este elemento. Em casos de elevada exposição (aguda), o contato do níquel com a pele pode ocasionar dermatite e má formação de fetos, como a anencefalia. Alguns trabalhadores que beberam, acidentalmente, água que continha 250 mg.L^{-1} de níquel sofreram de dores de

estômago, aumento das células vermelhas no sangue e um problema nos rins que causou o aumento de proteína na urina.

1.2.3 Efeito dos metais pesados em plantas

De acordo com Santos et al. (2006), algumas plantas, assim como outros organismos vivos, desenvolveram um complexo mecanismo de homeostase para minimizar os efeitos deletérios de metais pesados, controlando a absorção, acumulação e translocação de metais pesados no tecido vegetal. Esses mecanismos protegem a célula evitando o acúmulo de íons livres em excesso no citossol, resultando na tolerância de plantas a metais pesados.

Vários dos metais pesados são englobados na categoria de micronutrientes essenciais para os vegetais e, portanto, são naturalmente retirados do solo por sistemas específicos de extração. Porém, quando em altas concentrações, os metais pesados também podem ser absorvidos pelas células vegetais por transportadores não-específicos (HALL, 2002).

Os metais pesados não essenciais, quando em altas concentrações, incorporam-se aos vegetais, superando os valores de controle osmótico e difusão passiva (HALL & WILLIAMS 2003), interferindo nos processos bioquímicos indispensáveis, por meio da alteração de estruturas tridimensionais de proteínas, e substituindo outros elementos vitais em estruturas orgânicas, o que compromete os processos metabólicos.

Segundo Cledes (2006), um dos principais efeitos de elevadas concentrações de metais pesados que podem causar nos tecidos das plantas é o estímulo na produção de radicais livres, levando ao estresse oxidativo (Foyer et al., 1997). Outros efeitos são: inibição do crescimento da planta, clorose das folhas, desbalanço hídrico e comprometimento da fotossíntese.

1.2.4 Efeito do níquel em plantas

O níquel (Ni) encontra-se entre os metais pesados mais comuns em

solos. Estima-se que, em todo o mundo, anualmente são adicionadas aos solos 106 mil a 544 mil toneladas de Ni, com origem nas atividades metalúrgicas, na combustão de combustíveis fósseis e na adição de lodo de esgoto e de compostos industriais (NRIAGU & PACYNA, 1988).

De acordo com Dixon et al. (1975), o Ni costumava ser classificado como não essencial ou tóxico para as plantas. Entretanto, o trabalho com a pecã e com outras culturas mostrou que ele satisfaz o critério indireto de essencialidade proposto por Arnon & Stout (1939). Ele preenche também o critério direto: a urease é uma metaloenzima ubíqua contendo Ni.

Para Eskew et al. (1983, 1984) o Ni deve ser incluído na lista de micronutrientes. Brown et al. (1987) relata que, em ensaios de campo feitos na Inglaterra com trigo, batata e vagens, foram obtidos aumentos na produção graças à aplicação de Ni em pulverizações. Anteriormente, Arnon (1937), em um experimento no qual cultivou cevada em solução nutritiva, verificou maior produção de massa seca na presença de cromo (Cr), molibdênio (Mo) e níquel (Ni) quando a fonte de nitrogênio (N) era o sulfato de amônia.

Dos elementos atualmente considerados micronutrientes, o níquel (Ni) foi o último a ter sua essencialidade comprovada. Sua única função reconhecida está relacionada com a atividade da urease, apresentando intervalo muito estreito entre os níveis críticos e tóxicos (MACEDO & LAVRES JR, 2012).

Segundo Mishra & Kar (1974), os sintomas de toxidez se desenvolvem quando níveis excessivos são absorvidos. Esses sintomas incluem clorose, crescimento reduzido das raízes e da parte aérea, deformação de várias partes da planta e manchas peculiares nas folhas. As plantas variam em sua sensibilidade ao excesso e os níveis tóxicos estão comumente na faixa de 25 a 50 mg kg⁻¹.

Os sintomas de toxidez de Ni ainda não estão bem definidos para os estádios iniciais de toxicidade, porém, nos estádios moderados e agudos, a toxidez produz clorose, geralmente semelhante aos sintomas de deficiência de Fe. Nos cereais as cloroses são brancas ou amarelo-claras, podendo se apresentar na forma de estrias nas folhas. Nas dicotiledôneas, aparecem manchas cloróticas entre as nervuras das folhas, semelhantemente à

deficiência de Mg (ARNON, 1937).

Para Krupa et al. (1993), a fitotoxicidade do Ni é resultado de sua ação no fotossistema, causando distúrbios no ciclo de Calvin e inibição do transporte elétrico por causa das quantidades excessivas de ATP e NADPH acumuladas pela ineficiência das reações bioquímicas.

1.3 REMEDIAÇÃO DE ÁREAS CONTAMINADAS

1.3.1 Técnicas de remediação

Segundo Dinardi et al. (2003), a estimativa mundial para os gastos anuais com a despoluição ambiental gira em torno de 25-30 bilhões de dólares. Este mercado, que já é estável nos Estados Unidos (7-8 bilhões), tende a crescer no Brasil, uma vez que os investimentos para tratamento dos rejeitos humanos, agrícola e industrial crescem à medida que aumentam as exigências da sociedade e leis mais rígidas são aplicadas.

A remediação de áreas contaminadas pode ser feita através de vários métodos, como escavação, incineração, extração com solvente, óxido-redução e outros que são bastante dispendiosos. Alguns processos deslocam a matéria contaminada para local distante, causando riscos de contaminação secundária e aumentando, ainda mais, os custos com tratamento (CUNNINGHAM et al., 1996).

De acordo com Mulligan et al. (2001), diversos procedimentos de descontaminação ou de estabilização de metais no solo são conhecidos, sendo que, a escolha de uma combinação deles para determinado sítio deve levar em consideração, além da dimensão do impacto provocado pelo contaminante no ecossistema, a viabilidade econômica do processo de remediação

O processo de remediação de solos contaminados se refere à redução dos teores de contaminantes a níveis seguros e compatíveis com a proteção à saúde humana, seja impedindo ou dificultando a disseminação de substâncias nocivas ao ambiente. Atualmente em todo o mundo, a tendência é de dar preferência às técnicas de remediação *in situ*, por apresentarem baixos custos e não provocarem contaminações secundárias, fato observado na remediação

ex situ, já que ocorre o transporte do material contaminado até o sítio de tratamento (TAVARES, 2009).

Desta forma, em anos recentes passou-se a dar preferência por métodos *in situ* que perturbem menos o ambiente e que sejam mais econômicos. Apesar das pressões, são as tecnologias mais baratas com capacidade de atender uma maior demanda e que apresentam mais capacidade de desenvolvimento que tendem a obter maior sucesso no futuro (DINARDI et al., 2003).

1.3.2 Fitorremediação

A fitorremediação pode ser definida como a utilização de plantas na remoção ou destoxificação de poluentes de uma determinada área (CUNNINGHAM & BERTI, 1993; RASKIN et al., 1994). A idéia de se utilizar vegetais para limpeza de um habitat é antiga e não pode ser associada a alguma data específica, mas, nos últimos anos, tem ganhando mais força, por estar relacionada ao paradigma atual de sustentabilidade e ser um processo de reduzido impacto ambiental. Atualmente, a fitorremediação pode ser dividida em cinco áreas distintas de especialização: fitoextração, fitodegradação, fitoestabilização, fitovolatilização e rizofiltração (SALT et al., 1998; PULFORD & WATSON, 2003).

A fitoextração se vale da estratégia de utilização de plantas acumuladoras de poluentes para removê-los do solo e concentrá-los nas partes aéreas dos vegetais. Essa tecnologia recente tem sido considerada especialmente atrativa para implementar a remoção de metais pesados (e se baseia nas características genéticas e fisiológicas de plantas em acumular, translocar e resistir a grandes quantidades de poluentes tóxicos. É interessante destacar que uma planta fitoextratora ideal deve possuir as características de rápido crescimento, grande produção de biomassa, alta resistência aos poluentes e alta capacidade de sua absorção, transporte e acumulação nas partes aéreas (KUMAR et al., 1995).

A fitodegradação consiste na estratégia de degradar poluentes orgânicos

presentes no solo, por meio de plantas associadas a microrganismos capazes de implementa essa deterioração. Tem-se, ainda, a fitovolatização, que é uma tecnologia que pretende volatilizar para a atmosfera compostos presentes no solo, mediante o uso de plantas (KRÄMER, 2005).

A rizofiltração é a estratégia de remoção, adsorção, absorção, concentração ou precipitação de poluentes, especialmente metais pesados, de ambientes aquosos, mediante sistemas radiculares de plantas. Um vegetal rizofiltrador ideal deve possuir as características de rápido crescimento e desenvolvimento do sistema radicular, alta tolerância aos poluentes e persistência na habilidade de filtração por longos períodos (SALT et al., 1995).

Ainda de acordo com Salt et al. (1995), entre as estratégias de fitorremediação, a fitoestabilização consiste no uso de plantas visando estabilizar os poluentes no solo e pode ser muito útil também para prevenir perdas de nutrientes e metais pesados por erosão ou lixiviação. A fitoestabilização, compreende-se a estratégia de redução da mobilidade ou disponibilidade ambiental de determinados poluentes, mediante a utilização de plantas e suas associações com microrganismos, seja por imobilização propriamente dita ou por prevenção de migração.

Entre os vegetais, as espécies arbóreas são frequentemente associadas à estratégia de fitoestabilização, sendo que a localização de metais nas raízes e a baixa translocação para a parte aérea têm sido relatadas como mecanismos de resistência de espécies arbóreas a metais pesados (PULFORD; WATSON, 2003).

As árvores tendem a reduzir a lixiviação, controlar a erosão e adicionar matéria orgânica ao solo, o que pode levar à complexação dos metais pesados. Por outro lado, as árvores também podem acidificar o solo e produzir matéria orgânica solúvel podendo causar a lixiviação de metais. Diante disso, é importante a seleção de espécies arbóreas que causem baixa acidificação do solo e não transloquem elevadas quantidades de metais pesados para suas folhas (HUANG & CUNNINGHAM, 1996).

1.3.3 Uso de espécies arbóreas na fitorremediação

De acordo com Graziotti et al. (2003), as árvores, por produzirem maior biomassa e acumularem maior quantidade de metais que permanecem imobilizados por mais tempo, são de grande interesse em revegetação de áreas contaminadas.

Para Andrade (2005), o uso de plantas de porte arbóreo e arbustivo é bem menos comum na fitorremediação e traz a necessidade de maiores cuidados e preocupação ambiental. Apesar disto, vem sendo gradativamente ampliado, pois se emprega a várias práticas de recuperação ambiental.

No caso de espécies arbóreas, o conhecimento dos padrões de absorção, translocação e acúmulo de íons metálicos, os limites de tolerância e os sintomas de fitotoxicidade permitem o desenvolvimento de tecnologias para a fitorremediação de áreas contaminadas por metais pesados (KAHLE, 1993).

Segundo Dickinson & Lepp (1997), o desenvolvimento de espécies arbóreas pode induzir várias mudanças nas características do solo, representando importante papel na ciclagem e fracionamento de metais pesados, devido à produção de liteira, exsudados radiculares e, ou, absorção e imobilização na planta, principalmente no sistema radicular. O maior acúmulo de metais pesados nas raízes e a baixa translocação para a parte aérea são os principais mecanismos de tolerância das espécies arbóreas.

O excesso de metais pesados exerce efeitos deletérios sobre a estrutura e as funções das raízes, reduzindo o crescimento ou até causando necrose das raízes absorventes (SOARES et al., 2000, 2001). A alta retenção dos metais nas raízes demonstra que estas são o primeiro alvo da toxicidade dos metais e, portanto, exercem um papel determinante na adaptação das espécies não tolerantes à contaminação do solo por estes elementos (ARDUINI et al., 1996).

Sendo assim, a estabilidade genética da tolerância de espécies arbóreas a metais pesados é questionável, pois esta pode ser induzida ou perdida pelas plantas, sendo que a aclimatação das árvores no ambiente contaminado é de fundamental importância e pode ser um fator decisivo no seu desenvolvimento em solos contaminados (PULFORD & WATSON, 2003).

1.3.4 A espécie em estudo: *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit.

A espécie *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. (leucena) é uma Mimosaceae perene, originária da América Central (México) mas amplamente distribuída pela América do Sul e Ilhas do Pacífico. Há relatos que a espécie foi encontrada na China colonizando naturalmente locais com resíduos minerais (Pb e Zn) (Ma et al., 2003).

A leucena apresenta flores brancas, agrupadas em uma cabeça globular, sementes elípticas, compridas e marrom-brilhante, sendo tolerante à acidez e não tolerante a solos úmidos. Possui pouca resistência ao frio e tem crescimento inicial lento, mas apresenta boa rebrota. Ela apresenta, ainda, alta taxa de germinação, crescimento rápido, facilidade de nodulação e rápido crescimento do sistema radicular (CORDEIRO & SALATINO, 1995).

De acordo com Parrota (1992), a *L. leucocephala* é uma das leguminosas arbóreas mais cultivadas no mundo, pois se adapta a diversos tipos de solos, sendo tolerante à seca e à temperatura variável (16 a 32 °C). Além de ser utilizada para melhoria dos solos, é aproveitada com diferentes propósitos, incluindo a produção de madeira, lenha, forragem e adubo orgânico, freqüentemente utilizada em sistemas agroflorestais.

A leucena tem sido amplamente cultivada devido à ampla gama de usos que se faz da espécie. Porém, há diversos estudos atribuindo à leucena a característica de planta invasora em diversas regiões do mundo, que levaram à sua inclusão na lista das 100 espécies invasoras mais agressivas do planeta, elaborada pela União Mundial para a Conservação da Natureza – IUCN (IHDCA, 2008).

Entretanto, o conceito de espécie invasora tem sido amplamente discutido na literatura (RICHARDSON et al., 2000; DAEHLER, 2001; DAVIS & THOMPSON, 2001; REJMÁNEK, 2002), sem que haja consenso.

Em regra geral, aceita-se que seja enquadrada como invasora uma espécie cuja população se expanda sobre ecossistemas nos quais não ocorre naturalmente, reduzindo a abundância ou deslocando espécies nativas, podendo, inclusive, alterar o funcionamento do ecossistema natural (SCHOFIELD, 1989; VITOUSEK, 1986).

Todavia, há poucos estudos científicos voltados para a elucidação do processo de invasão pela leucena e não existem evidências científicas de que a espécie prolifere em ecossistemas naturais. Além disso, alguns ambientes são mais propícios à invasão e a invasibilidade de uma espécie pode ser variável entre ambientes e regiões, devendo ser tratada como fenômeno biogeográfico e não taxonômico (COLLAUTTI & MACISAAC, 2004).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL VEGETAL

Para a análise da germinação e produção das mudas de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit., foram utilizadas sementes coletadas em plantas situadas nas margens do córrego Botafogo, na Avenida Marginal Botafogo (Figura 01), em frente ao Parque Botafogo que fica localizado entre as avenidas Araguaia e Contorno do setor Central e ruas 200-A, 200-C do setor Vila Nova no município de Goiânia, Goiás, no mês de maio/2014.



Figura 01. Exemplar arbóreo utilizado para coleta das sementes de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit.

Após a coleta, as sementes foram colocadas para desidratação em temperatura ambiente sobre uma bandeja no Laboratório de Biologia Vegetal da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-GO). Após o período de desidratação as sementes foram utilizadas para instalação dos experimentos visando verificar a influência do elemento níquel sobre a germinação e crescimento das plantas de *L. leucocephala* em relação às suas diferentes concentrações.

2.2 INSTALAÇÃO DOS EXPERIMENTOS

2.2.1 Instalação do Experimento I

Inicialmente foi instalado um experimento visando observar a influência de diferentes concentrações de níquel sobre a germinação e crescimento inicial de *L. leucocephala*. Para a instalação do experimento foram definidos cinco tratamentos em relação às concentrações de níquel: A-0 mg.L⁻¹ (controle); B-40 mg.L⁻¹, C-80 mg.L⁻¹, D-120 mg.L⁻¹ e E-200 mg.L⁻¹. Cada tratamento teve dez repetições, onde cada unidade experimental foi considerada como sendo um recipiente plástico com capacidade volumétrica para 350 mL, contendo dois discos de papel de filtro e vinte sementes escarificadas da espécie *L. leucocephala*. Na escarificação das sementes foi realizado um pequeno corte na região proximal das mesmas, sem contudo, danificar o embrião, utilizando-se tesouras.

Cada recipiente recebeu 10 mL de solução de nitrato de níquel (Ni(NO₃)₂) de acordo com a respectiva concentração. Os recipientes com as sementes foram então colocados em bancada do laboratório com incidência de luz fluorescente e temperatura ambiente, dispostos de maneira aleatória respeitando o princípio da casualidade (Figura 02), onde permaneceram por sete dias até a coleta dos dados referentes à germinação e ao crescimento inicial.



Figura 02. Experimento de germinação de sementes de *Leucaena leucocephala* evidenciando a disposição das unidades experimentais dos tratamentos que receberam diferentes concentrações de níquel em solução.

As diferentes concentrações de níquel foram obtidas pela diluição de uma solução estoque padronizada ($100,0 \text{ mg.L}^{-1}$) utilizando $(\text{NiNO}_3)_2$. A solução de níquel foi armazenada em um vasilhame com capacidade para 20L, branco, transparente e colocado no interior de um saco preto para evitar a degradação provocada pela penetração luminosa, até o momento da utilização.

2.2.2 Instalação do Experimento II

Para verificar o efeito das diferentes concentrações de níquel sobre o crescimento das mudas de *L. leucocephala* foi instalado um experimento utilizando plantas com 120 dias após a germinação. Para isso, foi realizada a produção de 80 mudas em 40 sacos plásticos (20x15 cm) contendo uma mistura de areia e substrato orgânico (1:1), sendo alocadas duas mudas em cada saco plástico.

As mudas permaneceram no viveiro do Laboratório de Biologia Vegetal da PUC-Goiás durante todo o período experimental sobre uma bancada sob sombrite (50% de sombreamento), onde as mudas receberam água periodicamente e solução nutritiva completa de Hoagland quinzenalmente, entre os meses de junho e setembro de 2014.

O experimento foi constituído de quatro tratamentos em relação às concentrações de níquel: A- 0 mg.L^{-1} (controle); B- 100 mg.L^{-1} , C- 200 mg.L^{-1} , D- 400 mg.L^{-1} e, 10 repetições, onde cada unidade experimental foi considerada como sendo um saco plástico contendo duas mudas de *L. leucocephala*. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado em função das condições homogêneas proporcionadas pelo ambiente experimental.

A solução de níquel nos diferentes tratamentos foi aplicada somente uma vez com cada uma das respectivas concentrações e a água foi aplicada no controle, sendo adicionados 150 mL em cada recipiente.

Para obter um controle maior e isolar ainda mais os fatores que poderiam interferir nos resultados, foram colocados sacos plásticos transparentes em todas as unidades experimentais, isolando as mesmas e

evitando que a solução aplicada saísse pelos orifícios de drenagem dos saquinhos. Os sacos plásticos transparentes ainda foram amarrados para evitar a infiltração de água da chuva, já que as plantas ficaram dispostas por todo período experimental em ambiente externo ao laboratório, em ambiente telado, com 50% de penetração de luz (Figura 03).



Figura 03. Disposição das mudas de *Leucaena leucocephala* aos 120 dias após a germinação e emergência, sobre a bancada do viveiro do Laboratório de Biologia Vegetal da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-GO), em Goiânia, Goiás, tratados com diferentes concentrações de níquel em solução.

2.3. COLETA DE DADOS

2.3.1. Experimento I

Para a coleta de dados do experimento I, referente à germinação e ao crescimento inicial de *L. leucocephala*, foram quantificadas as sementes germinadas (Figura 04 A), sendo consideradas germinadas as sementes que apresentaram a protusão da radícula. Foram coletados, também, os dados referentes ao tamanho do caulículo e da radícula para análise do crescimento inicial da espécie após a germinação sob a influência das diferentes concentrações de níquel, utilizando-se de paquímetros milimetrados como ilustrado na figura 04 B.



Figura 04. A - Realização da coleta de dados de germinação de sementes de *Leucaena leucocephala*; B – Coleta das medidas biométricas das radículas e dos caulículos após a germinação das sementes, nos tratamentos com diferentes concentrações de níquel.

2.3.2 Experimento II

2.3.2.1 Estudo do efeito do níquel sobre o crescimento das mudas

Para a coleta de dados do experimento II, referente ao desenvolvimento das mudas de *L. leucocephala* sob a influência da solução de níquel, as avaliações foram realizadas semanalmente por um período de 40 dias (seis coletas), registrando-se os dados biométricos das plantas, como altura,

diâmetro do caule e número de folhas.

O crescimento de plantas pode ser mensurado de diversas maneiras: medidas lineares, superficiais, peso e número de unidades estruturais. São dados que podem fornecer informações importantes quanto à fenologia e, em sua maioria, utilizadas para detectar diferenças entre os tratamentos aplicados no experimento (BENINCASA, 2003).

Para o parâmetro altura foi definido que a referência seria o comprimento entre a base da planta rente ao substrato (colo da planta) até o início da inserção da gema apical (Figura 05 A), sendo utilizada uma trena para a realização das medidas. O diâmetro das plantas foi obtido com um paquímetro milimetrado, sendo tomada como referência o diâmetro do caule na região do colo da planta (Figura 05 B).



Figura 05. Mudas de *Leucaena leucocephala* em viveiro. (A – Trena utilizada na coleta de dados referentes ao parâmetro de altura; B – Paquímetro milimetrado utilizado na coleta de dados referentes ao diâmetro do caule).

2.3.2.2 Matéria Seca

Ao final das coletas dos dados de altura, diâmetro do caule e número de folhas, foi realizada a coleta de amostras para pesagem da massa de matéria seca produzida pelas mudas crescendo sob diferentes concentrações de

níquel. Foram utilizadas, para as análises, cinco unidades experimentais de cada tratamento, totalizando 20 amostras, sendo que cada unidade experimental continha duas mudas de *L. leucocephala*.

As mudas selecionadas para amostragem foram separadas em parte aérea (Figura 06) e parte subterrânea (raízes) (Figura 07) com o uso de uma tesoura de corte, visando realizar a pesagem da matéria seca da raiz e do caule separadamente. As amostras foram colocadas em saquinhos de papel e mantidas na estufa sob temperatura de 70°C por um período de cinco dias, objetivando eliminar toda umidade contida nas amostras e mensurar somente a matéria seca (biomassa) que foi produzida pelas mudas.



Figura 06. Pesagem da massa de matéria seca da parte aérea (caule e folhas), de mudas de *Leucaena leucocephala*.

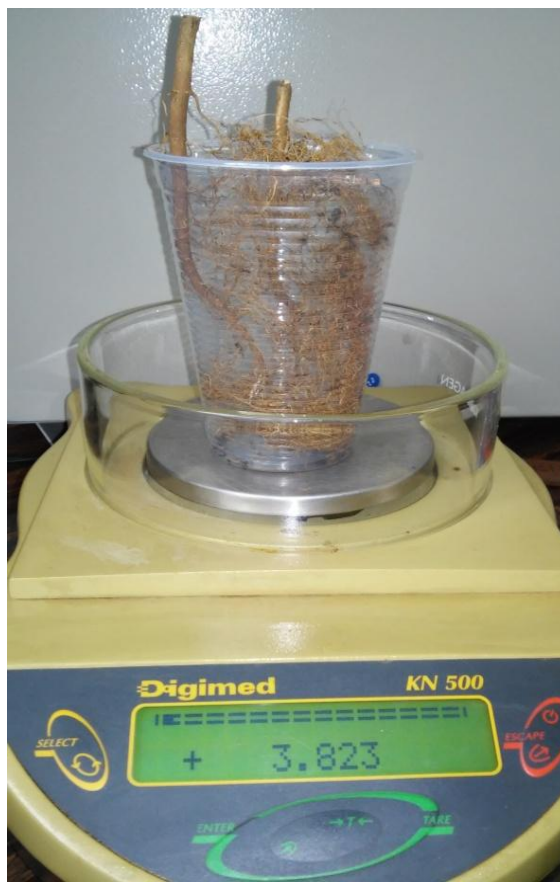


Figura 07. Pesagem da massa de matéria seca das raízes de mudas de *Leucaena leucocephala*.

2.3.2.3 Substrato

Foram coletadas, no final do experimento, amostras do substrato dos saquinhos onde se desenvolveram as mudas com a solução de níquel. As amostras foram enviadas para análise em laboratório especializado. Foram analisados, os teores de níquel presente no substrato após o desenvolvimento e crescimento das mudas por todo o período experimental (180 dias).

Para isso, foram selecionadas três unidades experimentais (sacos plásticos onde estavam as mudas) de cada tratamento, totalizando 12 amostras. O substrato foi mantido nos sacos plásticos dentro do Laboratório de Biologia Vegetal da PUC-Goiás por um período de sete dias objetivando eliminar a umidade presente nas amostras, e estas posteriormente, foram colocadas dentro de sacos plásticos transparentes (Figura 08) e enviadas para serem analisadas quimicamente.



Figura 08. Amostra de substrato preparada para análise dos teores de níquel presentes no substrato de crescimento das mudas de *Leucaena leucocephala*, em condições de viveiro.

2.4 ANÁLISE DE DADOS

A análise estatística dos dados obtidos foi realizada através da ANOVA (análise de variância) e do teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Após a análise foram gerados gráficos utilizando-se o programa Excel, visando complementar e ilustrar as análises e resultados obtidos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 GERMINAÇÃO

Os resultados demonstraram que na germinação das sementes de *Leucaena leucocephala* sob as diferentes concentrações de níquel não houve diferença significativa entre os tratamentos de 0, 40, 60, 80 e 120 mg.L⁻¹ (Figura 09).

O percentual de germinação foi bastante similar entre os tratamentos, sendo o maior valor encontrado no tratamento com 120 mg.L⁻¹ com 82% de germinação, enquanto o menor valor constatado foi no tratamento de 200 mg.L⁻¹ com cerca de 67% das sementes germinadas, podendo ainda, ser considerada uma elevada taxa de germinação.

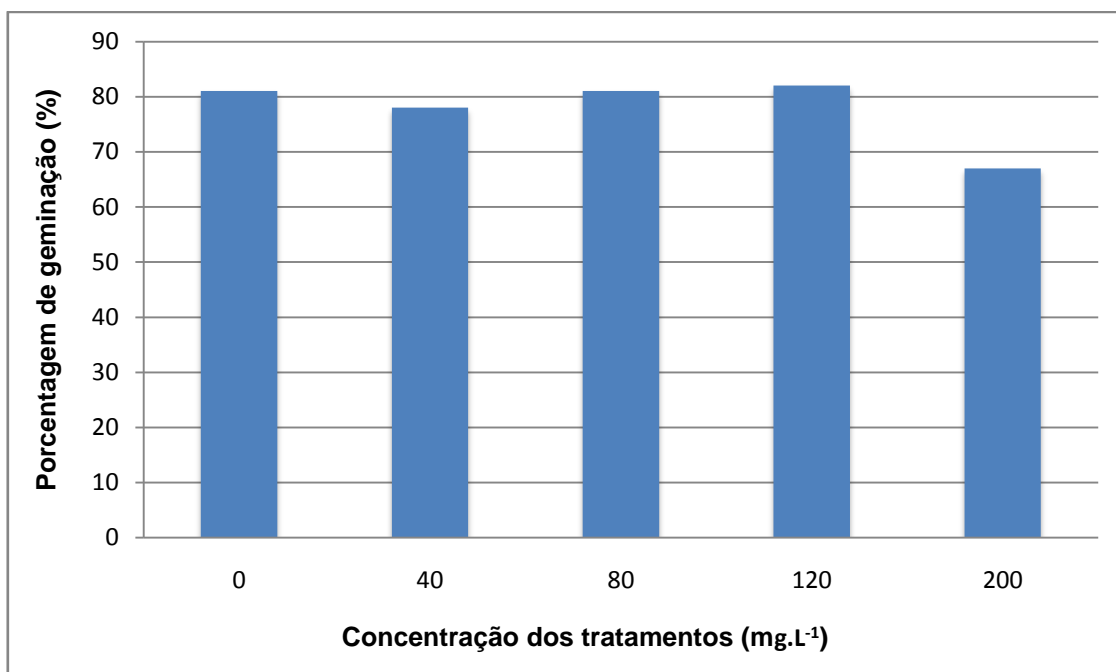


Figura 09. Porcentagem de germinação das sementes de *Leucaena leucocephala* sob influência de diferentes concentrações de níquel.

Segundo Coll (2001), a germinação é a retomada da atividade metabólica para crescimento da semente que necessita de condições ótimas para crescer e desenvolver e formar uma plântula, sua fase inicial. Sabe-se que, no entanto o níquel, em altas concentrações, é um elemento tóxico, sendo

que a concentração adequada deste elemento nos tecidos vegetais é de 0,05 mg.L⁻¹ (EPSTEIN & BLOOM, 2006).

Os resultados do experimento I revelaram que a germinação das sementes de leucena não foi afetada pela aplicação do níquel e o teste de ANOVA constatou não existir diferença estatística ao nível de 5% de significância (Tabela 1), mostrando que, mesmo com acréscimo da concentração de níquel nos diferentes tratamentos, os resultados para germinação das sementes de *L. leucocephala* foram similares, sugerindo que a solução de níquel aplicada nos diferentes tratamentos não afetou significativamente a germinação da espécie.

Tabela 1. Resultado da análise de variância (ANOVA), com 95% de grau de confiança, para germinação de sementes de *Leucaena leucocephala*, aos sete dias de experimentação em diferentes concentrações de níquel.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	30,96	4	7,74	1,8606	0,1569	2,8661
Dentro dos grupos	83,2	20	4,16			
Total	114,16	24				

Ainda que existam muitas incertezas sobre a especificidade dos mecanismos de absorção dos metais pesados, sobretudo daqueles não essenciais, geralmente o teor e o acúmulo do elemento nos tecidos são funções de sua disponibilidade na solução do solo, e os teores nas raízes e parte aérea aumentam com a elevação da concentração de metais na solução do solo (GUSSARSSON et al., 1995).

Segundo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA, 2009), os valores de referência para solos agrícolas é de 70 mg.L⁻¹ de níquel, sendo considerado contaminado o solo que apresenta valores acima deste limite. Os resultados obtidos neste trabalho são relevantes, vez que a germinação das sementes de leucena não foi afetada por concentrações de níquel acima dos valores limites para solos agrícolas.

Assim, a espécie estudada torna-se promissora para uso em áreas contaminadas com níquel, pois concentrações de até 200 mg.L^{-1} não afetariam a germinação da espécie, que é um requisito essencial para o estabelecimento das mudas, podendo ser utilizada através de técnicas comumente empregadas na recuperação de áreas degradadas, como o lanço e semeadura aérea (MARTINS, 2013).

Outro fator importante para a formação de mudas na recuperação de áreas degradadas é o estabelecimento de plântulas, que depende inicialmente de vários fatores (YANES, 1997).

Assim, foi realizada, também, a análise do comprimento das radículas de *L. leucocephala* desenvolvidas sob as diferentes concentrações de níquel, visando avaliar o desenvolvimento das plantas em seu estágio inicial. O maior valor obtido para o comprimento das radículas foi constatado no tratamento controle (0 mg.L^{-1}) com média de 4,6 cm, enquanto o menor valor constatado foi no tratamento de 200 mg.L^{-1} com 1,3 cm de comprimento, como ilustrado na Figura 10.

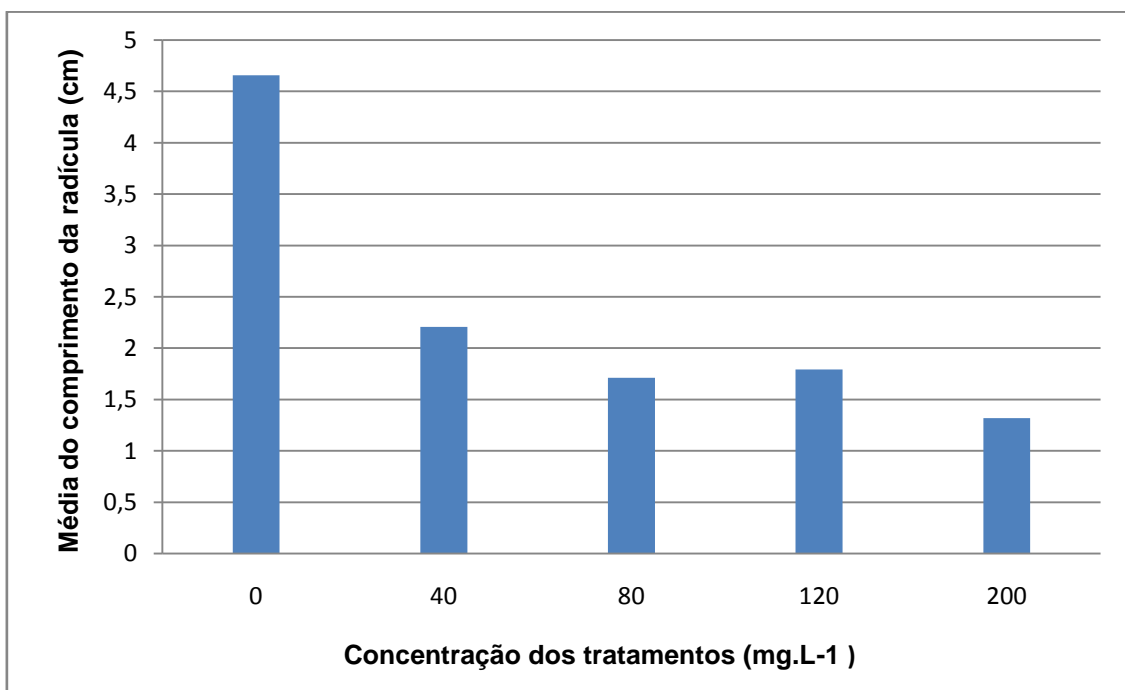


Figura 10. Médias dos comprimentos das radículas de *Leucaena leucocephala* aos sete dias sob diferentes concentrações de níquel.

Pode-se constatar que o comprimento das radículas foi reduzido a partir do tratamento com 40 mg.L⁻¹ de níquel ao se comparar com o tratamento controle (0 mg.L⁻¹), indicando que a aplicação do níquel influenciou negativamente o crescimento e o desenvolvimento das radículas, sendo que, quanto maior foi a concentração de níquel aplicada nos diferentes tratamentos, menor foi a média de comprimento das radículas.

O aumento da concentração de níquel influenciou de forma linear a média do comprimento das radículas, pois o valor da correlação linear de Pearson foi de -0,78 (correlação forte), indicando que quanto maior a concentração de níquel, menor foi o comprimento das radículas. Assim, pode ser verificada uma sensibilidade dos tecidos radiculares da leucena nas diferentes concentrações de níquel a partir de 40 mg.L⁻¹ de níquel.

No entanto, mesmo apresentando redução no crescimento das radículas, pode ser observado que houve uma proximidade das médias do comprimento e que a mortalidade das plântulas foi baixa, mesmo sob concentrações mais elevadas, como 120 e 200 mg.L⁻¹ de níquel.

Através da análise estatística do teste de ANOVA ao nível de 5% de significância, foi constatado que no crescimento das radículas houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 2). Entretanto, o teste de Tukey indicou que o único tratamento que apresentou diferença significativa em relação aos demais foi o controle (0 mg.L⁻¹), sendo que os demais tratamentos com 40, 80, 120 e 200 mg.L⁻¹ não apresentaram diferença significativa entre si, possuindo médias de comprimento similares.

Tabela 2. Resultado da análise de variância (ANOVA), com 95% de grau de confiança, para o parâmetro de comprimento da radícula de plantas de *Leucaena leucocephala* aos sete dias de crescimento em diferentes concentrações de Ni.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	35,63858	4	8,909644	24,46199	1,84E-07	2,86608
Dentro dos grupos	7,28448	20	0,364224			
Total	42,92306	24				

A técnica de observar e avaliar o comprimento da raiz é eficaz e bastante utilizada em casos de testes de tolerância de plantas a um possível metal. Esse tipo de avaliação recebe o nome de alongamento da raiz (“root elongation test”), no entanto, outros sintomas também podem descrever toxicidade a metais, sendo que muitos deles também são semelhantes a outras patologias, o que torna difícil o diagnóstico (MACNAIR & BAKER, 1994).

A regulação da absorção de metais pesados da rizosfera, o acúmulo desses nas raízes, preservando sua integridade e funções primárias, e a baixa translocação para a parte aérea são considerados mecanismos pelos quais o sistema radicular pode contribuir para a tolerância de espécies arbóreas a metais pesados (VERKLEIJ & PAREST, 1989; ARDUINI et al., 1996).

Os metais absorvidos sofrem um transporte radial na raiz, fundamentalmente apoplástico, encontrando um primeiro filtro de difusão e de regulação na endoderme. Já no estelo, os metais seguem essencialmente via xilema e, em suas relações com as células vizinhas, podem induzir alterações na diferenciação do próprio sistema vascular, uma vez que, em concentrações menores, alcançam as folhas, podendo alterar a estrutura e a funcionalidade das células fotossintéticas (BARCELÓ & POSCHENRIEDER, 1992).

Foi realizada, também, a análise da parte aérea das plântulas de *L. leucocephala* através do comprimento do caule. Da mesma forma que o comprimento das radículas, a análise do comprimento do caule constatou que houve diferença significativa nas médias dos diferentes tratamentos em relação as concentrações de níquel aplicadas.

Os resultados indicaram que o tratamento com maior média de comprimento do caule foi o controle (0 mg.L⁻¹) com média de 2,1 cm, seguido pelo tratamento com 40 mg.L⁻¹ com cerca de 1,6 cm de comprimento, enquanto o menor valor apresentado foi no tratamento com 120 mg.L⁻¹, com média de 1,2 cm de comprimento (Figura 11).

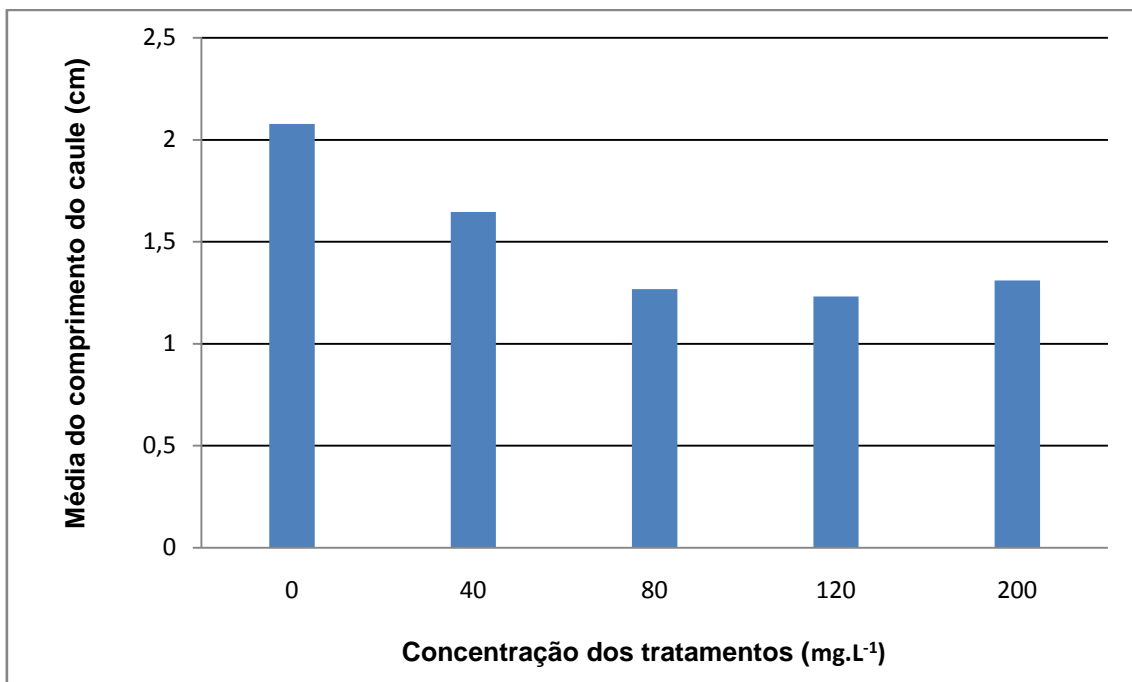


Figura 11. Relação entre as médias dos comprimentos do caule das plântulas de *Leucaena leucocephala* aos sete dias sob diferentes concentrações de níquel.

Espécies ou variedades de uma mesma espécie vegetal, expostas a uma concentração similar de metais pesados, podem diferir na absorção e, ou, distribuição interna desses nas plantas. Isso pode resultar em diferenças na capacidade de retenção do elemento absorvido nas raízes e, ou, variação na carga no xilema (SHAW, 1989). Outros fatores, como estágio de desenvolvimento da planta, tempo de exposição ao metal e as diferentes espécies químicas dos elementos, também podem interferir nesses aspectos, refletindo nos teores dos metais nas diferentes partes da planta (ALLOWAY, 1993).

O teste de ANOVA, ao nível de 5% de significância, detectou diferenças significativas entre os diferentes tratamentos (Tabela 3). O teste de Tukey realizado, com nível de significância de 5%, demonstrou que o controle diferiu dos tratamentos com 80, 120 e 200 mg.L⁻¹, mas não daquele em que foi aplicado o níquel em solução a 40 mg.L⁻¹. Possivelmente, a concentração de 40 mg.L⁻¹ foi tolerada pelas plantas de leucena na fase inicial de crescimento, não observando-se efeitos adversos no órgão, sendo que a partir desta concentração houve redução significativa no crescimento da parte aérea.

Tabela 3. Resultado da análise de variância (ANOVA), com 95% de grau de confiança, para o parâmetro de comprimento do caule de plantas de *Leucaena leucocephala* aos sete dias de crescimento em diferentes concentrações de níquel.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	2,5925	4	0,6481	9,464	0,0002	2,866
Dentro dos grupos	1,3697	20	0,0685			1
Total	3,9622	24				

O níquel é considerado um micro nutriente para muitas plantas, e está diretamente relacionado à síntese da metalo-enzima uréase. Na falta de Ni as plantas podem apresentar certos sintomas de desnutrição, como acúmulo de uréia nos tecidos vegetais causando necrose nos ápices foliares. Dessa forma, o Ni se torna um mineral essencial para o metabolismo vegetal, sendo importante no crescimento e desenvolvimento do vegetal, no entanto, vale lembrar que o Ni é utilizado pelas plantas em quantidades mínimas (micronutriente), e uma concentração tissular de 50 mg.L⁻¹ de Ni já pode causar efeitos tóxicos em muitas plantas (WHITE & GREENWOOD,2013).

Ao final do experimento I pôde-se realizar, ainda, a avaliação do crescimento total (caule+raiz) das plântulas de *L. Leucocephala* sob as diferentes concentrações de níquel. Foi verificado o comprimento total entre os tratamentos, onde o controle (0 mg.L⁻¹) obteve a maior média de comprimento em relação aos tratamentos com 40, 80, 120 e 200 mg.L⁻¹ (Figura 12), sendo o maior valor com 0,82 cm para o tratamento controle (0 mg.L⁻¹) e o menor valor para o tratamento com 200 mg.L⁻¹, com 0,42 cm.

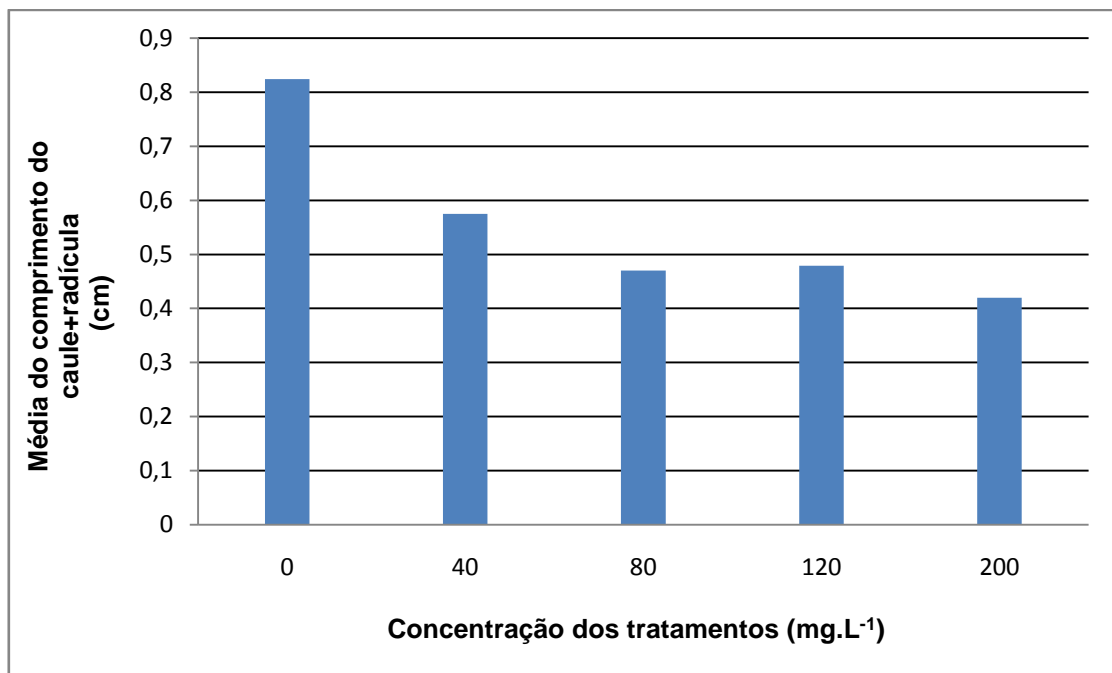


Figura 12. Relação entre as médias dos comprimentos totais das plântulas de *Leucaena leucocephala* aos sete dias sob diferentes concentrações de níquel.

Foi realizado novamente o teste de ANOVA e o de Tukey a 5% de significância, confirmando que existiu diferença significativa entre os tratamentos, onde o controle (0 mg.L⁻¹) se diferenciou expressivamente dos demais tratamentos. Porém, entre os tratamentos com 40, 80, 120 e 200 mg.L⁻¹ não houve diferenças significativas entre si, sugerindo que mesmo aumentando a concentração gradativamente em cada tratamento, as respostas foram as mesmas e que apenas se diferenciaram do grupo controle em relação ao comprimento total, o que pode ser visualizado na Tabela 4.

Tabela 4. Resultado da análise de variância (ANOVA), com 95% de grau de confiança, para o parâmetro de comprimento total das plântulas de *Leucaena leucocephala* aos sete dias de crescimento em diferentes concentrações de níquel.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	0,5298	4	0,1325	23,313	2,72408E-07	2,8661
Dentro dos grupos	0,1136	20	0,0057			
Total	0,6435	24				

Algumas plantas, assim como outros organismos, desenvolveram um complexo mecanismo de homeostase para minimizar os efeitos deletérios de metais pesados, controlando a absorção, acumulação e translocação de metais pesados no tecido vegetal. Esses mecanismos protegem a célula, evitando o acúmulo de íons livres em excesso no citosol, resultando na tolerância de plantas a metais pesados (SANTOS et al., 2006).

Em doses altas, o Ni pode induzir a planta ao estresse. Sob estresse as plantas passam por sucessivas fases, sendo elas: fase de alarme inicialmente, de resistência e de restituição. Na fase de alarme tem-se a perda de estrutura inicial das atividades vitais da planta, como a desestabilização das proteínas da biomembrana, por exemplo; essa fase induz a planta a buscar alternativas para manter sua integridade celular e inicia processos de reparo e proteção, através de reações catalíticas. Basicamente, a situação de alarme induz a fase de resistência onde a planta promove a resistência e o restabelecimento. Caso necessário, qualquer injúria ocasionada pode ser reparada na fase de restituição (LARCHER, 2000).

3.2 ALTURA

A altura é um parâmetro de crescimento que demonstra a capacidade que as plantas possuem em responder à influência dos fatores bióticos e abióticos que norteiam o metabolismo e seu desenvolvimento. A altura representa a divisão celular do ápice caulinar, que ocorre nos tecidos conhecidos como meristemas apicais, que são localizados nos ápices do caule e da raiz (TAIZ & ZEIGER, 2013).

Os resultados sobre o parâmetro altura das plantas de *L. leucocephala* crescendo em condições de viveiro apresentaram valores similares em todos os tratamentos. O tratamento com maior média de crescimento foi constatado no controle (0 mg.L⁻¹) com valor de 71,19 cm de altura, seguido pelo tratamento com 400 mg.L⁻¹, com média de 66,96 cm de altura, quase semelhante as médias dos tratamentos com 100 e 200 mg.L⁻¹ com respectivos valores de

66,07 e 66,34 cm de altura (Figura 13).

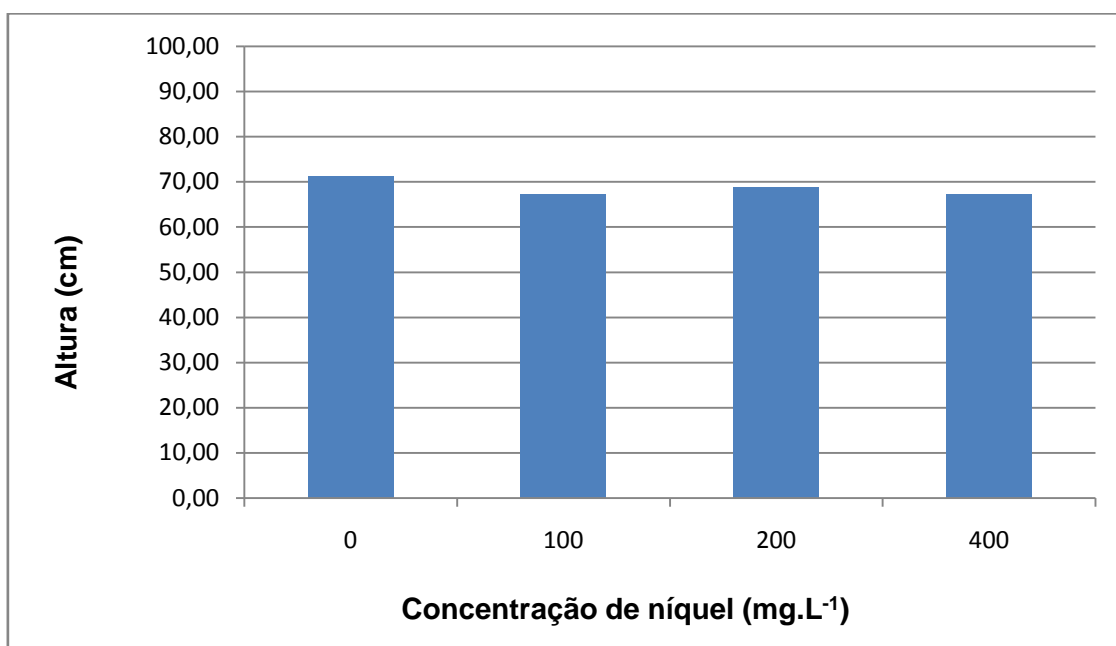


Figura 13 - Altura de *Leucaena leucocephala* após 180 dias de crescimento, em condições de viveiro sob diferentes concentrações de níquel.

Mesmo com uma pequena diferença numérica apresentada, o teste de ANOVA (Tabela 05) demonstrou não haver diferença estatística significativa entre os tratamentos, sugerindo que a aplicação das diferentes concentrações de níquel não influenciou significativamente a taxa de crescimento em altura das plantas de *L. leucocephala*.

Tabela 05 - Resultado da análise de variância (ANOVA), com 95% de grau de confiança, para taxa de crescimento em altura, aos 180 dias, em plantas de *Leucaena leucocephala* sob as diferentes concentrações de níquel.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	176,412493	3	58,8041644	0,23876	0,86903	2,73180
Dentro dos grupos	17732,4748	72	246,284373			7
Total	17908,8873	75				

Segundo Benincasa & Leite (2004), o crescimento das plantas envolve desenvolvimento e mudanças nas relações internas de células, tecidos, órgãos ou da planta inteira. A análise de crescimento permite avaliar o crescimento final da planta, seja na sua totalidade ou na forma que diferentes órgãos auxiliam no crescimento total.

A análise da Figura 14, onde o crescimento em altura das plantas de *L. leucocephala* estão ilustradas semanalmente, demonstrou que não houve alteração na tendência de crescimento acumulado entre os diferentes tratamentos durante todo o período experimental (cinco semanas), sendo que a menor taxa de crescimento acumulada foi observada no tratamento controle (0 mg.L⁻¹), enquanto a maior taxa de crescimento acumulada foi constatada no tratamento com 200 mg.L⁻¹, confirmando a hipótese de que não houve diferença significativa no crescimento das plantas durante todo o período amostral.

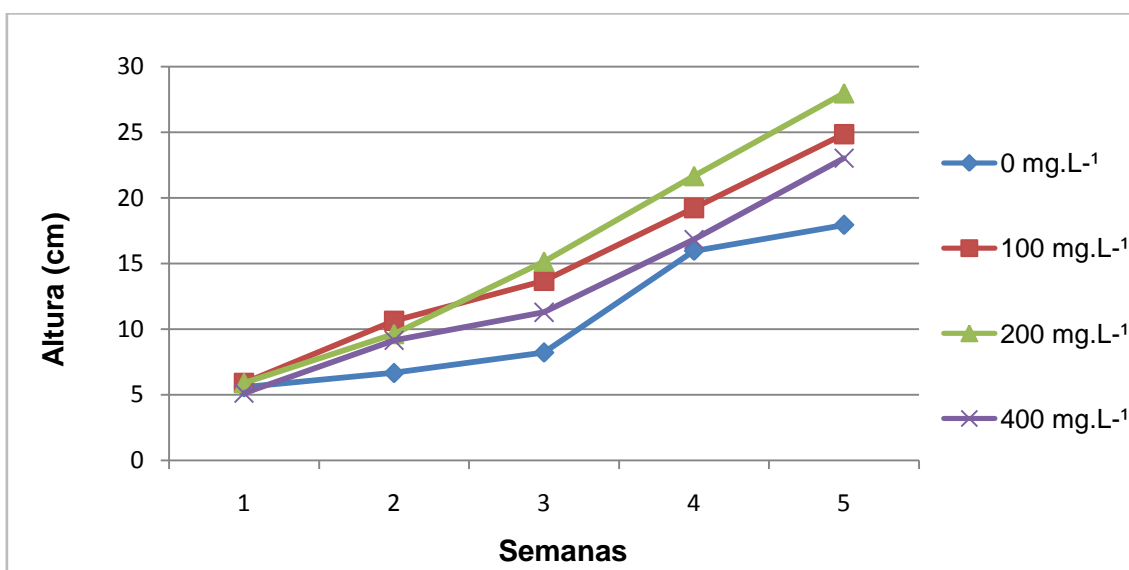


Figura 14. Taxas de crescimento acumuladas obtidas semanalmente em altura das plantas de *Leucaena leucocephala* durante o período experimental, em diferentes concentrações de níquel aplicado em solução.

Ao se comparar o desenvolvimento das plantas do controle (0 mg.L⁻¹) em relação às dos demais tratamentos com 100, 200 e 400 mg.L⁻¹, pode-se deduzir que o níquel aplicado em diferentes concentrações sobre as plantas de *L. leucocephala* tenha atuado, possivelmente, como um nutriente, beneficiando

o crescimento e desenvolvimento das mesmas sob as diferentes concentrações de níquel durante todo o período amostrado (180 dias).

O elemento níquel, apesar de ser um importante micronutriente, pode causar fitotoxicidade em concentrações elevadas, promovendo uma redução do crescimento da planta exposta ou, até mesmo, a morte, dependendo da concentração e sensibilidade da planta (LARCHER, 2000).

Um dos principais efeitos que elevadas concentrações de metais pesados podem causar nos tecidos das plantas é o estímulo na produção de radicais livres, levando ao estresse oxidativo (FOYER et al., 1997). Outros efeitos são: inibição do crescimento da planta, clorose das folhas, desbalanço hídrico e comprometimento da fotossíntese (CLEMENS, 2006).

Porém, ao analisar os resultados obtidos referentes ao parâmetro altura, pode-se constatar que o desenvolvimento e crescimento das plantas de *L. leucocephala* não foi afetado significativamente pelas diferentes concentrações de níquel aplicadas, não apresentando danos às plantas e revelando que a espécie em estudo provavelmente possua mecanismos que permitam o seu desenvolvimento e crescimento sob elevadas concentrações do metal pesado níquel.

3.3 DIÂMETRO DO CAULE

O diâmetro é uma medida de crescimento que tem como origem a atividade cambial do caule através do crescimento secundário promovido pelo câmbio vascular, originando xilema e floema secundários e do felogênio, produzindo o tecido de revestimento secundário, o súber (CUTLER et al., 2011).

A atividade celular e, conseqüentemente, a cambial, pode ser afetada pelo estresse promovido por metais pesados, pois como afirmam Epstein & Bloom (2006), os metais podem causar danos nas membranas celulares, causando vazamentos e provocando a toxicidade.

Analisando a taxa de crescimento do caule em diâmetro das plantas de *L. leucocephala*, foi constatado que não houve diferença significativa entre os

tratamentos com 100, 200 e 400 mg.L⁻¹, havendo diferença significativa apenas em relação ao tratamento controle (0 mg.L⁻¹) que obteve resultado significativamente superior aos dos demais tratamentos.

Os valores referentes ao desenvolvimento do caule foram, em média, de 0,53 cm para o tratamento controle (0 mg.L⁻¹), enquanto os demais tratamentos obtiveram resultados quase semelhantes, com cerca de 0,51 cm, variando somente os valores decimais, a diferença entre si (Figura 15).

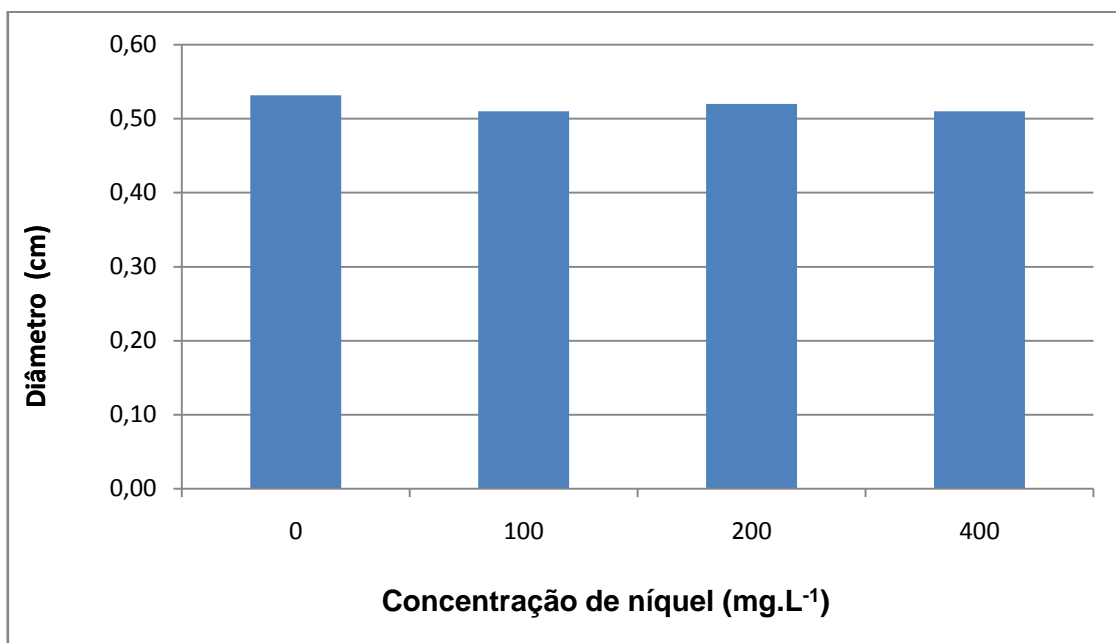


Figura 15. Crescimento acumulado do diâmetro do caule aos 180 dias em plantas de *Leucaena leucocephala* crescendo em condições de viveiro, sob diferentes concentrações de níquel.

Ao realizar o teste de ANOVA (Tabela 06), foi constatado que as concentrações de níquel aplicadas influenciaram o desenvolvimento do diâmetro do caule somente em relação ao tratamento controle (0 mg.L⁻¹), não afetando significativamente o desenvolvimento do diâmetro do caule entre os tratamentos com 100, 200 e 400 mg.L⁻¹. Pode-se deduzir, ainda, que mesmo tendo uma diferença significativa em relação ao tratamento controle (0 mg.L⁻¹), nos demais tratamentos não houve diferença estatística significativa entre eles, indicando que a aplicação do níquel não inibiu o desenvolvimento do diâmetro do caule nestes tratamentos.

Tabela 06 - Resultado da análise de variância (Anova), com 95% de grau de confiança, para taxa de crescimento em diâmetro do caule aos 180 dias, em plantas de *Leucaena leucocephala* em diferentes concentrações de níquel.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	0,007752632	3	0,00258	0,72362	0,54115	2,73180
Dentro dos grupos	0,257125	72	0,00357			
Total	0,264877632	75				

Na Figura 16 são apresentados os valores da taxa de crescimento em diâmetro do caule ao longo do período amostral de cinco semanas a partir da aplicação da solução de níquel. Apesar da diferença numérica apresentada pelo tratamento controle (0 mg.L^{-1}) em relação à média de crescimento nos demais tratamentos, pode-se observar que a tendência de crescimento em todos os tratamentos não houve diferença significativa, apresentando determinada similaridade nos resultados, supondo que, mesmo com a aplicação de níquel nos diferentes tratamentos, o desenvolvimento do caule não foi afetado pelo níquel durante todo o período experimental.

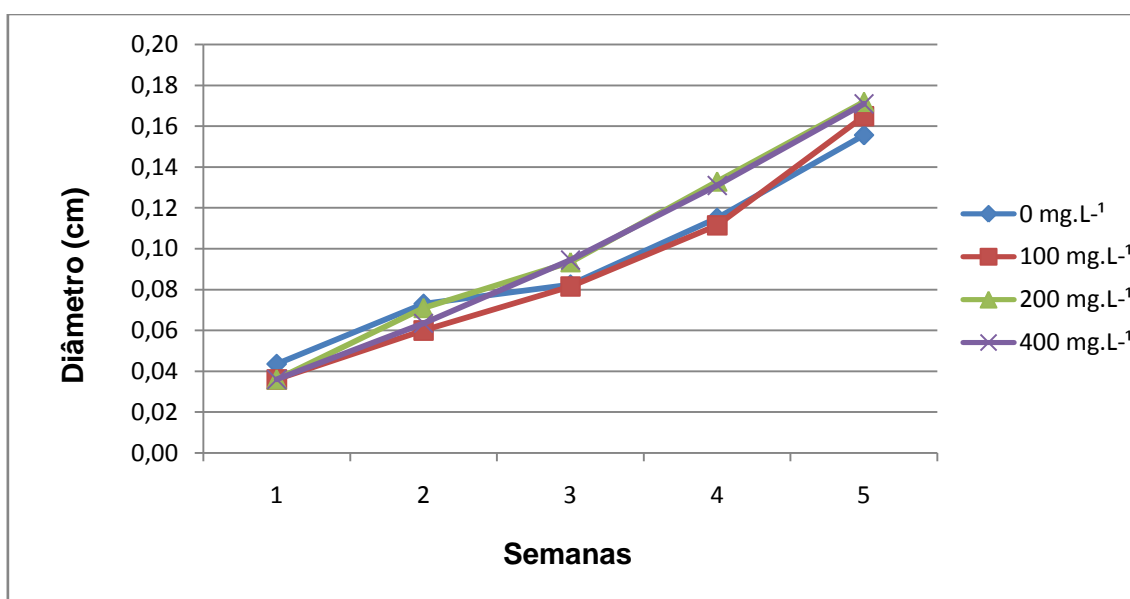


Figura 16. Taxas de crescimento acumulado obtidas semanalmente, em diâmetro do caule das plantas de *Leucaena leucocephala*, durante o período de cinco semanas em diferentes concentrações de níquel.

Os resultados obtidos referentes ao parâmetro de diâmetro do caule, revelaram que apesar da influência significativa que houve em relação ao tratamento controle com os demais tratamentos, não houve diferença estatística nos tratamentos que receberam a aplicação do níquel, comprovando que a presença do metal não inibiu o desenvolvimento e o crescimento do caule, confirmando a hipótese de que a espécie em estudo é capaz de suportar em seu organismo altas concentrações do metal pesado níquel.

Segundo Larcher (2000), certas espécies são capazes de crescer em ambientes contaminados por metais pesados, pois desenvolveram vários mecanismos de desintoxicação por meio dos quais os efeitos do excesso de metais pesados podem ser evitados.

Dessa forma, pode-se considerar que, provavelmente, a espécie em estudo tenha capacidade de se desenvolver sob altas concentrações de níquel, levando em consideração que em todos os tratamentos com aplicação do metal pesado, os resultados foram praticamente similares, independente da quantidade de solução aplicada nas plantas, tornando promissora a hipótese de que a leucena possua mecanismos fisiológicos que suportem, ou até mesmo, acumulem elevadas concentrações de níquel em seu organismo, sem que haja danos à sua fisiologia e desenvolvimento. Porém, são necessários mais estudos sobre este assunto para diagnosticar, mais profundamente, os mecanismos de absorção e acumulação do metal pesado níquel que a espécie *L. leucocephala* possivelmente tenha.

3.4 NÚMERO DE FOLHAS

A análise do parâmetro de números de folhas das plantas de *L. leucocephala*, sob as diferentes concentrações de níquel, demonstrou que o menor valor constatado foi no tratamento com 200 mg.L^{-1} , com média de 11,5 folhas. Nos outros tratamentos, a média foi bastante similar, com cerca de 12,00 folhas nas plantas dos tratamentos com 100 e 400 mg.L^{-1} , enquanto o maior valor foi observado no tratamento controle (0 mg.L^{-1}) com média de 12,3 folhas, sendo bastante similar à dos tratamentos com 100 e 200 mg.L^{-1} ,

induzindo que as diferentes concentrações de níquel não influenciaram diretamente na queda de folhas. Na Figura 17 pode-se observar a similaridade dos resultados obtidos em relação à média do número de folhas nos diferentes tratamentos.

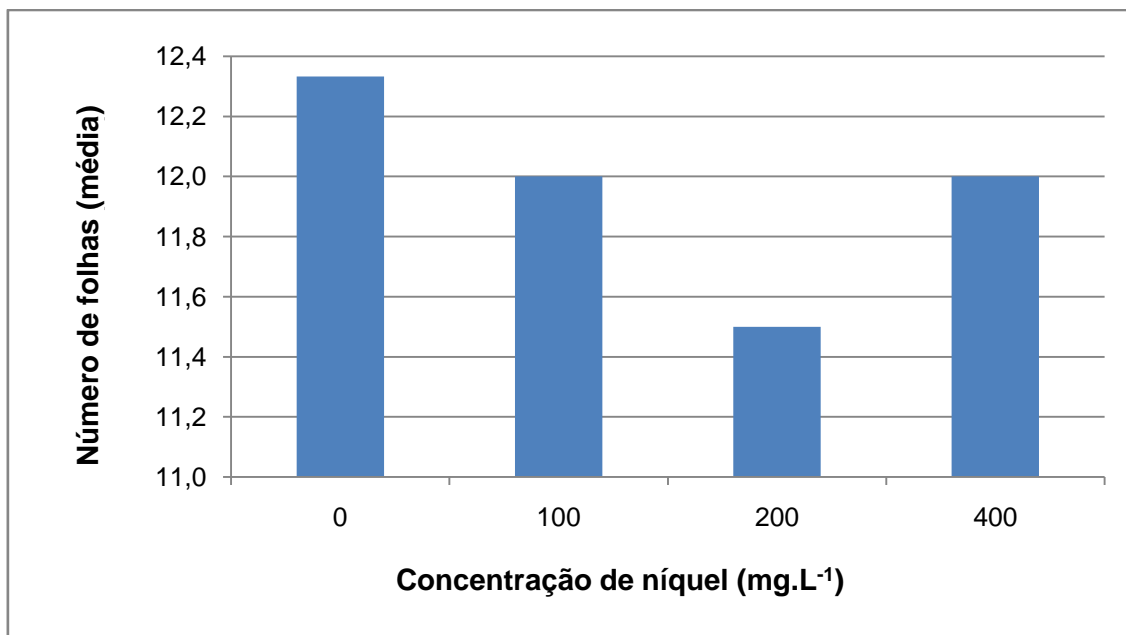


Figura 17. Frequência do número de folhas em plantas de *Leucaena leucocephala* sob diferentes concentrações de níquel.

Para se evitar injúrias relativas ao estresse proposto pela exposição a metais pesados, existem, em algumas plantas superiores, diversos mecanismos de desintoxicação. Os mecanismos podem ocorrer de maneira simultânea ou não e variam de espécie para espécie. Dentre os mecanismos podem ser citados: a blindagem pela membrana celular e parede celular, quelação, compartimentação e retranslocação (LARCHER, 2000).

Os efeitos tóxicos do níquel podem produzir sintomas variados, inclusive no desenvolvimento, insuficiência, desordens fisiológicas no processo fotossintético, transporte de fotoassimilados, nutrição mineral, água potencial das plantas, clorose, necrose e murcha (KRUPA et al., 1993).

Porém, não foi constatada nenhuma das deficiências acima citadas e não houve queda significativa das folhas de *L. leucocephala*, demonstrando que as diferentes concentrações de níquel aplicadas não interferiram significativamente no parâmetro de números de folhas. Pode-se perceber,

ainda, que durante o período amostral a frequência de folhas permanentes nas plantas de *L. leucocephala* não sofreu grandes variações (Figura 18), sendo consideravelmente constante e similar à quantidade de folhas produzidas nas plantas dos diferentes tratamentos, por todo o período experimental.

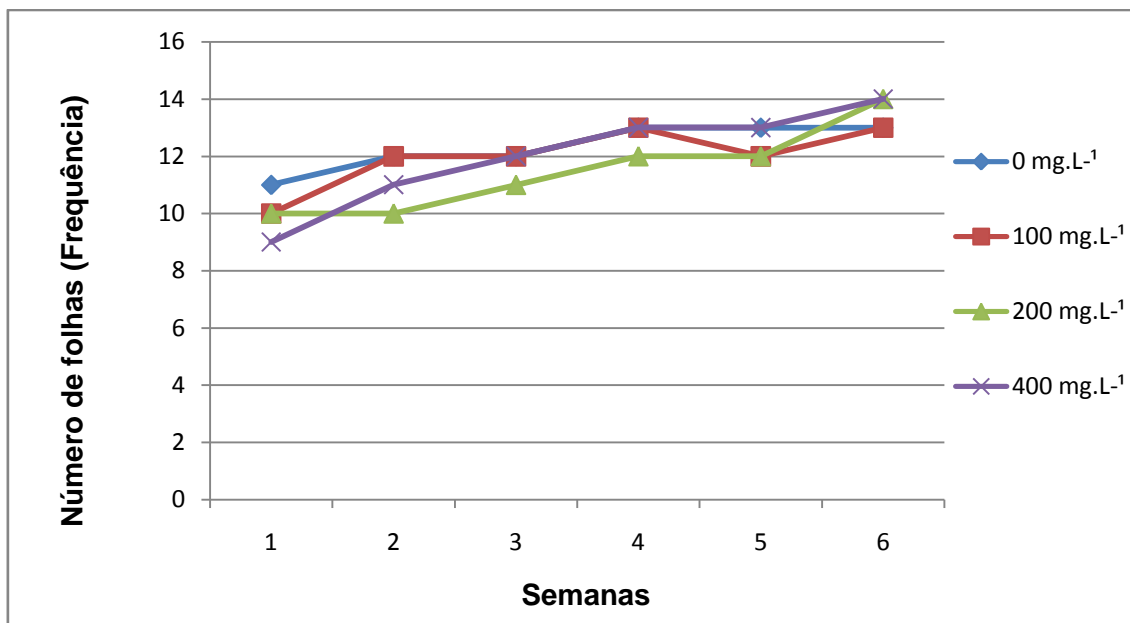


Figura 18. Frequência do número de folhas de *Leucaena leucocephala* sob as diferentes concentrações de níquel, obtida semanalmente por período de 40 dias após 140 dias de germinação e crescimento das plantas.

A redução da absorção de metais célula adentro, mediado pela membrana e parede celular, é um mecanismo interessante que junto com a imobilização de íons tóxicos nas paredes celulares, especialmente pelas pectinas, evitam, assim, o contato dos metais tóxicos com o protoplasto e também um possível transporte apoplástico (LARCHER, 2000). A quelatação é outro mecanismo importante que ocorre no citoplasma, onde cadeias polipeptídicas funcionam como agentes quelantes, se ligando aos íons de metais (MACNAIR & BAKER, 1994).

Desta forma, os resultados obtidos referentes à queda de folhas demonstram que a leucena provavelmente, possua mecanismos de tolerância e absorção do metal pesado níquel, sendo necessário novos estudos para avaliar esses mecanismos e em qual parte específica da planta o metal pesado possivelmente possa estar se acumulando.

3.5 PESO SECO DA PARTE AÉREA

A parte aérea representa 90% de uma planta; é onde está armazenada a água e os minerais, além de ser o local que se pode demonstrar a capacidade de uma boa realização de fotossíntese. Benincasa (2003) relata que dados referentes ao peso seco acumulado ao longo do desenvolvimento da planta resultam da atividade fotossintética, e o restante é de minerais que são absorvidos pela planta.

Conforme Mitchell (1945), o teor normal de Ni na matéria seca de plantas pode variar entre 0,1 e 5,0 mg.kg⁻¹. Esse valor depende da espécie, da parte da planta amostrada, da época de amostragem, do teor de Ni no solo, da acidez do solo, entre outros fatores.

Os resultados obtidos referentes ao peso seco da parte aérea demonstram que não houve diferença significativa entre os tratamentos (Figura 19). Apesar da diferença numérica que houve entre eles, os valores são bastante similares variando de 15,50 a 16,15 gramas. O maior valor foi constatado no tratamento com 400 mg.L⁻¹ com cerca de 16,15 gramas, seguido pelo tratamento com 200 mg.L⁻¹ com 15,99 gramas, semelhante ao valor obtido do tratamento controle (0 mg.L⁻¹) com 15,94 gramas, e por fim, o tratamento com 100 mg.L⁻¹ com média de 15,50 gramas de matéria seca na parte aérea.

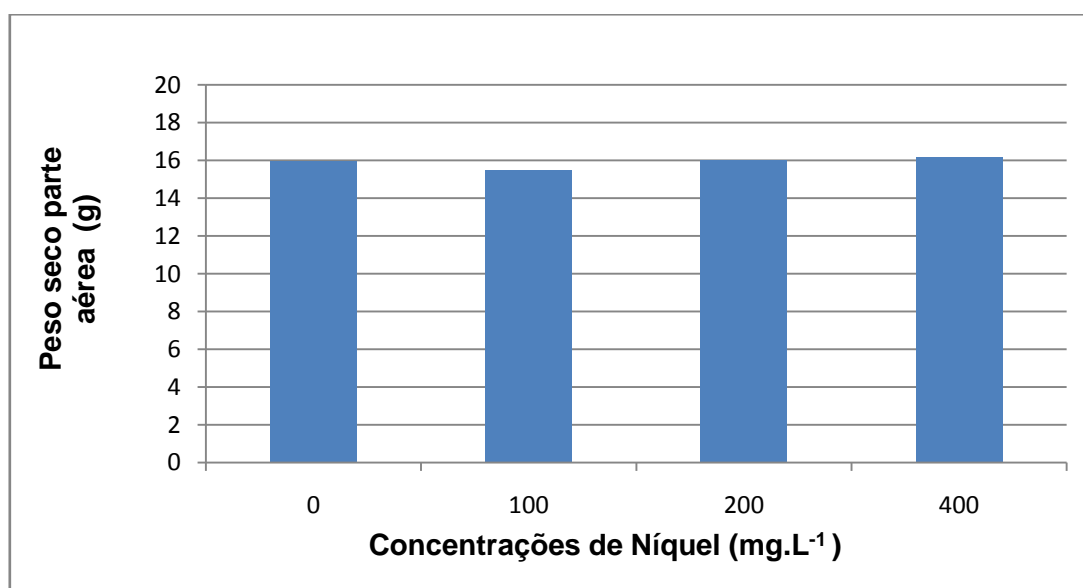


Figura 19. Peso seco da parte aérea das plantas de *Leucaena leucocephala* após 180 dias de crescimento sob diferentes concentrações de níquel.

O teste de ANOVA (Tabela 7) revelou não haver diferença estatística entre os tratamentos, mostrando que as plantas mantiveram o seu desenvolvimento mesmo com a interferência das diferentes concentrações de níquel aplicadas sob elas, semelhante ao desenvolvimento das plantas do tratamento controle (0 mg.L^{-1}) que não receberam as aplicações da solução de níquel.

Tabela 7 - Resultado da análise de variância (Anova), com 95% de grau de confiança, para o parâmetro peso seco da parte aérea, de plantas de *Leucaena leucocephala* sob diferentes concentrações de níquel, aos 180 dias.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	1,16606695	3	0,388689	0,105227	0,955817	3,238872
Dentro dos grupos	59,100774	16	3,693798			
Total	60,266841	19				

Estes dados ilustram que as diferentes concentrações de níquel não interferiram na produção de matéria seca da parte aérea nas plantas de *L. leucocephala*, sendo que o maior valor apresentado foi no tratamento de maior concentração de níquel (400 mg.L^{-1}), revelando que, provavelmente, o níquel possa ter influenciado positivamente a produção de matéria seca na parte aérea. Ainda, vale ressaltar que, para a recuperação de áreas degradadas e contaminadas, quanto maior a produção de biomassa, maior será o nível de recuperação e descontaminação das áreas.

Portanto, pelas características apresentadas referentes à matéria seca produzida pelas plantas de *L. leucocephala*, pode-se afirmar que a espécie em estudo, além de se desenvolver sob as diferentes concentrações de níquel, provavelmente tenha utilizado de forma positiva esse metal pesado, aumentando a produção de biomassa na parte aérea das plantas de acordo com o aumento das concentrações de níquel, tornando a leucena promissora para ser utilizada em projetos de recuperação de áreas contaminadas, pelo metal pesado níquel.

3.6 PESO SECO DA RAIZ

A raiz é o órgão da planta responsável pela absorção, fixação, condução e armazenamento. Controla a entrada da maior parte de água, minerais e metais pesados. Pode ser responsável pela resistência de plantas aos íons de metais pesados, em que há uma mobilização desses metais na parede celular (PRASAD, 2005).

Conhecer o peso seco das raízes auxilia no entendimento da capacidade de extração de águas que a planta apresenta, além da condução de compostos do solo. As raízes podem imobilizar ou extrair o níquel do solo e conduzi-lo até a parte aérea da planta, ou armazená-lo em seus vasos (WOOD et al., 2004; ANSELMO & JONES, 2005).

O peso seco das raízes das plantas de *L. leucocephala* indicou que não houve diferença significativa entre os tratamentos (Figura 20), sendo considerado bastante similares os resultados numéricos em todos os tratamentos. O menor valor constatado nos tratamentos foi no grupo com 100 mg.L⁻¹, com cerca de 3,56 gramas, sendo bastante similar aos resultados dos tratamentos com 200 e 400 mg.L⁻¹, com média de 3,89 gramas. O maior valor constatado foi no tratamento controle (0 mg.L⁻¹), com média de 4,72 gramas.

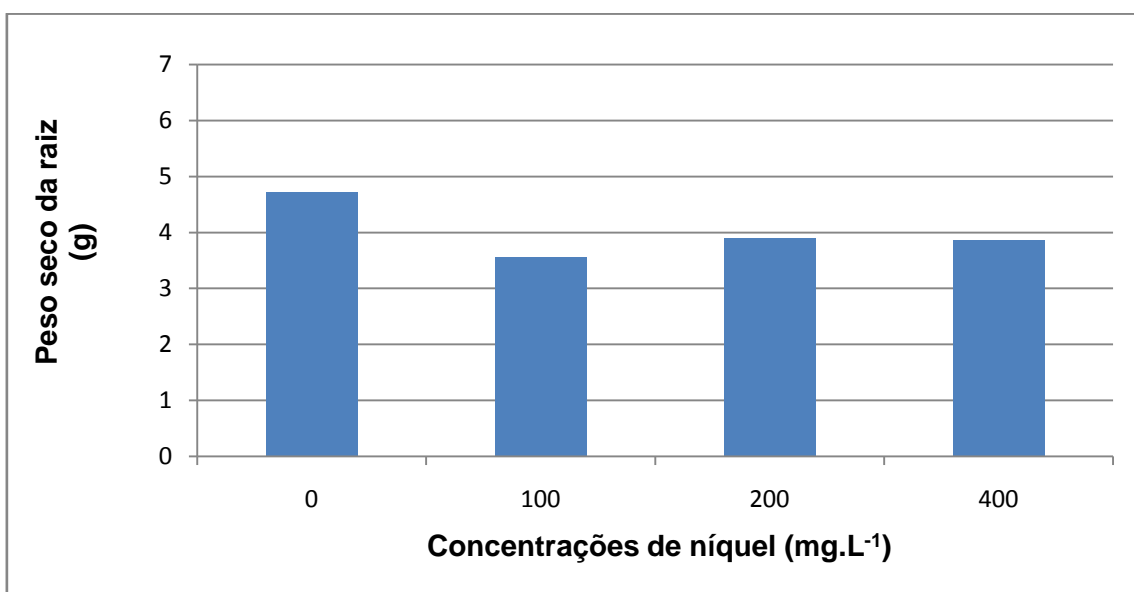


Figura 20. Peso seco das raízes de plantas de *Leucaena leucocephala* após 180 dias de crescimento sob diferentes concentrações de níquel.

O teste de ANOVA (Tabela 08) ainda demonstrou, estaticamente, que não houve variação nos resultados obtidos, não apresentando diferença significativa entre os tratamentos e confirmando a hipótese de que não houve interferência das diferentes concentrações de níquel sobre o desenvolvimento das raízes, ressaltando, ainda, que a pequena diferença numérica obtida entre os tratamentos é em relação ao grupo controle dos demais tratamentos, sendo praticamente iguais os resultados nos tratamentos que receberam a aplicação das soluções de níquel.

Tabela 08 - Resultado da análise de variância (Anova), com 95% de grau de confiança, para o parâmetro peso seco das raízes de plantas de *Leucaena leucocephala*, aos 180 dias de crescimento em diferentes concentrações de níquel.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	3,6698684	3	1,223289	2,94362	0,064682	3,238872
Dentro dos grupos	6,6491716	16	0,415573			
Total	10,31904	19				

A alta retenção de metais pesados nas raízes demonstra que estas são o primeiro alvo da toxicidade dos metais e, portanto, exercem um papel determinante na adaptação das espécies não tolerantes à contaminação do solo por estes elementos (ARDUINI et al., 2006).

Portanto, devido não haver diferença significativa entre os diferentes tratamentos e pela similaridade dos resultados, pode-se afirmar que as diferentes concentrações de níquel não interferiram de forma expressiva na produção de matéria seca das raízes, mostrando que as raízes não foram prejudicadas pelo contato com as altas concentrações de níquel e que ainda se desenvolveram consideravelmente, tornando-se promissor o seguinte resultado na busca de identificar possíveis espécies que suportem a contaminação por metais pesados que, neste caso, se refere ao níquel.

3.7 SUBSTRATO

O substrato é o componente inicial e prioritário para análise de qualidade ambiental, pois abarca todas as estruturas e organismos envolvidos na reestruturação, além de conter o principal reflexo negativo da degradação (carência de componentes e nutrientes necessários, microbiota ausente ou deficiente, presença de contaminantes, compactação e outros). A qualidade do solo influencia funções básicas como o movimento, disponibilidade e redistribuição de água e solutos, retenção e ciclagem de nutrientes, filtração, tamponamento, imobilização e transformação de materiais orgânicos e inorgânicos, crescimento radicular e resistência à erosão, dentre outros atributos (KARLEN et al., 1997; SCHOENHOLTZ et al., 2000).

Ao final do experimento II foi realizada a coleta de amostras do substrato no qual as plantas de *L. leucocephala* se desenvolveram durante o período experimental, visando avaliar a quantidade de níquel que permaneceu no solo após o desenvolvimento das plantas. Os resultados demonstraram que não houve diferença significativa entre os tratamentos (Figura 21). Assim, levando em consideração a grande concentração de níquel que foi aplicada nos tratamentos, pode-se afirmar que grande parte da solução de níquel aplicada nas plantas, possivelmente foi absorvida do substrato pelas mesmas.

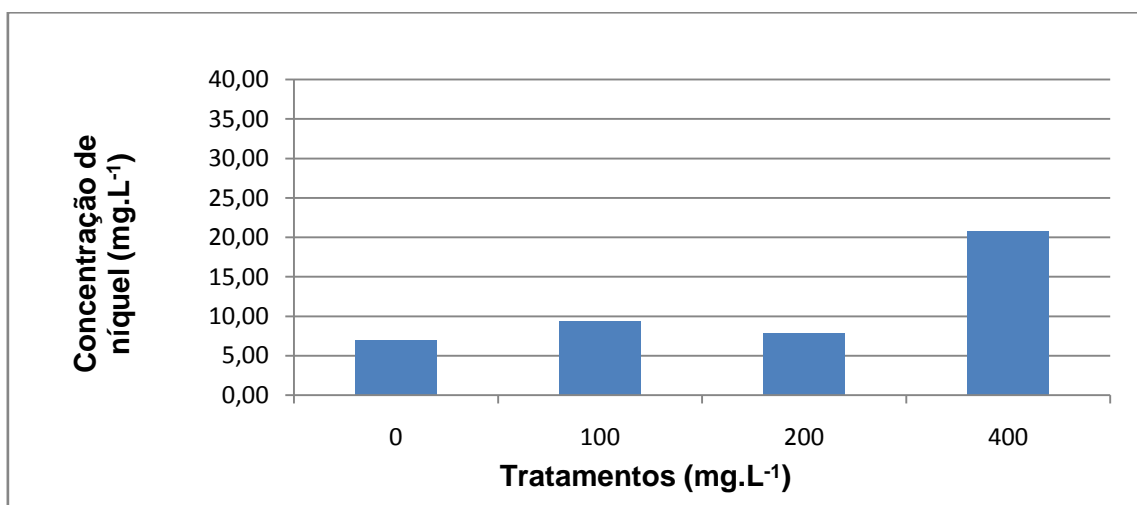


Figura 21. Concentração de níquel permanente no substrato aos 180 dias após o período de desenvolvimento das plantas de *Leucaena leucocephala*, sob as diferentes concentrações de níquel.

Apesar da diferença numérica apresentada, principalmente no tratamento com 400 mg.L^{-1} , o teste de ANOVA (Tabela 09) confirma que estatisticamente não houve diferença significativa entre os diferentes tratamentos, sugerindo que em todos os tratamentos houve grande absorção da solução de níquel aplicada, seguindo a mesma tendência dos resultados obtidos anteriormente nos diferentes parâmetros avaliados.

Tabela 09 - Resultado da análise de variância (Anova), com 95% de graus de confiança, para o parâmetro substrato com plantas de *Leucaena leucocephala* sob diferentes concentrações de níquel, aos 180 dias.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	375,8492	3	125,2831	1,225962	0,361804	4,066181
Dentro dos grupos	817,5333	8	102,1917			
Total	1193,383	11				

Ao analisar a quantidade de níquel que foi aplicada no substrato inicialmente, nos diferentes tratamentos e a quantidade que permaneceu no final do experimento, pode-se afirmar que as plantas de *L. leucocephala* foram responsáveis por absorver grande parte do níquel aplicado em solução, revelando que esta espécie possui grande capacidade em absorver e acumular no seu organismo elevadas concentrações do metal pesado níquel sem que haja danos a sua fisiologia e desenvolvimento.

De acordo com Seth (2012), a expressão de muitos genes tem sido associada à captação de metais pesados, translocação, acumulação, resistência e desintoxicação. Entretanto, há um consenso crescente de que as plantas também devem tolerar os metais que se acumulam; assim, ser capaz de lidar com altas concentrações de metais nos seus tecidos (BAKER et al., 1994).

A secreção de ácido málico para a zona da raiz desempenha um papel importante no sentido de facilitar a captação de Ni pelas raízes das plantas e,

assim, minimizar a toxicidade de Ni nas células das raízes e demais órgãos das plantas resistentes a este metal pesado (LEUNG, 2013). Este fato está correlacionado com a variação natural nas sequências de DNA no Heavy Metal ATPase 3 (HMA3), local que codifica a proteína HMA3, um transportador envolvido no sequestro de metais pesados como o Cd em vacúolos (PARK et al., 2012).

Os transportadores específicos para hiperacumulação de Ni ainda não foram reconhecidos. No entanto, existe uma maior preferência de algumas hiperacumuladoras em acumular o Zn e Ni, sugerindo fortemente que um sistema de transporte de Zn também pode ser utilizado para entrada de Ni nas raízes (ASSUNÇÃO et al., 2008).

Diferentemente de plantas não-hiperacumuladoras, que retêm nas células das raízes a maior parte dos metais pesados absorvidos do solo (desintoxicados por quelatação no citoplasma ou armazenando-os em vacúolos), as hiperacumuladoras translocam esses elementos para a parte aérea de forma rápida e eficiente, através do xilema. A aprimoração do xilema na carga e translocação de metal para a parte aérea, é um passo fisiológico fundamental na hiperacumulação que representa o aumento do fluxo de metal para o caule e folhas, onde os metais são desintoxicados e armazenados (MONFERRÁN & WUNDERLIN, 2013).

Isso envolve a disponibilidade de metais pesados para o transporte do xilema, que deriva de um sequestro em baixo fluxo para fora dos vacúolos, plausivelmente devido a características específicas de células das raízes (LASAT et al., 2000). Uma vez no xilema, os metais quelados são geralmente de ácidos orgânicos, tais como histidina (KRAMER et al., 1996), nicotianamina (NA), citrato e malato ou oxalato (SENDEN et al., 1995).

Entre estes, a histidina tem sido geralmente relatada que está envolvida no transporte de longa distância (raiz-caule) de Ni através do xilema, tal como na hiperacumuladora de Ni *Alyssum lesbiacum* (KRAMER et al., 1996), provavelmente, também em *Thlaspicae rulescens* (MOREL et al. 2009).

Kramer et al. (1996) mostraram que aplicando exogenamente Ni para aumentar o teor de Ni nas plantas de *A. lesbiacum*, houve um aumento nos níveis de histidina livres, provocando o alongamento das raízes e o aumento de

biomassa nas plantas (tolerância Ni).

Esta eficiência na desintoxicação e sequestro de metais pesados é uma propriedade fundamental de plantas hiperacumuladoras, permitindo-lhes concentrar grandes quantidades de metais pesados nos órgãos aéreos sem efeito fitotóxico aparente. Esta acumulação de metais pesados excepcionalmente elevada se torna ainda mais surpreendente, considerando que ele ocorre principalmente nas folhas, onde a fotossíntese, essencial para a sobrevivência da planta, é realizada e que o aparato fotossintético é um alvo importante para a maioria destes contaminantes (MONFERRÁN & WUNDERLIN, 2013).

Uma vez os metais pesados atingindo os seus destinos-alvo, em seguida, eles precisam ser armazenados. Sendo que, os vacúolos das células da folha são os principais locais de seqüestro do excesso de metais essenciais e não-essenciais (VOGELI-LANGE & WAGNER 1990).

Dessa forma, novos estudos devem ser elucidados buscando comprovar mais profundamente os mecanismos de absorção e armazenamento do níquel pela leucena, além da investigação do nível máximo de resistência e descontaminação que a espécie possui, pois não foi possível identificar a quantidade máxima de níquel que a espécie suporta em seu organismo, considerando que em todos os tratamentos e parâmetros analisados os resultados foram considerados satisfatórios, não afetando o desenvolvimento das plantas e não apresentando danos aparentes, demonstrando que a leucena possui significativo nível de resistência ao níquel e que se torna candidata a ser considerada uma espécie hiperacumuladora de Ni.

CONCLUSÃO

A aplicação de diferentes dosagens de níquel no substrato de germinação e crescimento inicial das plantas de *Leucaena leucocephala* não interferiu significativamente o desenvolvimento e o crescimento das mudas em condições de viveiro, em todos os parâmetros analisados (germinação, altura, diâmetro do caule, número de folhas, peso seco aéreo e subterrâneo, solo), sendo os resultados considerados satisfatórios.

Apesar de apresentar pequena diferença numérica no crescimento e no desenvolvimento das plantas do tratamento controle (0 mg.L^{-1}) de às plantas que receberam doses da solução de níquel, as mesmas não apresentaram danos aparentes e se desenvolveram significativamente com valores bem aproximados entre si, revelando que a leucena suporta, em seu organismo, elevadas concentrações do metal pesado níquel sem que haja danos à sua fisiologia e desenvolvimento.

Assim, torna-se promissora a utilização desta espécie em processos de fitorremediação de áreas contaminadas por metais pesados, sendo uma alternativa econômica e sustentável para a recuperação dessas áreas.

Entretanto, é necessária a realização de novos e aprofundados estudos que avaliem quais órgãos da planta o níquel possa estar sendo absorvido e acumulado, além de investigar qual o valor máximo de teores de níquel que a espécie suporta em seu organismo, pois esse valor não foi encontrado e em todas as concentrações aplicadas nas plantas de *Leucaena leucocephala* o níquel não provocou danos e não impediu o desenvolvimento e crescimento das mesmas.

REFERÊNCIAS

- ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. **Contaminação química e biorremediação do solo**. Tópicos em Ciência do Solo, 1:299-351, 2000.
- ALLOWAY, B.J. **Heavy metals in soils**. New York: John Wiley, 1993. 339p.
- ALLOWAY, B.J. **Heavy metals in soils**. London, Blackie Academic, 1995. 368p.
- ALLOWAY, B.J; AYERS, D. C. **Chemical principles of environmental pollution**. 2 ed. CRC Press. 395 p.1996.
- ANDRADE, J. C. M. **Fitotransporte de metais em espécies arbóreas e arbustivas em aterro de resíduos sólidos urbanos**. Rio de Janeiro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2005, 246 p. (Tese de Doutorado).
- ANSELMO, A. L. F.; JONES, C. M. **Fitorremediação de solos contaminados: O estado da arte**. Encontro Nac. de Eng. de Produção, 25º, Porto Alegre, RS, Brasil, 29 out a 01 de nov de 2005.
- ARDUINI, I.; GODBOLD, D. L. & ONNIS, A. Cadmium and copper uptake and distribution in Mediterranean tree seedlings. **Physiol. Plant.**, v. 97, p. 111-117, 1996.
- ARNON, D.I. Ammonium and nitrate nitrogen nutrition of barley and rice at different seasons in relation to hydrogen ion concentrations, manganese, copper and oxygen supplied. **Soil Science**, v. 44, n. 2, p. 91-121, 1937.
- ARNON, D.I.; STOUT, P. R. The essentiality of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper. **Plant Physiology**, v. 14, n. 2, p. 371-375, 1939.
- ASSUNÇÃO, A. G. L.; BLEEKER, P.; TEM BOOKUM, W. M.; VOIJS, R.; SCHAT, H. Intraspecific variation of metal preference patterns for hyperaccumulation in *Thlaspi caeruleum*: evidence for binary metal exposures. **Plant Soil** 303:289-299. 2008.

BAIRD, C. **Química ambiental**. 2.ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. 622p.

BAKER, A. J. M.; REEVES, R. D.; HAJAR, A. S. M. Heavy metal accumulation and tolerance in British populations of the metallophyte *Thlaspicacae rulescens* J. and *C. Presl* (Brassicaceae). **New Phytol**: 127:61-68. 1994.

BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, Ch. Respuestas de las plantas a la contaminación por metales pesados. **Suelo y Planta**, 2:345- 361, 1992.

BENINCASA, M. M. P.; LEITE, I. C. **Fisiologia vegetal**. Jaboticabal, SP: FUNEP, 2004. 169 p.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas: Noções básicas**. 2ª ed. Funep, Jaboticabal, Brasil, 2003. 41p.

BISSANI, C. A.; CAMARGO, F. A. O.; FERREIRA, A. S.; Tedesco, M. J. Alterações de atributos químicos e biológicos de solo e rendimento de milho e soja pela utilização de resíduos de curtume e carbonífero. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.4, n.27, p.755-763, 2003.

BORGES, R. C. **Aplicação de Resíduo URA na remediação química de solos contaminados por Cd, Pb e Zn**. Seropédica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2007. (Dissertação de Mestrado). p. 95.

BROWN, P. H.; WELCH, R. M.; CARY, E. E. Nickel: a micronutrient essential for higher plants. **Plant Physiology**, v. 85, n. 3, p. 801-803, 1987.

CAMPOS, M. L.; GUILHERME, L. R. G.; LOPES, R. S.; ANTUNES, A. S.; MARQUES, J. J. G. S. M.; CURI, N. Teor e capacidade máxima de adsorção de arsênio em latossolos brasileiros. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, p.1311-1318, 2007

CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Manual de gerenciamento de áreas contaminadas: Legislação brasileira / Dorothy C. P. Casarini [et al.]. São Paulo: **Série Relatórios Ambientais**, 09 p., 1999.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Relatório Estabelecimento de Valores Orientadores para Solo e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo**. São Paulo, 2005. Disponível em <

HTTP: [//www.cetesb.sp.gov.br/Solo/relatórios/tabela_valores_2005.Pdf](http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/relatórios/tabela_valores_2005.Pdf)>. Acesso em 10 de set. 2014.

CLEMENS, S. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. **Planta**, v. 212, p.475-486, 2006.

CHANG, A. C.; PAGE, A. L.; WARNEKE, J. E.; GRGUREIV, E. Sequential extraction of soil heavy metals following a sludge application. **Journal Environmental Quality**, v.13, n.1, p.33-38, 1994.

COLAUTTI, R.I.; MACISAAC, H.J. A neutral terminology to define 'invasive' species. **Diversity and Distributions** 10:135-141. 2004.

COLL, J.B. **Fisiologia vegetal**. Madrid: Editora Pirâmide, 2001. 566p.

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 420/09. Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. 2009.

CORDEIRO, A.; SALATINO, A. Efeito do pH na nodulação em leucena (*Leucaenaleucocephala* (Lim.) de Wit.). **Revista Brasileira de Botânica**, 18: 191-195. 1995.

CUNNINGHAM, S.D., BERTI, W.R. Remediation of contaminated soils with green plants: an overview. **In Vitro Cellular and Developmental Biology**, 29:207-212. 1993.

CUNNINGHAM, S. D., ANDERSON, T. A., SCHWAB, P. and HSU, F. C., **Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants**. Adv. Agron.(56) p. 55. 1996.

CUTLER, D.F.; BOTHA, T.; STEVENSON, D.W. **Anatomia vegetal**. Porto Alegre, RS: ArtMed, 2011. 304 p

DAEHLER, C.C. Two ways to be an invader, but one is more suitable for ecology. **Bulletin of the Ecological Society of America** 82:101-102. 2001.

DAVIS, M.A.; THOMPSON, K. Invasion terminology: should ecologists define their terms differently than others? No, not if we want to be of any help! **Bulletin on the Ecological Society of America** **82**:206.2001.

DINARDI, A. L.; FORMAGI, V. M.; CONEGLIAN, C. M. R.; BRITO, N. N.; TONSO, S; PELEGRINI, R. **Fitorremediação**. Fórum de Estudos Contábeis, 3º, 2003. Rio Claro, 2003.

DICKINSON, N. M.; LEPP, N. W. Metals and trees: impacts, responses to exposure and exploitation of resistance traits. In: Prost R, editor. **Contaminated soils: the 3rd International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements**. Paris: INRA. p. 247-54. 1997.

DIXON, N. E.; GAZZOLA, C.; BLAKELEY, R. L.; ZERNER, B. Jack bean urease (EC 3.5.1.5) a metalloenzyme: simple biological role for nickel. **Journal of the American Chemical Society**, v. 97, n. 14, p. 4131-4133, 1975.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A.J. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. 2ª ed. Londrina: Editora Planta, 2006. 403p.

ESKEW, D. L.; WELCH, R. M.; CARY, E. E. Nickel: an essential micronutrient for legumes and possibly all higher-plants. **Science**, v. 222, n. 4624, p. 621-623, 1983.

ESKEW, D. L.; WELCH, R. M.; NORVELL, W. A. Nickel in higher plants: further evidence for an essential role. **Plant Physiology**, v. 76, n. 3, p. 691-693, 1984.

FIEMG - Federação das Indústrias do Estado de Minas Gerais. Gerenciamento de Áreas Contaminadas: conceitos e informações gerais. Disponível em <http://www.em.ufop.br/ceamb/petamb/cariboost_files/cartilha_ar_eas_contaminadas_fiemg.pdf> Acesso em 20/10/2014.

FOYER, C. H.; LOPEZ-DELGADO, H.; DAT, J. F.; SCOTT, I. M. Hydrogen peroxide and glutathione associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signaling. **Physiologia Plantarum**. V. 100, p. 241-254, 1997.

FRANCO, A. A.; FARIA, S. M. The contribution of N₂ fixing tree legumes to land reclamation and sustainability in the tropics. **Soil Biology and Biochemistry** **29**(5/6):897-903.1997.

GARCIA, C.; HERNANDEZ, T.; COSTA, F. "The influence of composting and maturation process on the heavy-metal extractability from some organic wastes". **Biol. Wastes**, v.31, pp. 291 – 301. 1990.

GARDNER, J. **Rehabilitación de minas para el mejor uso del terreno**; La minería de bauxita em el bosque de Jarrah de Australia Occidental. Unasyuva, Roma, v. 52, n. 207, p. 3-8, 2001.

GRAZZIOTTI, P. H.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Espécies arbóreas e ectomicorrizas em relação ao excesso de metais pesados. **Tópicos em Ciência do Solo**, v. 5, p. 55-105. 2003.

GUILHERME, L. R. G. **Poluição do solo e qualidade ambiental**. In: Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 27. 1999. Brasília. Anais...Brasília: SBCS, 1999, CD-Rom.

GUSSARSSON, M.; ADALSTEINSSON, P.J.; ASP, H. Cadmium and copper interactions on the accumulation and distribution of Cd and Cu in birch (*Betula pendula* Roth) seedlings. **Plant and Soil**, 171:185-187, 1995.

HALL, J.L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. **Journal of experimental botany**. 53:1–11. 2002.

HALL, J.L., WILLIAMS, L.E. Transition metal transporters in plants. **Journal of experimental botany**. 54:2601–2613. 2003.

HUANG, J. W.; CUNNINGHAM, S. D. **Lead phytoextraction: species variation in lead uptake and translocation**. New Phytologist, 134: 75-84, 1996.

IARC - International Agency for Research on Cancer. **Níquel: Conheça sua importância, os riscos e como lidar com esse metal**. Lyon, 2014. Disponível em: < <http://www.ecycle.com.br/component/content/article/67-dia-a-dia/1840/niquel-caracteristicas-consumo-contato-bijuterias-alimentacao-exposicao-impacto-efeito-riscos-toxico-saude-sensibilidade-doencas-cancer-contaminacao-extracao-mineracao-poluicao-degradacao> > acesso em 20/11/2014.

Instituto Horus de Desenvolvimento e Conservação Ambiental/The Nature Conservancy. *Leucaena leucocephala*. 2008. Disponível em:

http://www.institutohorus.org.br/download/fichas/Leucaena_leucocephala.htm
(Acesso em 29/06/2014).

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. Trace elements in soils and plants. 2.ed. **Boca Raton**: CRC Press, 1992. 413p.

KAHLE, H. Response of roots of trees to heavy metals. **Environmental and Experimental Botany**, v. 33, p.99-199, 1993.

KARLEN, D.L., MAUSBACH, M.J., DORAN, J.W., CLINE, R.G., HARRIS, R.F.,

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

KRÄMER, U. Phytoremediation: novel approaches to cleaning up polluted soils. **Current Opinion in Biotechnology**, 16:133–141. 2005.

KRÄMER, U.; COTTER-HOWELLS, J. D.; CHARNOCK, J. M.; BAKER, A. J. M.; SMITH, J. A. C. Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel. **Nature** 379:635–638. 1996.

KRUPA, Z.; SIEDLECKA, A.; MAKSYMIEC, W.; BASZYNSKI, Y.T. In vivo response of photosynthetic apparatus of *Phaseolus vulgaris* L. to nickel toxicity. **Journal of Plant Physiology**, v.142, p.664-668, 1993.

KUMAR, P.B.A.N., DUSHENKOV, V., MOTTO, H., RASKIN, I. Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soils. **Environmental Science and Technology**, 29: 1232-1238. 1995.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos, SP: Editora RIMA. p.531 – 464. 2000.

LASAT, M. M.; PENCE, N.S.; GARVIN, D.F.; EBBS, S. D.; KOCHIAN, L. V. Molecular physiology of zinc transport in the Zn hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. **J Exp Botany** 51: 71-79. 2000.

LEUNG, D. W. M. Intraspecific variation in metal tolerance of plants. **Heavy Metal Stress in plants**: Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. 2013. p.163-170.

MA, Y.; DICKINSON, N.M.; WONG, M.H. Interactions between earthworms trees, soil nutrition and metal mobility in amended Pb/Zn mine tailings from Guangdong, China. **Soil Biology & Biochemistry**, 35: 1369–1379.2003.

MACEDO, F. G.; LAVRES Jr., J. **Disponibilidade de níquel no sistema solo-planta: efeito de doses e saturações por bases**. Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA). Universidade de São Paulo (USP). Piracicaba, SP, Brasil. 2012. p. 42-96.

MACNAIR, M. R.; BAKER, A. J. M. Metal-tolerant plants: An Evolutionary perspective. In: FARAGO, M. E. **Plants and the chemical elements: biochemistry, uptake, tolerance and toxicity**. Weinheim: VCH, 1994. p.67- 85.

MARTINS, S.V. **Recuperação de áreas degradadas**: ações em áreas de preservação permanente, voçorocas, taludes rodoviários e de mineração. 3ª ed. Viçosa: Aprenda fácil Editora, 2013. 264p

MEIRELLES, L. **Os metais tóxicos e seus efeitos deletérios**. 2004. Disponível em: <<http://www.nutricaoImdiets@estado.com.br/>>. Acesso em: 28 ago. 2014.

MISHRA, D.; KAR, M. Nickel in plant growth and metabolism. **Botanical Review**, v. 40, n. 4, p. 395-452, 1974.

MITCHELL, R.L. Cobalt and nickel in soils and plants. **Soil Science**, v.60, p.63-70, 1945.

MOHR, H.; SCHOPFER, P. **Plant physiology**. Berlin: Springer-Verlag, 1995. 629p.

MONFERRÁN, M. V.; WUNDERLIN, D. A. Biochemistry of metal/metalloids toward remediation process. **Heavy Metal Stress in plants**: Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. 2013. p.43-60.

MONTEIRO, M. T. Fitorremediação de rejeito contaminado proveniente do

canal do fundão na baía da Guanabara-RJ. **Tese de doutorado**. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2008.p. 38-73.

MOREL, M.; CROUZET, J.; GRAVOT, A.; AUROY, P.; LEONHARDT, N.; VAVASSEUR, A.; RICHAUD, P. AtHMA3, a P1B-ATPase allowing Cd/Zn/Co/Pb vacuolar storage in Arabidopsis. **Plant Physiol** 149:894–904. 2009.

MULLIGAN, C. N.; YONG, R. N.; GIBS, B. F. Remediation Technologies for Metal Contaminated soils and groundwater: an evaluation. **Engineering Geology**, v. 60, p. 193-207, 2001.

NASCIMENTO, C. W. A.; XING, B. **Phytoextraction: a review on enhanced metal availability and plant accumulation**. Scientia Agricola, v. 63, p. 299-311, 2006.

NRIAGU, J.O.; PACYNA, J.M. Quantitative assessment of worldwide contamination of air, waters, and soils with trace metal. **Nature**, v.333, p.134-139, 1988.

PARK, J. H.; BOLAN, N.; MEGHARAJ, M.; NAIDU, R. Relative value of phosphate compounds in reducing the bioavailability and toxicity of lead in contaminated soils. **Water Air Soil Pollut.** 223, 599-608. 2012.

PARROTA, J. A. ***Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. Leucaena, tantan**. New Orleans: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. 1992. 8p.

PATRICIO, R. L. **Avaliação de Métodos de Revegetação de Áreas Degradadas Utilizados na Mineração de Níquel em Niquelândia, Goiás**. Brasília, Universidade Católica de Brasília, 2009. (Dissertação de Mestrado).p. 35-47.

PESSOA, Y. M. P. Crescimento inicial de espécies arbóreas em substrato impactado por resíduo industrial Alcalino rico em zinco. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, Março, 2010.p. 70.

PRASAD, M. N. V. **Nickelophilous plants and their significance in phytotechnologies**. Bras. J. Plant. Physiol., 17(1): 113-128. Índia, 2005.

PULFORD, I. D.; WATSON, C. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees—a review. **Environment International**, 29(4):529-540, July. 2003.

RASKIN, I., KUMAR, P.B.A.N., DUSHENKOV, S., SALT, D.E. Bioconcentration of heavy metals by plants. **Current Opinion in Biotechnology**, 5:285–90. 1994.

REJMÁNEK, M. Biological invasions: politics and the discontinuity of ecological terminology. **Bulletin of the Ecological Society of America** 83:131-133. 2002.

RESENDE, A. V.; KONDO, M. K. Leguminosas e recuperação de áreas degradadas. **Informe Agropecuário** 22(210):46-56. 2001.

RICHARDSON, D.M., PYSEK, P., REJMÁNEK, M., BARBOUR, M.G., PANETTA, F.D. & WEST, C.J. Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. **Diversity and Distributions** 6:93-107. 2000.

SALGADO, P. E. T. Toxicologia dos metais. In: OGA, S. **Fundamentos de toxicologia**. São Paulo, 1996. cap. 3.2, p. 154-172.

SALT, D.E., BLAYLOCK, M., KUMAR, N.P.B.A., VIATCHESLAV, D., ENSLEY, B.D. et al. Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. **Bio-Technology**, 13: 468–74. 1995.

SALT, D.E., SMITH, R.D., RASKIN, I. Phytoremediation. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, 49 : 643-668. 1998.

SANTOS, F. S. Chemical amendment and phytostabilization of an industrial residue contaminated with Zn and Cd. **ScientiaAgricola**, v. 64, n. 05, p. 506-512, 2007.

SANTOS, G. C. G. dos; RODELLA, A. A. Poluição do solo e qualidade ambiental. USP/ESALQ. **Revista Brás. Ci. Solo**, v. 31, p. 793-804, 2007.

SANTOS, F. S.; AMARAL SOBRINHO, N. M. B.; MAZUR, M. Mecanismos de tolerância de plantas a metais pesados. In: FERNANDES, M. S. **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência e Solo, 2006.

C. XVI, p.420-432.

SCHOENHOLTZ S.H., VAN MIEGROET, H., BURGER J. A. A review of chemical and physical properties as indicators of forest soil quality: challenges and opportunities. **Forest Ecology and Management**, 138:335-356. 2000.

SCHOFIELD, E.K. Effects of introduced plants and animals on island vegetation: examples from the Galapagos Archipelago. **Conservation Biology** 3:227-238.1989.

SENDEN, M. H. M. N.; VERBURG, A. J. G. M.; VAN DER MEER, T. G.; WOLTERBEEK, H. T. Citric acid in tomato plant roots and its effect on cadmium uptake and distribution. **Plant Soil** 171:333–339. 1995.

SETH, C. S. A review on mechanisms of plant tolerance and role of transgenic plants in environmental clean-up. **Bot. Rev.** 78, 32–62. 2012.

SHAW, A. J. **Heavy metal tolerance in plants: Evolutionary aspects**. New York, CRC Press, 1989. 355p.

SOARES, C. R. F. S.; SIQUEIRA, J. O.; CARVALHO, J. G.; MOREIRA, F. M. S. & GRAZZIOTI, P. H. Crescimento e nutrição mineral de *Eucalyptus maculata* e *Eucalyptus urofilaem* solução nutritiva com concentração crescente de cobre. **Rev. Bras. Fisiol. Veg.**, v. 12, p. 213-225, Dez., 2000.

SOARES, C. R. F. S.; ACCIOLY, A .M. A.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Toxicidade de Zn no crescimento e nutrição de *Eucalyptus maculata* e *Eucalyptus urofilaem* solução nutritiva. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, p. 339-348, 2001.

SOARES, M. R. **Coeficiente de distribuição (Kd) de metais pesados em solos do estado de São Paulo**. Piracicaba, Universidade de São Paulo, 2004. (tese Doutorado).P. 202.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Ed. Artimed, 5a edição. Porto Alegre, 2013. p. 120-132.

TAVARES, T. M.; CARVALHO, F. M. **Avaliação da exposição de populações**

humanas a metais pesados no ambiente: Exemplos no Recôncavo Baiano. Química Nova, v.5, n.2, p.147-153, 1992.p. 80-93.

TAVARES, S. R. L. **Fitorremediação em Solo e Água de Áreas Contaminadas por Metais Pesados Provenientes da Disposição de Resíduos Perigosos.** Programa de Pós-graduação em Engenharia Civil. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2009. (Tese de Doutorado).

VERKLEIJ, J.A.C.; PAREST, J.E. Cadmium tolerance and co-tolerance in *Silene vulgaris* (Moench.) Garcke [*S. cucubalus*(L.) Willb.]. **The New Phytologist**, 111:637-645, 1989.

VITOUSEK, P. Biological invasions and ecosystem properties: can species make a difference? Pp 163-176 in H.A. Mooney & J.A. Drake (eds.) **Ecology of biological invasions of North America and Hawaii.** Springer-Verlag, New York. 1986.

VÖGELI-LANGE, R.; WAGNER, G. J. Subcellular localization of cadmium and cadmium-binding peptides in tobacco leaves. Implication of a transport function for cadmium-binding peptides. **Plant Physiol** 92:1086–1093. 1990.

WHITE, P.J.; GREENWOOD, D.J. Properties and management of cationic elements for crop growth. In: GREGORY, P.J.; NORTCLIFF, S. **Soil Conditions and Plant Growth.** Oxford: Blackwell publishing, 2013. p.160-194.

WOOD, B. W.; REILLY, C. C.; NYCZEPIR, A. P. Mouse-ear of pecan: II. Influence of nutrient applications. **Hort Science**, v. 39, n. 1, p. 95-100, 2004.

YANES, C.V. **La reproducción de las plantas:** semillas y meristemas. México: FCE, 1997. 167p.

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

ZEITOUNI, C. F. Eficiência de espécies vegetais como fitoextratoras de cádmio, chumbo, cobre, níquel e zinco de um latossolo vermelho amarelo distrófico. **Dissertação de mestrado.** Instituto Agronômico de Campinas. São Paulo, 2003. P. 55-78