



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

Departamento de Botânica

Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal



POTENCIAL PARA O USO DA ESPÉCIE NATIVA, *Baccharis dracunculifolia* DC (ASTERACEAE) NA FITORREMEDIAÇÃO DE ÁREAS CONTAMINADAS POR ARSÊNIO

LÍVIA HORTA GILBERTI

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal, Área de Concentração Botânica Aplicada.

BELO HORIZONTE – MG

2012



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Departamento de Botânica

Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal



POTENCIAL PARA O USO DA ESPÉCIE NATIVA, *Baccharis dracunculifolia* DC (ASTERACEAE) NA FITORREMEDIAÇÃO DE ÁREAS CONTAMINADAS POR ARSÊNIO

LÍVIA HORTA GILBERTI

GERALDO WILSON FERNANDES
ORIENTADOR

GEORGE UEMURA
CO-ORIENTADOR

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal, Área de Concentração Botânica Aplicada.

BELO HORIZONTE – MG

2012

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me conceder força, perseverança e saúde em todos os momentos da minha vida e por nunca desistir de mim. Ao meu anjo da guarda por me proteger e me guiar.

Aos meus pais, pelo amor incondicional, por sempre acreditarem em mim, por me ensinarem a cada dia que não há vitória sem luta e pelas sábias palavras de incentivo: força, capacidade e destreza!

Ao meu noivo, pelo amor e carinho, pelos conselhos, paciência e companheirismo. Não foi a toa que o escolhi para passar juntos todos os próximos anos de nossas vidas. À sua família, agora minha também, por terem me acolhido tão bem.

Ao meu irmão e cunhada (Aline), pelas palavras de incentivo e pela torcida de sempre. À minha família e amigos por compreenderem a minha ausência, pelos pensamentos positivos e orações.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu orientador Geraldo W. Fernandes pela oportunidade, pela orientação, pelas idéias inovadoras, pelas discussões e dificuldades, que me fizeram crescer em todos os sentidos. Ao prof. Ricardo Berbara e equipe, pela dedicação, esforço e qualidade de trabalho.

Às professoras Aristéa Azevedo e Luzia Modolo, membros da banca examinadora, que se dispuseram a criticar o trabalho e por terem adequado suas datas e compromissos para participarem da minha defesa.

À Maria Eleonora Deschamps pelo incentivo e por ter me apresentado a Sandra Oberdá, que tive o prazer de conhecer embora tenha convivido por tão pouco tempo. Agradeço por dispor do seu tempo para me levar à Nova Lima e por contar com tanto orgulho, toda história do trabalho desenvolvido por lá. Aos moradores da comunidade do bairro do Galo em Nova Lima por terem aberto suas casas e pelas prosas simples e sinceras.

A todos do corpo docente do Departamento de Botânica da UFMG. À Prof^a. Denise, em especial, que me conquistou de imediato por todas suas qualidades, pelo apoio e por ter me atendido sempre com presteza em tudo que me foi necessário. Aos profs. Marcel e Luzia, por me permitirem usar equipamentos em seu laboratório, pela solicitude e gentileza.

A todos os colegas da PGBOT que tive o prazer de conviver, pelas trocas de experiência dentro e fora da Universidade. Ao Renê pela presteza e boa vontade em corrigir meus abstracts. Ao colega Marcelo Gomes, pelas dicas e conselhos, por toda ajuda e confiança. A Luciana Seabra, Marcos Hanashiro, Advânio, Vanessa Pontara e Deborah Kufner pelas palavras de incentivo nos momentos certos.

Aos amigos do Leeb e em especial aos meus estagiários Ana Claudia, Alison e Diego, pela força que me deram o tempo todo, pela disposição e interesse em aprender e contribuir. À Fabíola, Kátia, Ana Carolina, Vanessa, Babi, Milton e Daniela que fizeram parte do batalhão que me ajudou a triar todas as plantinhas. À Janaína pelo auxílio e gentileza. Ao Lelê pelos ensinamentos de sempre e por não medir esforços para me ajudar.

Aos meus bichinhos amados Lisa, Gold, Marrom, Victoria, Clarinha e Negão, pelo amor e companhia e ao sítio do velho guerreiro por me proporcionar momentos de paz e inspiração para escrever grande parte desta dissertação.

A todas as *Baccharis dracunculifolia* que me possibilitaram a realização deste estudo. À mãe natureza, sempre tão sábia e detentora de recursos fantásticos que ainda nem imaginamos existirem, pois ainda temos muito o que estudar e aprender com ela.

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	5
Capítulo I - Efeitos do arsênio na germinação e plântulas de <i>Baccharis dracunculifolia</i> DC (Asteraceae)	8
RESUMO	8
ABSTRACT	8
INTRODUÇÃO	9
MATERIAL E MÉTODOS	11
RESULTADOS	14
Efeitos do arsênio na germinação de sementes	14
Efeitos do arsênio nos estágios iniciais de crescimento	16
DISCUSSÃO	21
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
Capítulo II - Efeitos do arsênio no crescimento, acúmulo, distribuição e potencial fitorremediador de <i>Baccharis dracunculifolia</i> DC (Asteraceae)	30
RESUMO	30
ABSTRACT	30
INTRODUÇÃO	31
MATERIAL E MÉTODOS	34
A espécie selecionada	34
Área de ocorrência e coletas de campo	34
Condução dos experimentos	35
RESULTADOS	38
Análise de solo e plantas coletadas na área em estudo	38
Biomassa, Crescimento e Arsênio (experimentos em casa de vegetação)	39
Acúmulo e distribuição de arsênio	46
Translocação e Bioacumulação de Arsênio	49
Distribuição de macro e micro nutrientes	51
DISCUSSÃO	56
CONSIDERAÇÕES FINAIS	63

RESUMO

GILBERTI, Livia H. **Potencial para o uso de *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) na fitorremediação de áreas contaminadas por arsênio.** 2012. 68p. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal). Universidade Federal de Minas Gerais, BeloHorizonte, MG, Brasil.

O arsênio (As) é um elemento abundante na crosta terrestre e encontra-se normalmente em concentração inferior a 10 mg.kg^{-1} em solos não contaminados. A ocorrência antropogênica do arsênio se dá principalmente pelas atividades mineradoras. Devido a sua elevada toxicidade à contaminação do solo, águas e a toda comunidade biológica, sua contaminação caracteriza-se como um problema ambiental grave que necessita do uso de técnicas de remediação. Na busca por tecnologias eficientes, de baixo custo e de simples execução, cresce o interesse pelo uso de plantas capazes de remover ou diminuir a disponibilidade deste elemento no ambiente, técnica esta, denominada fitorremediação. Neste contexto, para identificar espécies potencialmente aptas à restauração de áreas contaminadas, este estudo utilizou a espécie *Baccharis dracunculifolia* como modelo, objetivando-se avaliar (1) o grau de resistência de *B. dracunculifolia* ao As; (2) caracterizar os mecanismos de resistência e sensibilidade envolvidos e assim avaliar o potencial desta espécie como fitorremediadora de áreas contaminadas com As. Os experimentos foram realizados em laboratório e casa de vegetação, na Universidade Federal de Minas Gerais. Os tratamentos consistiram na aplicação de uma solução de As na forma de arseniato de sódio, sob as seguintes concentrações: 0, 5, 10, 25, 50, 100 e 200 mg.L^{-1} . Este estudo foi desenvolvido em duas etapas. Na primeira, foram conduzidos experimentos de germinação com sementes de *B. dracunculifolia* para avaliação da influência do As, em diferentes concentrações, na germinação e nas fases iniciais de desenvolvimento das plântulas. Na segunda parte do estudo, plantas foram mantidas em potes individuais, com substrato contendo areia, solo, vermiculita e matéria orgânica e foram submetidas às mesmas concentrações de arsênio. Após 60 dias de cultivo nas concentrações de As, as plantas foram colhidas para determinação do peso da matéria seca e do conteúdo de As nas raízes, caule e folhas. Os fatores de bioacumulação (FBA) e de transferência (FT) foram utilizados para auxiliar na caracterização das respostas das plantas ao As. Os resultados demonstraram que nos estágios iniciais de desenvolvimento, as plântulas de *B.*

dracunculifolia apresentam sensibilidade em concentrações elevadas de arsênio. Nas plantas crescidas, apesar de terem apresentado alguns sintomas de toxicidade, redução de crescimento e alteração do estado nutricional, os resultados indicam que a espécie conseguiu sobreviver a níveis muito altos de As no solo, demonstrando apresentar mecanismos de resistência/tolerância ao elemento. Mais estudos devem ser realizados com esta espécie a fim de se entender melhor os mecanismos de tolerância envolvidos para que assim *B. dracunculifolia* possa ser incluída como candidata em técnicas de fitorremediação.

Palavras-chave: arsênio, contaminação, fitorremediação, biomassa, germinação, tolerância.

ABSTRACT

GILBERTI, Livia H. **The potential of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) for the phytoremediation of arsenic contaminated areas.** 2012. 68p. Dissertation (Master degree on Plant Biology). Universidade Federal de Minas Gerais, BeloHorizonte, MG, Brazil.

Arsenic (As) is ubiquitous in the environment under the concentrations of 10 mg kg^{-1} in non-contaminated soil. The occurrence of anthropogenic arsenic is mainly due to mining activities. As arsenic is highly toxic to soil, water and all biological community, As contamination is a serious environmental problem that requires the use of remediation techniques. On the search for efficient, low cost and simple techniques, plants have been tested for their ability to remove or reduce the availability of this element in the environment. Such technique is called phytoremediation. In this context, to identify potentially suitable species for restoration of contaminated areas, this study used the species *Baccharis dracunculifolia* as a model, aiming to evaluate (1) the degree of resistance of *B. dracunculifolia* to the As, and (2) characterize the mechanisms of resistance and sensitivity involved, thus evaluating the potential of this species for phytoremediation. Plant and soil samples were collected from four areas in Nova Lima, Minas Gerais that have histories of arsenic pollution from mine tailings. Experiments were conducted in a greenhouse at the Universidade Federal de Minas Gerais. The treatments consisted of the application of doses of arsenic as sodium arsenate state ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). *B. dracunculifolia* individuals were subjected to the following concentrations: 0, 5, 10, 25, 50, 100 and $200 \text{ mg L}^{-1}\text{As}$. This study was conducted in two stages. In the first stage, seed germination experiments were conducted to evaluate the influence of different concentrations of As on the germination and early development of seedlings. In the second stage, plants were kept in individual pots with substrate containing sand, soil, vermiculite and organic matter and subjected to the same concentrations of arsenic. After 60 days, the plants were harvested and the dry matter and the contents of As in leaves, stems and roots were determined. The factors of bioaccumulation (FBA) and transference of arsenic for the aerial part (FT) helped characterizing the responses of the plants to As. The results showed that in the early stages of seedling development, *B. dracunculifolia* shows sensitivity to high concentrations of arsenic. The results indicated that the species survived to very high

levels of As in soil, demonstrating resistance/tolerance mechanisms to the element, although plants grown in As contaminated soils presented some symptoms of toxicity, reduced growth and changes in nutritional status. More studies should be performed with this species in order to better understand the tolerance mechanisms involved, so that *B. dracunculifolia* could be included as a candidate for techniques of phytoremediation.

Key words: arsenic, contamination, phytoremediation, biomass, germination, tolerance.

INTRODUÇÃO GERAL

O arsênio (As) é um semimetal traço presente basicamente em todos os ambientes (Liu *et al.* 2005). Ele se apresenta em quatro estados de oxidação: -III, 0, +III ou +V, ocorrendo no ambiente principalmente nas formas inorgânicas, arsenito (AsIII) e arsenato (AsV), e nas formas orgânicas como ácido monometilarsônico (MMA), ácido dimetilarsínico (DMA) e óxido trimetilarsina (TMA₃O) (WHO 2001). Naturalmente o elemento é introduzido na natureza a partir de erupções vulcânicas e pelo intemperismo das rochas (Zhao *et al.* 2010), ocorrendo na água, solo, ar e nos organismos (Tripathi *et al.* 2006). Em condições naturais, a concentração média global de As no solo encontra-se em torno de 7,5 mg.kg⁻¹ (Deschamps & Matschullat 2007), embora os valores variem consideravelmente entre os países. Nas águas, as concentrações são bastante variáveis. Na água do mar, as concentrações médias compreendem entre 1 e 2 µg.L⁻¹ em águas subterrâneas, entre 1 e 10 µg.L⁻¹ (WHO 2001).

Apesar da sua ocorrência natural na biosfera, diversas atividades antrópicas têm acelerado o processo de liberação deste elemento na natureza. O As é utilizado principalmente na fabricação de herbicidas, inseticidas e conservantes de madeira (WHO 2001, Zhao *et al.* 2010) mas indústrias de fabricação de vidro, ligas, eletrônicos, aditivos alimentares e produtos químicos veterinários também o incluem em sua fabricação (Gontijo & Bittencourt 2005). Todavia, rejeitos de operações de mineração constituem fontes substanciais de As, pois expõem este elemento à água e ao ar, solubilizando-o. Desta forma o arsênio pode atingir águas e solo contribuindo para sua contaminação.

Em Minas Gerais, a região do Quadrilátero Ferrífero é considerada como uma das mais mineralizadas do mundo, e por isto, os metais e semimetals associados ao seu minério vêm sendo historicamente liberados para o solo e cursos d'água que drenam a região (Daus *et al.* 2005, Deschamps & Matschullat 2007). A concentração de arsênio nesta região pode variar entre 6 e 4.500 mg.kg⁻¹ no solo, porém em áreas de depósitos de rejeitos de mineração esta concentração pode chegar a mais de 20.000 mg.kg⁻¹ (Deschamps & Matschullat 2007). Em águas superficiais e subterrânea já foram encontrados concentração de As com aproximadamente 350 µg.L⁻¹As (Borba *et al.* 2004) sendo portanto, um valor superior ao máximo permitido para consumo humano.

A Organização Mundial de Saúde (World Health Organization - WHO) estabelece em $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ o limite máximo de As em água potável.

A contaminação por As é bastante significativa do ponto de vista ambiental sendo necessário a avaliação do seu risco através da sua biodisponibilidade no ambiente (Meharg & Hartley-Whitaker 2002). Fatores como capacidade de troca catiônica, pH, potencial redox, matéria orgânica, argila, óxidos metálicos, conteúdo de água, exudatos radiculares e atividade microbiana podem afetar a disponibilidade do elemento no solo (Bhattacharya & Jacks 2002, Deschamps & Matschullat 2007).

As conseqüências para a saúde humana pela exposição crônica ao arsênio incluem inúmeras mudanças em nível molecular, pois o As pode interromper a expressão de diversos genes, prejudicar o processo de divisão celular ou inibir mecanismos de reparo do DNA. Há uma forte associação entre o As e várias doenças humanas como o aumento do risco de várias formas de câncer (principalmente na pele, pulmão, próstata e bexiga), numerosos efeitos patológicos, tais como hiperpigmentação da pele, doenças gastro-intestinais, cardiovasculares, hematológicas, pulmonares, reprodutivas e neurológicas (WHO 2001, Rodrigues & Malafaia 2008). De acordo com o *National Research Council* (NRC 1999), a intoxicação crônica por As é responsável por milhares de mortes no mundo.

Embora se faça necessária a descontaminação, as técnicas disponíveis para a remediação de solos contaminados com metais e metalóides apresentam custo elevado, destroem a paisagem natural e, ainda, podem afetar a saúde de pessoas diretamente envolvidas no processo (Jadia & Fulekar 2009). Neste contexto, na busca por outras técnicas de baixo custo e mais simples de serem executadas, a fitorremediação surge como uma estratégia alternativa para restauração de ambientes poluídos por arsênio (González & González-Chávez 2006, Kranner & Colville 2010). Esta técnica consiste na utilização de plantas capazes de remover ou diminuir a disponibilidade destes elementos no ambiente (Nascimento & Xing 2006).

Plantas que crescem próximas a áreas de mineração podem desenvolver mecanismos que lhes permitem sobreviver mesmo na presença de altas concentrações de metais que são tóxicos para a maioria delas (Baker 1987, González & González-Chávez 2006). As chamadas plantas metalófilas formam as comunidades vegetais capazes de tolerar ou absorver metais pesados, estocando-os em seus tecidos (Whiting

et al. 2004). Plantas que conseguem sobreviver em solos com altas concentrações de metais, porém são comumente mais encontradas em solos não metálicos, são chamadas de *pseudometalófitas*; enquanto as *eumetalófitas*, são normalmente endêmicas de áreas metalíferas, por isto apresentam mecanismos bem desenvolvidos de resistência e tolerância (Whiting *et al.* 2004, Jacobi & Carmo 2008). A maioria das metalófitas apresentam mecanismos que restringem o translocamento dos metais para a parte aérea, concentrando-os nas suas raízes, caracterizado como mecanismo de exclusão (Baker 1987). Porém há espécies que são capazes de absorver concentrações muito elevadas de metais e estocá-los nas partes aéreas, chamadas portanto, de *hiperacumuladoras* (Haridasan 1987, Whiting *et al.* 2004, Whiting *et al.* 2005, González & González-Chávez 2006). Já foram identificadas 45 famílias de plantas hiperacumuladoras de metais pesados, entre elas, Brassicaceae, Fabaceae, Asteraceae e Lamiaceae (Jadia & Fulekar 2009). Todavia, até hoje foram encontradas poucas espécies hiperacumuladoras de As, sendo quase todas, pteridófitas (Zhao *et al.* 2010).

Não obstante o impacto do arsênio no ambiente e saúde humana, no Brasil, ainda há poucos estudos sobre o efeito do arsênio nas plantas. Apesar dos recentes avanços de uso de espécies nativas na restauração ambiental, os órgãos ambientais e fiscalizadores não tem acompanhado com a mesma velocidade o desenvolvimento científico e por isto estas espécies não tem sido utilizadas. Diante do quadro crescente de contaminação por este elemento, é de vital importância ampliar o conhecimento atual de modo a identificar espécies potencialmente aptas à restauração de áreas contaminadas com altas concentrações de metais e metalóides, principalmente para aquelas para as quais já se tem um bom conhecimento científico acumulado, como para *Baccharis dracunculifolia*.

Baccharis dracunculifolia (Asteraceae) coloniza áreas de rejeito de mineração e foi encontrada em abundância em áreas ricas em arsênio nas proximidades de áreas mineradas em Nova Lima. A espécie é uma planta nativa e colonizadora de ambientes perturbados, possui alta capacidade de crescimento natural e ampla distribuição em biótopos sujeitos a vários graus de distúrbios antrópicos e de poluição atmosférica, tornando-se portanto, candidata interessante em projetos de recuperação de solos contaminados (Barroso 1976, Espírito Santo *et al.* 2003, Fagundes *et al.* 2005).

Os objetivos gerais deste estudo foram: estudar o comportamento germinativo de sementes de *B. dracunculifolia* na presença de As; avaliar alterações no crescimento

desta espécie na presença de As; investigar mecanismos de resistência e tolerância, assim como o potencial fitorremediador desta espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAKER, A.J.M. 1987. Metal Tolerance. *New Phytologist* 106: 93-111.
- BARROSO, G .M . (1976) Compositae – subtribo Baccharidinae-Hoffman: estudo das espécies ocorrentes no Brasil. *Rodriguesia*, 40: 3–273.
- BHATTACHARYA, P. & JACKS, G. 2002. Arsenic in the environment: a global perspective. *IN*: Sarkar, B. (Ed.) *Heavy Metals in the environment*. Marcel Dukker, Nova York. Pp.148-215
- BORBA, R.P., FIGUEIREDO, B.R., CAVALCANTI, J.A. 2004. Arsênio na água subterrânea em Ouro Preto e Mariana, Quadrilátero Ferrífero (MG). *Revista. Escola de Minas* 57: 45-51.
- DAUS, B., WENNRICH, R., MORGENSTERN P., WEIB, H., PALMIERI, H.E.L., NALINI, H.A., LEONEL, L.V., MONTEIRO, R.P.G., MOREIRA, R.M. 2005. Arsenic Speciation in Plant Samples from the Iron Quadrangle, Minas Gerais, Brazil. *Microchimica Acta* 151: 175–180.
- DESCHAMPS, E. & MATSULLAT, J. 2007. Arsênio antropogênico e natural. Um estudo em regiões do quadrilátero ferrífero. 1ed. Fundação Estadual do meio ambiente. Belo Horizonte. 330p.
- ESPÍRITO-SANTO, M.M., MADEIRA, B.G., NEVES, F.S., FARIA, M.L., FAGUNDES, M. & FERNANDES, G.W. 2003. Sexual differences in reproductive phenology and their consequences to the demography of *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae), a dioecious tropical shrub. *Annals of Botany*, 91: 13–19.
- FAGUNDES, M., NEVES, F.S., FERNANDES, G.W. 2005. Direct and indirect interactions involving ants, insect herbivores, parasitoids, and the host plant *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae). *Ecological Entomology* 30: 28–35
- GONTIJO, B. & BITENCOURT, F. 2005. Arsênio – uma revisão histórica. *Anais Brasileiros de Dermatologia* 80: 91-5.
- GONZÁLEZ, R.C. & GONZÁLEZ-CHÁVEZ, M.C.A. 2006. Metal accumulation in wild plants surrounding mining wastes. *Environment Pollution* 144: 84-92.
- JACOBI, C.M. & CARMO, F.F. 2008. Diversidade dos campos rupestres ferruginosos no Quadrilátero Ferrífero, MG. *Megadiversidade* 4: 25-33.
- JADIA, C.D. & FULEKAR, M.H. 2009. Phytoremediation of heavy metals: Recent techniques. *African Journal of Biotechnology* 8: 921-928.
- KRANNER, I. & COLVILLE, L. 2010. Metals and seeds: Biochemical and molecular implications and their significance for seed germination. *Environmental and Experimental. Botany*. 72: 93-105.

- LIU, X., ZHANG, S., SHAN, X., ZHU, Y.G. 2005. Toxicity of arsenate and arsenite on germination, seedling growth and amylolytic activity of wheat. *Chemosphere* 61: 293-301.
- MEHARG, A.A. & HARTLEY-WHITAKER, J. 2002. Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and nonresistant plant species. *New Phytologist* 154: 29-43.
- NASCIMENTO, C.W.A. & XING, B. 2006. Phytoextraction: a review on enhanced metal availability and plant accumulation. *Scientia. Agricola*.63: 299-311.
- NRC National Research Council. 1999. *Arsenic in Drinking Water*. Washington, DC: The National Academies Press, 1ed.310p.
- RODRIGUES, A.S.L. & MALAFAIA, G. 2008. Efeitos da exposição ao arsênio na saúde humana. *Revista Saúde.com* 4: 148-159.
- TRIPATHI, R.D., SRIVASTAVA, S., MISHRA, S., SINGH, N., TULI, R., GUPTA, D.K. & MAATHUIS, F.J.M. 2006. Arsenic hazards: strategies for tolerance and remediation by plants. *Trends in Biotechnology* 25: 158-165.
- WHITING, S.N., REEVES, R.D., RICHARDS, D., JOHNSON, M.S., COOKE, J.A., MALAISSE, F., PATON, A., SMITH, J.A.C., ANGLE, J.S., CHANEY, R.L., GINOCCHIO, R., JAFFRÉ, T., JOHNS, R., MCINTYRE, T., PURVIS, O.W., SALT, D.E., SCHAT, H., ZHAO, F.J., BAKER, A.J.M. 2004. Research priorities for conservation of metallophyte. *Biodiversity and their potential for restoration and site remediation. Restoration Ecology* 12: 106-116.
- WHITING, S.N., REEVES, R.D., RICHARDS, D., JOHNSON, M.S., COOKE, J.A., MALAISSE, F., PATON, A., SMITH, J.A.C., ANGLE, J.S., CHANEY, R.L., GINOCCHIO, R., JAFFRÉ, T., JOHNS, R., MCINTYRE, T., PURVIS, O.W., SALT, D.E., SCHAT, H., ZHAO, F.J., BAKER, A.J.M. 2005. Use of plants to manage sites contaminated with metals. IN: Broadley, M.R. & White, P.J. *Plant nutritional Genomics*. Blackwell publishing, 344p.
- WHO. 2001. Arsenic and arsenic compounds. *Environmental health criteria*; 224. World Health Organization WHO, 180p.
- ZHAO, F.J., MCGRATH, S.P., MEHARG, A.A. 2010. Arsenic as a Food Chain Contaminant: Mechanisms of Plant Uptake and Metabolism and Mitigation Strategies. *Annual Review of Plant Biology* 61: 535-59.

CAPÍTULO I

EFEITOS DO ARSÊNIO NA GERMINAÇÃO E PLÂNTULAS DE *Baccharis dracunculifolia* DC (ASTERACEAE)

Capítulo I - Efeitos do arsênio na germinação e plântulas de *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae)

RESUMO

O arsênio (As) é um metalóide de grande interesse ambiental devido as suas características tóxica e carcinogênica. Em altas concentrações o As é tóxico para maioria das plantas, pois interfere em processos metabólicos inibindo seu crescimento e desenvolvimento. A germinação e estabelecimento de plântulas são as fases mais sensíveis à presença do contaminante. Este estudo foi conduzido em laboratório para determinação dos efeitos tóxicos do arsênio na germinação de sementes e no estágio inicial de desenvolvimento de plântulas de *Baccharis dracunculifolia*. Foram feitas 8 repetições de 25 sementes por tratamento. Os tratamentos consistiram de uma solução de arseniato de sódio ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), nas concentrações de: 0, 5, 10, 25, 50, 100 e 200 mg.L^{-1} As. Foram avaliados os seguintes índices de germinação: taxa de germinabilidade, tempo médio de germinação, índice de velocidade de emissão da radícula e índice de sincronização. Ao final de 30 dias foram analisados os comprimentos (mm) das raízes primárias e parte aérea de todas as plântulas e determinado a massa seca (mg) destes órgãos. A taxa de germinação de *B. dracunculifolia* diminuiu significativamente. Enquanto 93% das sementes do grupo controle germinaram, apenas 45% das sementes do tratamento com 200 mg.L^{-1} As germinaram. O TMG das sementes do grupo controle foi de 3 dias e dos tratamentos com 50, 100 e 200 mg.L^{-1} As foi de 5 dias. IVE também foi afetado pelo arsênio. Quanto maior a concentração de arsênio, menor foi o índice de velocidade. Não foi possível estabelecer uma co-relação entre a concentração de arsênio e a sincronia de germinação das sementes. O crescimento das plântulas em todos os tratamentos foi afetado, com redução significativa de biomassa. No tratamento com 200 mg.L^{-1} As, as plântulas morreram após 7 dias em contato com a solução de arsênio. Plântulas de *Baccharis dracunculifolia* apresentam grande sensibilidade ao As nos estágios iniciais de desenvolvimento, principalmente em concentrações acima de 100 mg.L^{-1} As. Apesar de forte pressão seletiva, esta espécie deve ser investigada detalhadamente para se entender como a longevidade das sementes e plantas são afetadas pelos metais pesados.

ABSTRACT

Arsenic (As) is a metalloid of great environmental interest due to its toxic and carcinogenic characteristics. At high concentrations, it is toxic to most plants, because it interferes in the metabolic processes, inhibiting their growth and development. Germination and seedling establishment phases are more sensitive to the presence of this contaminant. This study was conducted in laboratory in order to determine the toxic effects of arsenic on seed germination and early development of seedlings of *Baccharis dracunculifolia*. Eight replicates of 25 seeds per treatment were made. Treatments consisted of a solution of sodium arsenate ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) on the concentrations of 0, 5, 10, 25, 50, 100 and 200 mg.L^{-1} As. The following germination measurements: germinability, mean germination time (MGT), emergence velocity index (EVI) and synchrony of the germination process were evaluated. After 30 days, seedling growth (shoot and root length, fresh weight of shoot and root) were analyzed. The

germination rate of *B. dracunculifolia* decreased significantly. While 93% of the seeds germinated in the control group, only 45% of the seeds on the 200 mg L⁻¹As treatment germinated. The MGT of control group was 3 days and seeds on the treatments with 50, 100 and 200 mg L⁻¹As took 5 days. EVI has also been affected by arsenic. The higher the concentration of arsenic, the lower was the rate of speed. it was not possible to establish a correlation between the concentration of arsenic and synchrony of the germination process.. The growth of seedlings in all treatments was affected, with significant reduction of biomass. The seedlings on the treatment of 200 mg L⁻¹As died after 7 days in the solution of arsenic. *Baccharis dracunculifolia* seedlings showed great sensitivity to As on the early stages of development, especially at concentrations above 100 mg L⁻¹As. Despite strong selective pressure, this species should be investigated in detail to understand how the longevity of seeds and plants are affected by heavy metals.

INTRODUÇÃO

O arsênio (As) é um não-metal, encontrado em todos os ambientes naturais, associado principalmente, a sulfatos minerais. Apesar de representar o vigésimo elemento mais abundante na crosta terrestre, o arsênio (As) é um dos elementos mais tóxicos do planeta (WHO 2001). A inserção de arsênio nos ambientes terrestres e aquáticos ocorre através de processos geológicos naturais e também pelas atividades antrópicas, especialmente a mineração. Devido à sua elevada toxicidade à saúde humana e a toda comunidade biológica, a contaminação do solo, cursos d'água e lençol freático por As é um problema ambiental grave que necessita de efetiva solução tecnológica (WHO 2001, Ferreccio & Sancha 2006, Zhao *et al.* 2010).

Este metalóide não é um elemento essencial para as plantas, porém algumas espécies podem absorver arsênio pelas raízes, via transportadores de fosfato, na forma de arsenato (AsV) ou através de aquagliceroporinas, na forma de arsenito (AsIII) (Meharg & Hartley-Whitaker 2002, Tripathi *et al.* 2006, Zhao *et al.* 2008). O arsenato é a forma predominante na natureza, visto que o arsenito é facilmente oxidado pelo oxigênio atmosférico (Meharg & Hartkey-Whitaker 2002).

O arsênio é altamente tóxico para a maioria das plantas, pois inibe processos vitais como a fosforilação oxidativa, diminuindo assim a produção de adenosina trifosfato (ATP) e também inibe a absorção de fósforo. Em elevadas concentrações pode interferir nos processos metabólicos, impedindo o crescimento ou até causando a morte da planta (Meharg & Hartley-Whitaker 2002, Zhao *et al.* 2008). O arsênio pode causar estresse oxidativo, pois promove a geração de espécies reativas de oxigênio,

danificando proteínas, aminoácidos e ácidos nucleicos e assim, interrompem os mecanismos de defesa da planta. Além disto, o arsênio acumulado nos tecidos das plantas pode estimular a atividade da enzima peroxidase durante as fases iniciais de desenvolvimento da planta (Mascher *et al.* 2002, Bhattacharya *et al.* 2011).

A sensibilidade e toxicidade de metais e metalóides nas plantas são influenciados não apenas pela concentração e pelas formas tóxicas mas também pelo estágio de vida ou processo ontogenético da planta (germinação, estabelecimento da plântula e crescimento vegetativo). A germinação e estabelecimento de plântulas são as fases mais sensíveis à presença do contaminante, pois seus mecanismos de defesa ainda não estão plenamente desenvolvidos (Liu *et al.* 2005, Bhattacharya *et al.* 2011). A germinação de sementes é por sua vez, o estágio mais crítico para o sucesso do estabelecimento da plântula, pois determina tanto a distribuição das espécies como sua abundância nas comunidades vegetais (Garcia *et al.* 2006, Talukdar 2011). Embora o tegumento confira proteção das sementes ao estresse causado pelo metal presente, o mesmo se torna mais permeável durante a germinação (Li *et al.* 2005). A germinação das sementes é afetada pelos metais de duas maneiras: primeiramente devido à própria toxicidade do metal e segundo porque o metal provoca inibição da absorção de água (Kranner & Colville, 2010). Desta forma, a capacidade de uma semente germinar em meio contendo arsênio pode indicar o nível de tolerância a este metal (Akinci & Akinci 2010, Bhattacharya *et al.* 2011).

Plantas que crescem em áreas contaminadas podem desenvolver mecanismos de tolerância ou podem ainda absorver estes metais armazenando-os em seus tecidos (Baker 1987). É neste contexto que o estudo para utilização de sementes de plantas acumuladoras ou hiperacumuladoras de metais nos processos de fitorremediação se torna interessante, pois permite a compreensão dos fatores limitantes para o estabelecimento, sobrevivência e regeneração das áreas contaminadas. As técnicas de restauração ambiental de áreas contaminadas pelo arsênio dependem do sucesso da germinação e estabelecimento de plântulas, portanto informações sobre estas fases são fundamentais para atingir o sucesso destes programas. Neste estudo, objetivou-se estudar o comportamento germinativo de sementes de *Baccharis dracunculifolia* assim como os efeitos no crescimento das plântulas, na presença de arsênio, aplicado sob a

forma de arsenato, em diferentes concentrações, a fim de se avaliar pela primeira vez os efeitos fitotóxicos deste elemento nesta espécie fitorremediadora potencial.

Baccharis dracunculifolia (Asteraceae) coloniza áreas de rejeito de mineração e foi encontrada em abundância em áreas ricas em arsênio nas proximidades de áreas mineradas em Nova Lima, MG, Brasil. *B. dracunculifolia* é nativa da América do Sul e colonizadora de ambientes perturbados, possui alta capacidade de crescimento natural e ampla distribuição em biótopos sujeitos a vários graus de distúrbios antrópicos e de poluição atmosférica, tornando-se portanto, candidata interessante em projetos de recuperação de solos contaminados (Gomes & Fernandes 2002, Espírito Santo *et al.* 2003, Fagundes *et al.* 2005).

Para compreender o comportamento da germinação de sementes de *B. dracunculifolia* na presença de arsênio, foram utilizados neste estudo as medidas de germinabilidade, o índice de velocidade de emergência da radícula, o tempo médio de germinação e o índice de sincronização, a fim de se verificar importantes aspectos a serem medidos durante a dinâmica deste processo (Ranal & Santana 2006, Ranal *et al.* 2009). Além disto, foram verificados parâmetros de crescimento para que pudesse ser analisada a influência do arsênio nos estágios iniciais de desenvolvimento das plântulas. Estas características são importantes de serem avaliadas, pois se torna possível prever o grau de sucesso e a capacidade de adaptação e de germinarem em ambientes de estresse, permitindo seu recrutamento e desenvolvimento (Ranal & Santana 2006). A hipótese norteadora deste estudo é a de que o arsênio tem efeitos negativos em todos os parâmetros analisados, sendo estes maiores à medida que a concentração de arsênio aumenta.

MATERIAL E MÉTODOS

Seleção da espécie e área de ocorrência

Baccharis dracunculifolia DC. (Asteraceae) é uma planta de porte arbustivo, pode atingir 3m de altura, apresenta folhas alternas, espiraladas, capítulos numerosos, campanulados (Barroso 1976, Gomes & Fernandes 2002) e é encontrada em campos rupestres, campos de altitude, cerrado, mata atlântica, restinga e campos sulinos

(Fagundes & Fernandes 2011). A espécie é frequentemente observada em áreas degradadas e alteradas, ocorrendo geralmente próximo a rodovias e pastos (Barroso, 1976, Espírito Santo *et al.* 2003, Fagundes *et al.* 2005, Jacobi & Carmo, 2008).

Condução dos experimentos

Os aquênios de *Baccharis dracunculifolia* foram coletados aleatoriamente de cerca de 30 indivíduos em maio de 2011, na Reserva Particular Natural Vellozia, (19°17'S, 43°35'W), localizada entre os quilômetros 106 e 108 da rodovia MG 010. A região é caracterizada por clima mesotérmico, com verões chuvosos (7-8 meses) e invernos secos (4-5 meses). A região apresenta altitudes que variam entre 1.000 e 1.700 m, atingindo até 1.800m e onde o tipo vegetacional predominante na Serra do Cipó são os campos rupestres (Madeira & Fernandes 1999).

Determinação dos índices de germinação

Os testes de germinação com *B. dracunculifolia* foram realizados logo após a coleta de suas sementes, em maio de 2011. O desenho experimental foi completamente casualizado em esquema fatorial com 8 repetições de 25 sementes por tratamento (Santana & Ranal 2004). As sementes foram colocadas em placas de Petri forradas com folha dupla de papel de filtro, umedecida com solução de nistatina para evitar contaminação por fungo (Lemos Filho *et al.* 1997). Os tratamentos utilizados consistiram de uma solução aquosa de arsênio, aplicado na forma de arseniato de sódio ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), nas concentrações: 0, 5, 10, 25, 50, 100 e 200 $\text{mg.L}^{-1}\text{As}$. Foram colocados 5mL de solução de arsênio em cada placa e no grupo controle, 5mL de água destilada.

Para todos os tratamentos, o experimento foi mantido em câmara de germinação (B.O.D, modelo 411/FPD155, Nova Ética), em temperatura constante de 20°C, sob fotoperíodo de 12 horas (Gomes & Fernandes 2002, Brasil 2009). As sementes foram acompanhadas em intervalos de 24 horas, sendo consideradas germinadas aquelas que apresentaram protusão radicular (Bewley & Black 1994). Não houve necessidade de testes em diferentes temperaturas ou fotoperíodo, pois estes já foram apresentados em Gomes & Fernandes (2002). Foram avaliados os seguintes índices de germinação: taxa de germinabilidade, tempo médio de germinação, índice de velocidade de emissão da radícula e índice de sincronização.

A taxa de germinabilidade (G) foi demonstrada pelo percentual de germinação de cada tratamento (Santana & Ranal 2000, Ranal *et al.* 2009). O tempo médio de germinação (TMG) foi calculado de acordo com a seguinte fórmula (Tompsett & Pritchard 1998):

$$TMG = \frac{\sum_{i=1}^k n_i t_i}{\sum_{i=1}^k n_i}$$

onde: t_i : tempo entre o início do experimento e a i -ésima observação (dia ou hora), n_i : número de sementes que germinam no tempo t_i (não o número acumulado, mas o número referido para a i -ésima observação) e k : último dia da observação.

A fórmula usada para o cálculo do índice de velocidade de emergência da radícula (IVE) foi (Santana & Ranal 2000):

$$IVE = \frac{\text{no. de plântulas normais}}{\text{dias até a primeira contagem}} + \dots + \frac{\text{no. de plântulas normais}}{\text{dias até a contagem final}}$$

E para calcular o índice de sincronização (E), utilizou-se a fórmula (Santana & Ranal 2000, Ranal *et al.* 2009):

$$\bar{E} = -\sum_{i=1}^k f_i \log_2 f_i \quad \text{sendo: } f_i = n_i / \sum_{i=1}^k n_i$$

onde: f_i : frequência relativa de germinação, n_i : número de sementes germinadas no dia i e k : último dia da observação.

Determinação do comprimento e biomassa da parte aérea e raiz primária nos estágios iniciais de crescimento

Após 25 dias de experimento, foram analisados os comprimentos (mm) das raízes primárias e parte aérea de todas as plântulas. As mesmas foram então colocadas para secar em estufa a 60°C, e assim foram determinadas a massa seca (mg) da raiz primária e da parte aérea a fim de se determinar a toxicidade do arsênio nos estágios iniciais de desenvolvimento.

Análise estatística

Os dados de germinabilidade foram transformados em arco-seno. Após calculados todos os índices, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e apresentadas

as médias de cada tratamento e erro padrão seguidos pelo Teste de Tukey ($\alpha=0,05$) (Zar 1996). Quando necessário, os dados foram submetidos ao ajuste de modelos de regressão, considerando o valor de significância de 5%.

RESULTADOS

Efeitos do arsênio na germinação de sementes

A taxa de germinação de *B. dracunculifolia* diminuiu significativamente ($p<0,001$, $F=47,34$) a medida que a concentração de arsênio aumentou (Figura 1). No grupo controle 93% das sementes germinaram. Com o acréscimo de apenas 5 mg.L⁻¹ As a germinação das sementes caiu 11.5%, já demonstrando algum efeito neste processo chave das plantas. Nas concentrações de 10, 25, 50, 100 e 200 mg.L⁻¹ As, as quedas na germinabilidade aumentaram, chegando a 45% a 200 mg.L⁻¹. Todos os resultados diferiram significativamente do grupo controle ($p=0,004$). As maiores quedas na germinabilidade foram entre 50 e 100 mg.L⁻¹ e entre 100 e 200 mg.L⁻¹ (Tabela 1). Análises de regressão polinomial indicam que 64% da variação da germinação de *B. dracunculifolia* podem ser explicadas pelo aumento da concentração de As (Figura 1).

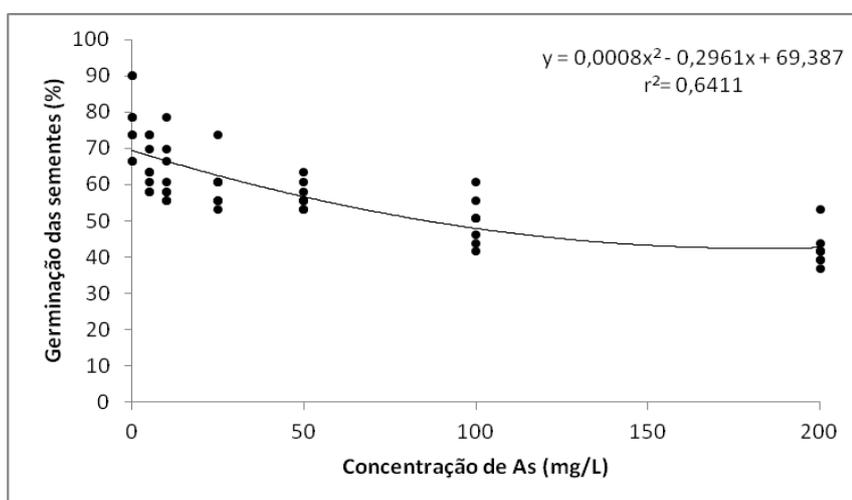


Figura 1: Porcentagem de germinação de sementes de *B. dracunculifolia* em diferentes concentrações de arsênio (n=8).

Houve uma tendência ao aumento do tempo médio de germinação das sementes na medida em que se elevou a concentração de arsênio (Fig.2, Tab.1). Este valor foi estatisticamente significativo ($p<0,001$, $F=17,62$) quando comparamos todos os tratamentos com As e o grupo controle (Figura 2). O TMG para as sementes do grupo controle foi de aproximadamente 3 dias enquanto nas concentrações 5, 10 e 25 mg.L⁻¹

As, TMG foi em torno de 4 dias, enquanto nas concentrações 50, 100 e 200 mg.L⁻¹ As, TMG apresentou-se em torno de 5 dias. As concentrações de arsênio também exerceram efeito sobre a velocidade de emergência da radícula (IVE). Com relação a este índice, quanto maior a concentração de arsênio, menor foi o índice de velocidade (Fig.2, Tab.1). No grupo controle, o IVE foi de 6,42 plântulas/dia. Nos tratamentos com 5, 10 e 25 mg.L⁻¹ As, o IVE foi de aproximadamente 4 plântulas/dia, na concentração de 50 mg.L⁻¹ As foi de 3 plântulas/dia e nas concentrações 100 e 200 mg.L⁻¹ As, foi de 2 plântulas/dia.

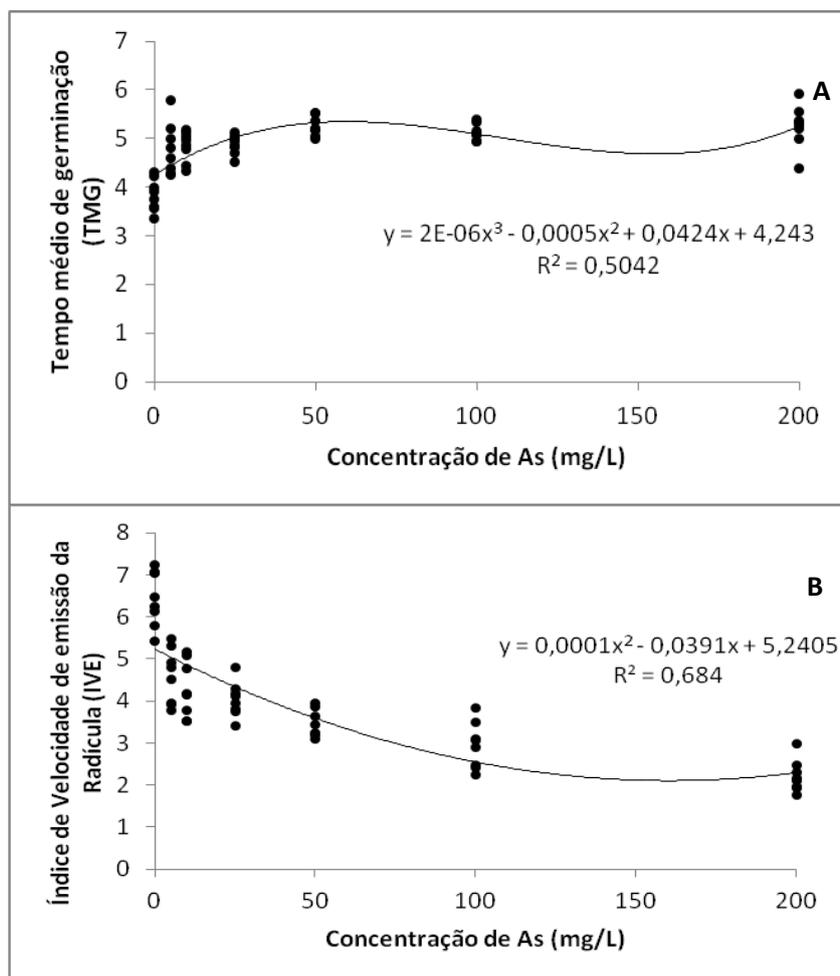


Figura 2: Influência do arsênio, em diferentes concentrações, na germinação de sementes de *B. dracunculifolia*. (A) Tempo médio de germinação, (B) Índice de velocidade de emissão da radícula.

Não foi possível estabelecer uma co-relação entre a concentração de arsênio e a sincronia de germinação das sementes (Tabela 1). No grupo controle o índice de

sincronização foi em média 0,35. Nas concentrações 5, 10, 25 e 50 mg.L⁻¹ As os índices foram respectivamente 0,22; 0,26; 0,21 e 0,26. Na concentração de 100 mg.L⁻¹ As, o índice sobe novamente para 0,33 que é um valor próximo ao do grupo controle mas na concentração 200 mg.L⁻¹ As, o índice é mais baixo novamente, E=0,29. O grupo controle foi estatisticamente diferente (p<0,05) apenas quando comparado ao tratamento de 5 mg.L⁻¹ As e ao de 50 mg.L⁻¹ As.

Tabela 1: Medidas de germinação (média ± erro padrão) das sementes de *Baccharis dracunculifolia*. As médias seguidas pelas mesmas letras em cada coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey (p<0,05). G: Germinabilidade, TMG: Tempo médio de germinação, IVE: Índice de velocidade de emissão da radícula, E: Índice de sincronização

Concentrações As (mg.L ⁻¹)	G (%)	TMG (dias)	IVE (Plant/dia)	E
0	93,0 ± 2,23 ^a	3,84 ± 0,11 ^a	6,42 ± 0,23 ^a	0,35 ± 0,04 ^a
5	81,5 ± 2,92 ^{ab}	4,79 ± 0,18 ^b	4,58 ± 0,22 ^b	0,22 ± 0,01 ^b
10	78,0 ± 3,62 ^b	4,84 ± 0,10 ^b	4,27 ± 0,23 ^b	0,26 ± 0,02 ^{ab}
25	73,5 ± 3,11 ^b	4,88 ± 0,06 ^b	4,03 ± 0,14 ^b	0,21 ± 0,02 ^b
50	70,0 ± 2,00 ^{bc}	5,25 ± 0,07 ^b	3,45 ± 0,11 ^{bc}	0,26 ± 0,02 ^{ab}
100	58,5 ± 3,69 ^c	5,12 ± 0,05 ^b	2,94 ± 0,19 ^{cd}	0,32 ± 0,03 ^{ab}
200	45,0 ± 3,00 ^d	5,25 ± 0,15 ^b	2,21 ± 0,13 ^d	0,29 ± 0,03 ^{ab}

Efeitos do arsênio nos estágios iniciais de crescimento

O arsênio exerceu efeitos negativos nos estágios iniciais de desenvolvimento das plântulas (Figura 4). Embora 45% das sementes tenham germinado no tratamento com 200 mg.L⁻¹ de arsênio, o desenvolvimento daquelas sementes que germinaram foi completamente inibido, e assim não foram registrados valores de comprimento ou biomassa para este tratamento (Figura 5). Após observações macroscópicas, foram observados sintomas visíveis de toxicidade por arsênio, tais como amarelecimento, necroses e morte de algumas plântulas, aproximadamente 7 dias após a germinação (Figuras 4 e 5).

O crescimento da parte aérea das plântulas de *B. dracunculifolia* diminuiu significativamente na medida em que a concentração de arsênio aumentou ($p < 0,007$; Fig.3; Tab.2). No grupo controle, o comprimento da parte aérea foi de 4,6mm. Nos tratamentos com 5, 10, 25, 50 e 100 mg.L⁻¹ de arsênio, os comprimentos reduziram respectivamente 31, 53, 68, 71 e 80%.

Observou-se também diferença significativa entre os tratamentos com relação a massa seca do caule ($p < 0,005$). A média de biomassa da parte aérea do grupo controle foi de 1,48mg, não diferindo estatisticamente apenas das concentrações de 5 e 10 mg.L⁻¹ de arsênio, que foram respectivamente 1,26 e 1,24mg ou seja, com reduções de 14 e 16% da biomassa. Nas concentrações de 25, 50, 100 mg.L⁻¹, as biomassas reduziram 45, 52 e 74%, respectivamente.

Os efeitos tóxicos do arsênio exerceram influências ainda mais negativas no crescimento das raízes. À medida em que a concentração de arsênio aumentou, o comprimento das raízes diminuiu significativamente ($p < 0,0007$). A média de comprimento das raízes do grupo controle foi de 13,7mm. Nos tratamentos com 5, 10, 25, 50 e 100 mg.L⁻¹ de arsênio, os comprimentos reduziram respectivamente 90, 93, 95, 96 e 97% (Tab.2, Fig.3), indicando os grandes efeitos de toxicidade deste elemento no desenvolvimento inicial em plântulas de *B. dracunculifolia*.

A massa seca das raízes também diminuiu significativamente ($p < 0,0001$) entre os tratamentos com relação ao aumento dos teores de arsênio (Tab.2). Quando comparado ao grupo controle, todos os tratamentos com arsênio reduziram consideravelmente a biomassa da raiz. O grupo controle apresentou 7,3mg de biomassa nas raízes e nas concentrações 5, 10, 25, 50 e 100 mg.L⁻¹ As, apresentaram respectivamente reduções de 91, 92, 95, 95 e 97% na biomassa (Tab.2, Fig.3).

Tabela 2: Medidas de comprimento e biomassa seca da parte aérea e raízes (média ± erro padrão) das plântulas de *Baccharis dracunculifolia*. As médias seguidas pelas mesmas letras em cada coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$). CPA: comprimento da parte aérea, CPR: comprimento da raiz, BPA: biomassa da parte aérea, BR: biomassa da raiz.

Tratamento As(mg/L)	CPA (mm)	CPR (mm)	BPA (mg)	BR (mg)
0	4,64 ± 0,29 ^a	13,77 ± 1,86 ^a	1,48 ± 0,03 ^a	7,30 ± 0,78 ^a
5	3,18 ± 0,66 ^b	1,31 ± 0,08 ^b	1,26 ± 0,03 ^a	0,63 ± 0,04 ^b
10	2,18 ± 0,13 ^c	0,95 ± 0,03 ^b	1,24 ± 0,04 ^a	0,57 ± 0,03 ^b
25	1,47 ± 0,17 ^c	0,58 ± 0,03 ^b	0,81 ± 0,05 ^b	0,33 ± 0,05 ^b
50	1,29 ± 0,07 ^d	0,49 ± 0,04 ^b	0,71 ± 0,03 ^{bc}	0,35 ± 0,04 ^b
100	0,90 ± 0,26 ^e	0,38 ± 0,11 ^b	0,38 ± 0,14 ^c	0,17 ± 0,06 ^b
200	-	-	-	-

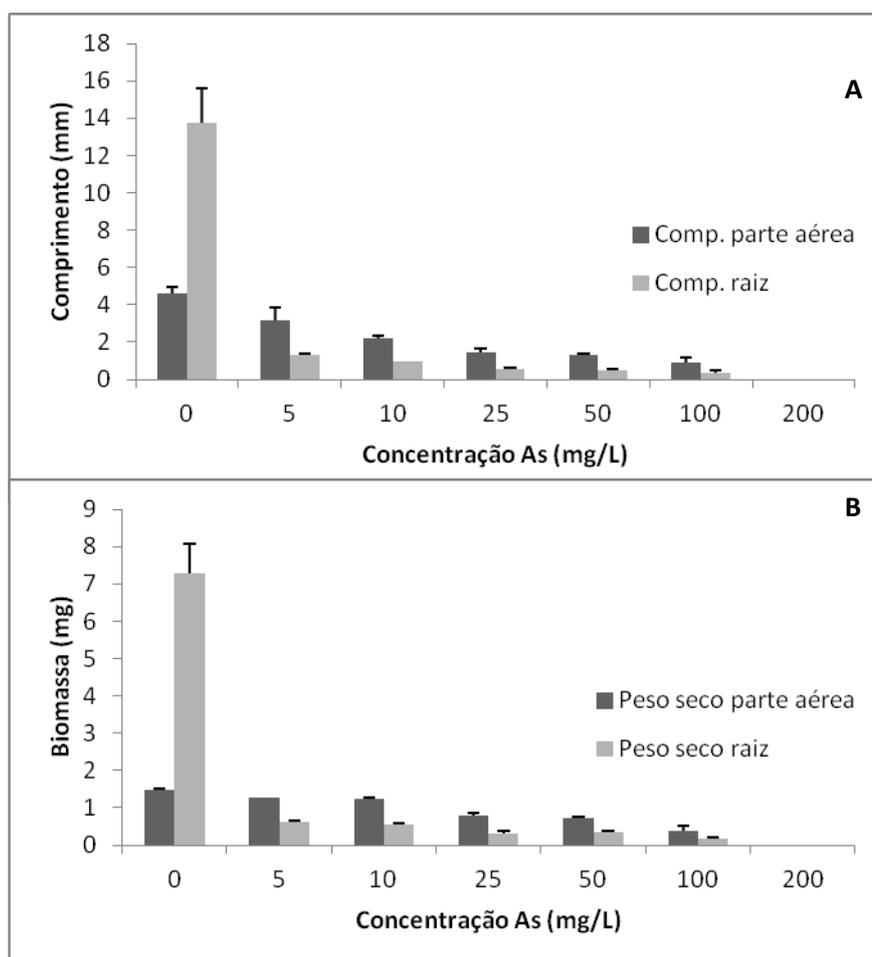


Figura 3: Efeitos de concentrações de arsênio em várias concentrações sobre o crescimento inicial de plântulas de *B. dracunculifolia*. (A) Comprimento da parte aérea e raiz (B) Biomassa da parte aérea e raiz.

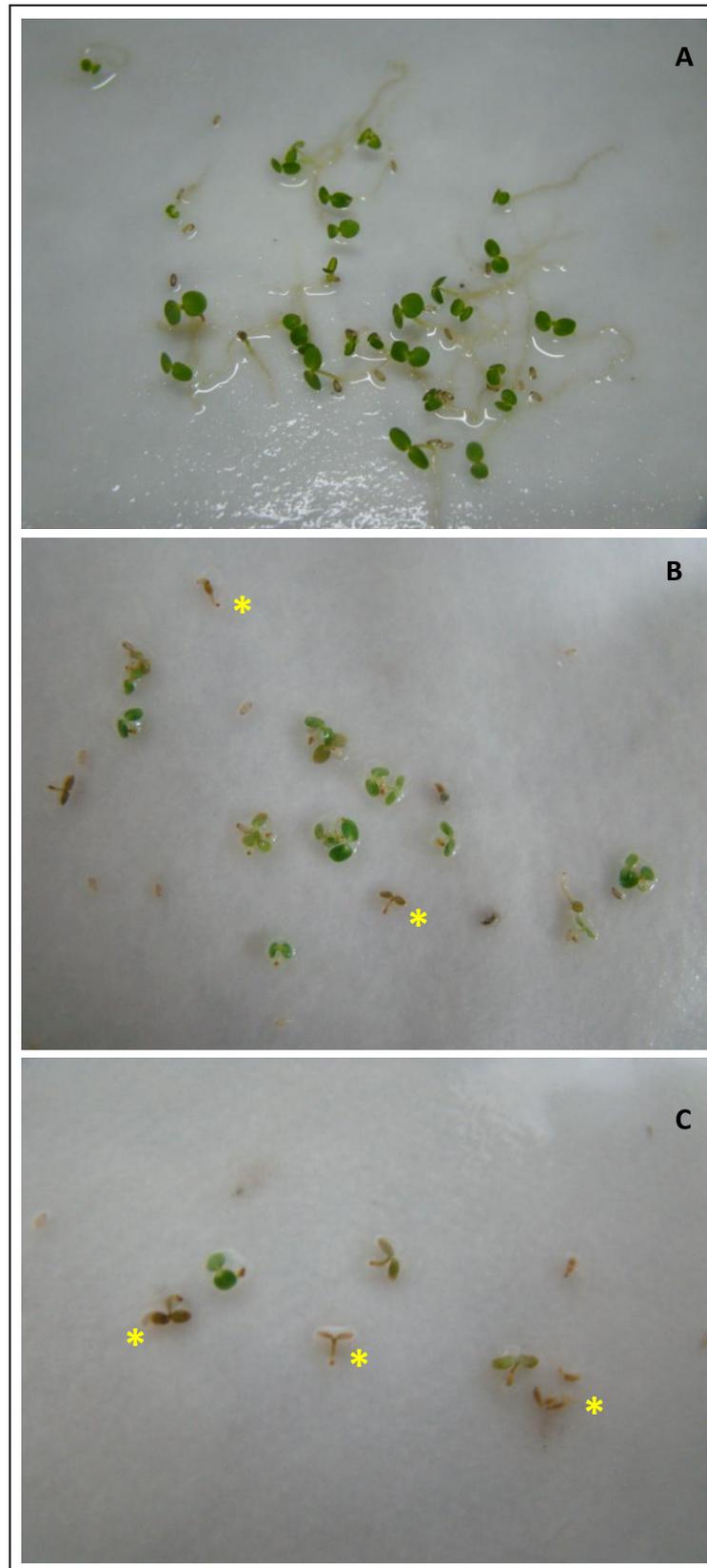


Figura 4 – Efeitos do arsênio no crescimento das plântulas de *Baccharis dracunculifolia*. (A) plântulas do grupo controle (B) plântulas do tratamento com 50 mg.L⁻¹ As (C) plântulas do tratamento com 100 mg.L⁻¹ As. Fotos tiradas 7 dias após a germinação. Asterisco indica necrose e morte de plântulas.

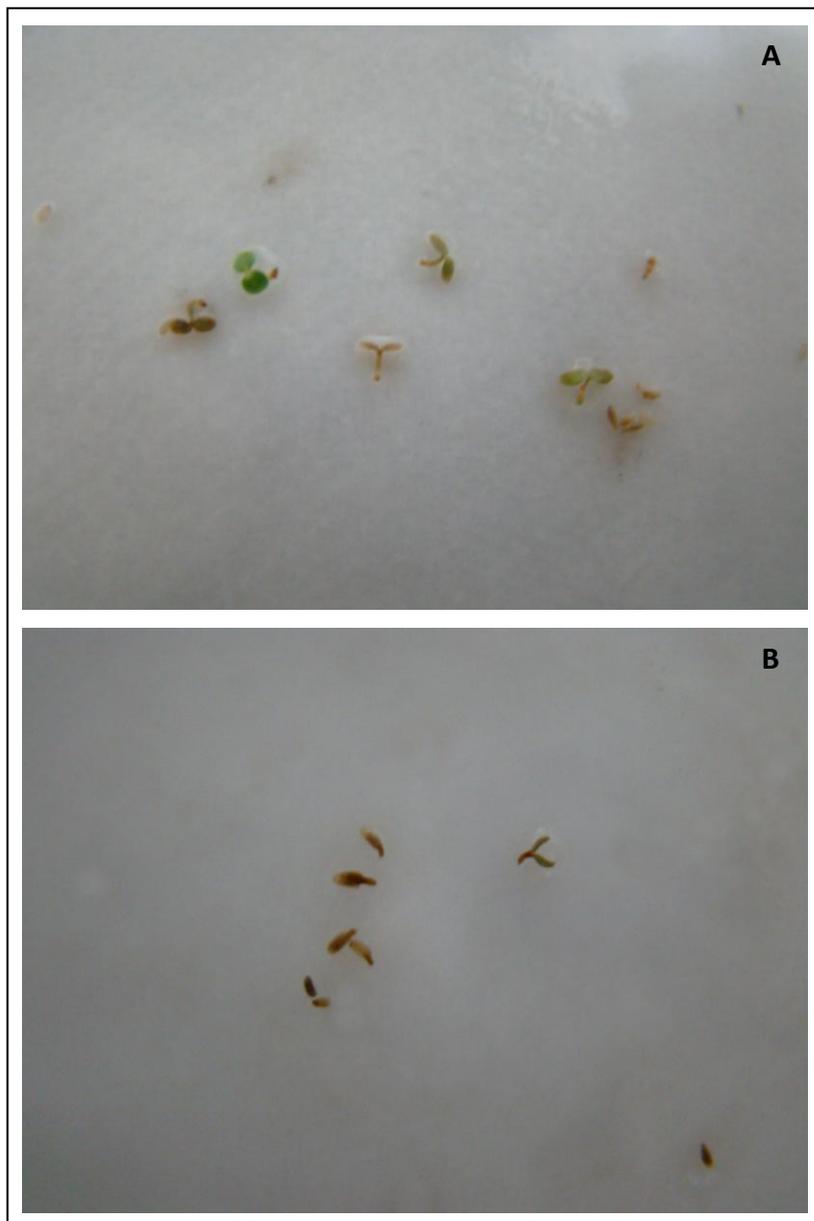


Figura 5: Efeitos do arsênio nas plântulas de *Baccharis dracunculifolia* (A) amarelecimento e necrose (tratamento com 100 mg.L^{-1} As. (B) Morte das plântulas (tratamento com 200 mg.L^{-1})

DISCUSSÃO

A taxa de germinação de *B. dracunculifolia* foi afetada pela presença de arsênio. Enquanto sementes do grupo controle alcançaram 93% de germinabilidade, sementes germinadas em meio com 200 mg.L⁻¹As apresentaram uma queda de aproximadamente 50% na germinação das sementes. Luan & Ian (2008) avaliaram a germinação de uma espécie de soja (*Glycine max*) na presença de arsênio e suas sementes apresentaram uma taxa de germinação de 80% em tratamento com 200 mg.L⁻¹As. Por outro lado, Liu *et al.* (2005) investigaram os efeitos do arsênio em *Triticum aestivum* L. e obtiveram germinabilidade de 60% das sementes em concentração bem inferior de arsênio (16 mg.L⁻¹As), indicando que esta espécie é bem sensível a presença deste elemento. Talukdar (2011) obteve apenas 45% das sementes de *Trigonella foenum-graecum* germinadas em 40 mg.L⁻¹As e 35% de germinação de *Lathyrus sativus* nesta mesma concentração. Resultados semelhantes podem ser vistos em Munthas *et al.* (2010), onde a germinação de *Vigna radiata* foi de 35% na concentração de 100 mg.L⁻¹As. Comparativamente a estas espécies, as sementes de *B. dracunculifolia* apresentaram uma maior capacidade de germinar na presença de arsênio. Em concentração de 10 mg.L⁻¹As, 78% das sementes germinaram, 73,5% conseguiram germinar em concentração de 25 mg.L⁻¹As e 70% germinaram em teores de 50 mg.L⁻¹As. Na concentração de 100 mg.L⁻¹As, 58,5% das sementes de *B. dracunculifolia* germinaram.

O entendimento do comportamento germinativo das sementes auxilia na determinação da densidade e padrão de distribuição das populações vegetais (Harper *et al.* 1970). Metais pesados podem afetar a germinação das sementes devido a sua toxicidade e por inibirem a embebição de água pela semente (Kranter & Colville 2010). Esta é uma possível explicação para a diminuição da germinação das sementes de *B. dracunculifolia* quando na presença de altos teores de arsênio no meio, pois este processo é fundamental para iniciar o processo da germinação (Mohamed-Yaseen *et al.* 2004, Li *et al.* 2005).

O IVE das sementes de *B. dracunculifolia* diminuiu significativamente com o aumento da concentração de arsênio. Isto significa que quanto maior a concentração de arsênio, menor foi o número de sementes que germinou por dia. No grupo controle, o IVE apresentou uma média de 6,42 plântulas/dia, enquanto que nas concentrações de

100 e 200 mg.L⁻¹ As, IVE foi de 2 plântulas/dia. Trabalhos semelhantes demonstraram que sementes de *Brassica oleracea varbotrytis* apresentaram IVE bem mais baixo (0,28), quando em tratamento com 100 mg.L⁻¹ As (Islam *et al.* 2008), demonstrando a sensibilidade desta espécie na presença deste metalóide.

O TMG também foi afetado negativamente pela presença do As em todas as concentrações. O TMG apresentou leve tendência ao aumento à medida que a concentração de As aumenta. Isto significa que enquanto o grupo controle demorou 3 dias em média para começar a germinar, sementes submetidas aos tratamentos com 50, 100 e 200 mg.L⁻¹ As, demoraram em torno de 5 dias para iniciar a germinação. Akinci & Akinci (2010) estudando os efeitos do cromo em sementes de *Cucumis melo* observaram que este metal em elevada concentração (300 mg.L⁻¹) inibiu a germinação e aumentou o TMG das sementes. Nos estudos de Ashraf & Ali (2007), sementes de *Vigna radiata* apresentaram um atraso de 15 dias na germinação na presença de 10mM de prata (Ag) e 4 dias de atraso na concentração de 25mM de chumbo (Pb).

Como a germinação das sementes, em geral, não é perfeitamente sincronizada, é possível quantificar essa variação da germinação ao longo do tempo por meio de uma medida denominada índice de sincronização ou incerteza (E). Este índice infere que, quanto menor for o valor de E, mais sincronizada será a germinação das sementes. A vantagem desse índice é que seu valor não é influenciado pelo número total de sementes germinadas, nem pelo tempo médio ou velocidade média de germinação (Ranal & Santana 2006). Porém, não foi encontrado em nosso estudo, uma relação entre este índice e as diferentes concentrações de arsênio; portanto esta medida que não foi eficaz para explicar em como a concentração de arsênio presente influencia no sincronismo da germinação.

No entanto pode-se inferir que o arsênio não apenas reduz o número de sementes germinadas como também provoca alterações na velocidade e tempo de germinação das sementes. Segundo Maguire (1962) IVE é uma medida que afere o vigor das sementes, onde a redução deste vigor, causa perda progressiva na capacidade produtiva, com a redução na uniformidade da germinação (Ranal & Santana 2006). Portanto, o fato das sementes demorarem mais tempo para germinar em concentrações mais altas, demonstra que com a presença do metal, as sementes parecem demorar mais tempo para

embeber uma quantidade de água suficiente para germinar (Kranner & Colville 2010). Outra hipótese para o atraso do início da germinação também pode ter sido por indução da própria semente de modo a neutralizar os efeitos tóxicos do metal por mecanismos de quelação reduzindo assim, a absorção do mesmo (Baker 1987, Ashraf & Ali 2007).

O arsênio também exerceu influência negativa sobre o crescimento inicial das plântulas, indicando um efeito de toxicidade do elemento. Em todas as concentrações o As limitou o crescimento das plântulas e na concentração de 200 mg.L⁻¹, houve completa inibição do crescimento. Apesar de 45% das sementes terem germinado nesta concentração, houve um efeito tóxico do elemento, que impediu o desenvolvimento das plântulas. Além disto, foram observados sintomas de toxicidade como amarelecimento, escurecimento e necrose de tecidos em todos os tratamentos com arsênio; que são típicos deste elemento. Algumas plântulas de *B. dracunculifolia* dos tratamentos com 100 mg.L⁻¹ As, também apresentaram necrose dos tecidos ou morte aproximadamente 15 dias após a germinação. É provável que a morte celular seja causada pelo aumento do estresse oxidativo causado por este metalóide (veja Abedin *et al.* 2002, Li *et al.* 2007, Kranner & Colville 2010).

Os estágios iniciais das plântulas são os mais sensíveis a estresses causados pela presença de metais pesados (Liu *et al.* 2005, Akinci & Akinci 2010). Desta forma, além da germinação deve-se considerar também o desenvolvimento das plantas ao avaliar os efeitos tóxicos deste elemento. Estas observações estão de acordo com os trabalhos de Li *et al.* (2007) que demonstraram que concentrações acima de 20 mg.L⁻¹ de As provocam inibição do crescimento das plântulas de *Triticum aestivum* L., demonstrando uma grande sensibilidade desta espécie ao elemento. Abedin *et al.* (2002) relataram que tanto a germinação quando o crescimento inicial de plântulas de *Oryza sativa* diminuíram significativamente com o aumento da concentração de arsênio.

Os comprimentos da parte aérea e da raiz de *B. dracunculifolia* reduziram significativamente quando comparados ao grupo controle, no entanto as raízes foram mais afetadas pelo arsênio. Na concentração mais baixa (5mg.L⁻¹As) o comprimento da parte aérea reduziu 31% e nas raízes esta redução chegou a 90%. Na concentração de 100 mg.L⁻¹As, o comprimento da parte aérea reduziu 80% e das raízes 97%. Com relação à biomassa seca, a redução também foi mais evidente nas raízes, onde já na concentração de 5 mg.L⁻¹As, houve redução de 91%, chegando a 97% na concentração

de 100 mg.L⁻¹As. As reduções destas medidas são típicas respostas de plantas quando são expostas a metais pesados (Abedin & Meharg 2002, Liu et al. 2005, Li et al. 2007). O fato da inibição do crescimento ter sido bem maior nas raízes é atribuído ao fato das raízes serem o primeiro ponto de contato com o arsênio presente no meio, resultando em um maior acúmulo de As (Wang et al. 2010). A redução das raízes leva a uma diminuição da absorção de nutrientes e assim todo o crescimento da plântula é reduzido e finalmente reduz-se sua biomassa (Abedin & Meharg 2002, Li et al. 2007).

O As não é um elemento essencial para as plantas e sua presença, em altas concentrações, pode levar a mudanças morfológicas, anatômicas e fisiológicas (Abedin & Meharg 2002, Liu et al. 2005). Plantas podem desenvolver sintomas de toxicidade quando expostas a uma concentração elevada de arsênio, demonstrados pela inibição da germinação, redução da altura da parte aérea e do crescimento das raízes (Baker 1987, Carbonell-Barrachina et al. 1997, Sharma et al. 2011).

A tolerância a metais é uma importante característica que permite o uso de plantas e sementes em tecnologias de fitorremediação. Porém, mais estudos são necessários para se entender como a longevidade das sementes e plantas são afetadas pelos metais pesados e como os mesmos afetam a composição das espécies (Kranter & Colville 2010). O conhecimento sobre a germinação de sementes, sua ecologia e manejo são necessários para uma melhor compreensão do estabelecimento das espécies, permitindo também um entendimento mais profundo de sua aplicação na recuperação de áreas contaminadas por arsênio. Este estudo indica: que plântulas de *Baccharis dracunculifolia* nos estágios iniciais de desenvolvimento apresentam grande sensibilidade, principalmente em concentrações acima de 100 mg.L⁻¹ de arsênio; que apesar de forte pressão seletiva, esta espécie deve ser investigada detalhadamente para que possa ser considerada uma candidata em projetos de fitorremediação em áreas contaminadas por arsênio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABEDIN, M.J. MEHARG, A.A. 2002. Relative toxicity of arsenite and arsenate on germination and early seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant and Soil* 243: 57–66
- ABEDIN M.J., FELDMANN, J., MEHARG, A.A. 2002. Uptake Kinetics of Arsenic Species in Rice Plants. *Plant Physiology* 128: 1120–1128.
- AKINCI, I.E. & AKINCI, S. 2010. Effect of chromium toxicity on germination and early seedling growth in melon (*Cucumis melo* L.). *African Journal of Biotechnology* 9: 4589-4594.
- ASHRAF, R. & ALI, T.A. 2007. Effect of heavy metals on soil microbial community and mung beans seed germination. *Pakistan Journal of Botany*. 39: 629-636.
- BAKER, A.J.M. 1987. Metal Tolerance. *New Phytologist* 93-111.
- BARROSO, G.M. 1976. Compositae-subtribo Baccharidinae Hoffman: estudo das espécies ocorrentes no Brasil. *Rodriguesia*. 40: 3–273.
- BEWLEY J.D. & BLACK M. 1994. *Seeds: Physiology of Development and Germination*. Plenum Press, New York. 430p.
- BHATTACHARYA, S., GOSWAMI, M.R., BANERJEE, S., BANERJEE, P., GHOSH, S., CHATTOPADHYAY, D., MUKHOPADHYAY, A. 2011. Effects of arsenic toxicity on germination, seedling growth and peroxidase activity in gram seeds. *Proceedings of World Congress on Biotechnology, Hyderabad, India*. organized by OMICS Publishing Group, USA. Venue: HICC complex, Hyderabad, India. 21-23rd March, pp. 591.
- BRASIL. 2009. Regras para análise de sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de defesa agropecuária. 399p.
- CARBONELL-BARRACHINA, A.A. BURLÓ, F. BURGOS-HERNANDEZ, A. LÓPEZ, E. MATAIX, J. 1997. The influence of arsenite concentration on arsenic accumulation in tomato and bean plants. *Scientia Horticulturae* 71: 167-176.
- ESPÍRITO-SANTO, M.M, MADEIRA, B.G. NEVES, F.S. FARIA, M.L FAGUNDES, M. FERNANDES, G.W. 2003. Sexual differences in reproductive phenology and their consequences for the demography of *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae), a dioecious tropical shrub. *Annals of Botany* 91: 13-19.
- FAGUNDES, M. NEVES, F.S. FERNANDES, G.W. 2005. Direct and indirect interactions involving ants, insect herbivores, parasitoids, and the host plant *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae). *Ecological Entomology* 30: 28-35.
- FAGUNDES, M. & FERNANDES, G.W. 2011. Insect herbivores associated with *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae): responses of gall-forming and free-feeding insect herbivores to latitudinal variation. *Revista de Biología Tropical* 59:1-14.

- FERRECCIO, C. & SANCHA, A.M. 2006. Arsenic Exposure and Its Impact on Health in Chile. *Journal of Health, Population and Nutrition* 24: 164-175.
- GARCIA, L.C. BARROS, F.V. LEMOS FILHO, J.P. 2006. Comportamento germinativo de duas espécies de canga ferrífera: *Baccharis retusa* DC. (Asteraceae) e *Tibouchina multiflora* Cogn.(Melastomataceae). *Acta bot. bras.* 20: 443-448.
- GOMES, V. & FERNANDES, G.W. 2002. Germinação de aquênios de *Baccharis dracunculifolia* D.C. (Asteraceae). *Acta botanica brasílica* 16: 421-427.
- HARPER, J.L. LOVEL, P.H., MOORE, K.G. 1970. The shapes and sizes of seeds. *Annual Review of Ecology and Systematics* 1: 327-356.
- ISLAM, M.R., HOSSAIN, M.A., KHAN, S.A.K.U., RAHMAN, M.M. 2008. Effect of Arsenic on Germination and Seedling Growth of Cauliflower, Onion and Red Amaranth. *South Asian Journal of Agriculture*, 3: 11-14.
- JACOBI, C.M. & CARMO, F.F. 2008. Diversidade dos campos rupestres ferruginosos no Quadrilátero Ferrífero, MG. *Megadiversidade* 4: 1-2.
- KRANNER, I. & COLVILLE, L. 2010. Metals and seeds: Biochemical and molecular implications and their significance for seed germination. *Environmental and Experimental Botany* 72: 93-105.
- LEMO FILHO J.P, GUERRA S.T.M., LOVATO M.B. & SCOTTI M.R.M.M.L. 1997. Germinação de sementes de *Senna macranthera*, *Senna multijuga* e *Stryphnodendron polyphyllum*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 32: 357-361.
- LI, W.Q., KHAN, M.A., YAMAGUCHI, S., KAMIYA, Y., 2005. Effects of heavy metals on seed germination and early seedling growth of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Growth Regulation*. 46: 45–50.
- LI, C.X., FENG S.L., SHAO, Y., JIANG, L.N., LU, X.Y., HOU, X.L. 2007. Effects of arsenic on seed germination and physiological activities of wheat seedlings. *Journal of Environmental Sciences* 19: 725–732.
- LIU, X., ZHANG, S., SHAN,X., ZHU, Y.G. 2005. Toxicity of arsenate and arsenite on germination, seedling growth and amyolytic activity of wheat. *Chemosphere* 61: 293-301
- LUAN, Z.Q. CAO, H.C. YAN, B.X. 2008. Individual and combined phytotoxic effects of cadmium, lead and arsenic on soybean in Phaeozem. *Plant soil environment* 54: 403–411.
- MADEIRA, J.A. & FERNANDES, G.W. 1999. Reproductive phenology of sympatric *Chamaecrista* taxa of *Chamaecrista* (Leguminosae) in Serra do Cipó, Brazil. *Journal of Tropical Ecology* 15: 463–479.
- MAGUIRE, J.D. 1962. Speed of germination - aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science* 2: 176-177.

- MASCHER, R. LIPPMANN, B. HOLZINGER, S. BERGMANN, H. 2002. Arsenate toxicity: effects on oxidative stress response molecules and enzymes in red clover plants. *Plant Science* 163: 961-969.
- MEHARG, A.A. & HARTLEY-WHITAKER, J. 2002. Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and nonresistant plant species. *New Phytologist* 154: 29-43.
- MOHAMED-YASSEEN Y., BARRINGER S.A., SPLITTSTOESSER W.E., CONTANZA S. 1994. The role of seed coat in seed viability. *The Botanical Review* 4: 426-439.
- MUNTHAS, S., CHIDAMBARAM, A.A., SUNDARAMOORTHY, P., SANKAR GANESH, K. 2010. Effect of arsenic and manganese on root growth and cell division in root tip cells of green gram (*Vigna radiata* L.). *Emirates Journal of food and agriculture*. 22: 285-297
- RANAL, M.A. & SANTANA, D.G. 2006. How and why to measure the germination process? *Revista Brasileira de Botânica* 29: 1-11.
- RANAL, M.A., SANTANA, D.G., FERREIRA, W.R., MENDES-RODRIGUES, C. 2009. Calculating germination measurements and organizing spreadsheets. *Revista Brasil. Botânica* 32: 849-855.
- SANTANA, D.G. & RANAL, M.A. 2000. Análise estatística na germinação. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*. 12: 205-237.
- SANTANA, D.G. & RANAL, M.A. 2004. Análise da germinação: um enfoque estatístico. Editora UnB, Brasília.
- SARMA, A. GONTIA-MISHRA, I. SRIVASTAVA, A.K. 2011. Toxicity of Heavy Metals on Germination and Seedling Growth of *Salicornia brachiata*. *Journal of Phytology* 3: 33-36.
- TALUKDAR, D. 2011. Effect of arsenic-induced toxicity on morphological traits of *Trigonella foenum-graecum* L. and *Lathyrus sativus* L. during germination and early seedling growth. *Current Research Journal of Biological Sciences* 3: 116-123.
- TOMPSETT, P.B. & PRITCHARD, H.W. 1998. The effect of chilling and moisture status on the germination, desiccation tolerance and longevity of *Aesculus hippocastanum* L. seed. *Annals of Botany*. 82: 249-261.
- TRIPATHI R.D., SRIVASTAVA S., MISHRA S., SINGH N., TULI R., GUPTA D.K. & MAATHUIS F.J.M. 2006. Arsenic hazards: strategies for tolerance and remediation by plants. *Trends in Biotechnology* 25:158-165.
- WANG, H.B. HE, H.B. YANG, G.D. YE, C.Y. NIU, B.H. LIN, W.X. 2010. Effects of two species of inorganic arsenic on the nutrient physiology of rice seedlings. *Acta Physiology Plant* 32: 245–251.
- WHO. 2001. Arsenic and arsenic compounds. *Environmental health criteria*; 224. World Health Organization WHO, 180p.

ZAR J.H. 1996. Biostatistical Analysis. Third Edition. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New York.

ZHAO, F.J., MA J.F., MEHARG A. A., MCGRATH, S.P. 2008. Arsenic uptake and metabolism in plants. *New Phytologist* 181: 777–794.

ZHAO, F.J., MCGRATH, S.P., MEHARG, A.A. 2010. Arsenic as a Food Chain Contaminant: Mechanisms of Plant Uptake and Metabolism and Mitigation Strategies. *Annual Review of Plant Biology* 61: 535–59.

CAPÍTULO II

EFEITOS DO ARSÊNIO NO CRESCIMENTO, ACÚMULO, DISTRIBUIÇÃO E POTENCIAL FITORREMEIADOR DE *Baccharis dracunculifolia* DC (ASTERACEAE)

Capítulo II - Efeitos do arsênio no crescimento, acúmulo, distribuição e potencial fitorremediador de *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae)

RESUMO

O crescimento, acúmulo, distribuição de As e o potencial fitorremediador de *Baccharis dracunculifolia* foram investigados neste estudo. Amostras de solos e indivíduos de *Baccharis dracunculifolia* coletados em área de mineração de ouro em Nova Lima, MG indicaram que a espécie ocorre em áreas com até $8.667\text{mg.kg}^{-1}\text{As}$ e consegue acumular até $72,97\text{mg.MS}^{-1}$ nas folhas e $22,97\text{mg.MS}^{-1}$ no caule. Em laboratório, indivíduos de *B. dracunculifolia* foram mantidos em potes individuais, com substrato contendo areia, solo, vermiculita e matéria orgânica e foram submetidas às seguintes concentrações de arsênio: 0, 5, 10, 25, 50, 100 e 200mg.L^{-1} , sob a forma de arseniato de sódio. Após 60 dias de cultivo nas concentrações de As, os resultados demonstram que houve um aumento de 15% na biomassa total das plantas com $5\text{mg.kg}^{-1}\text{As}$ e 6% de aumento nas plantas dos tratamentos com $10\text{mg.kg}^{-1}\text{As}$. Nas demais concentrações as plantas apresentaram redução da biomassa. *B. dracunculifolia* apresentou sensibilidade ao efeito do arsênio, devido sua interferência no comprimento da parte aérea, espessura do caule, número de folhas e espessura da raiz. Nas concentrações de 100 e 200mg.kg^{-1} algumas plantas apresentaram sintomas de toxicidade como clorose e necrose nas folhas. O As absorvido por *B. dracunculifolia* aumentou progressivamente com o aumento da concentração de arsênio no solo. O conteúdo de As total apresentado pelas plantas dos tratamentos com 5, 10, 25, 50, 100 e $200\text{mg.kg}^{-1}\text{As}$ foram respectivamente, 29,24; 54,12; 76,50; 113,10; 121,56 e $177,13\text{mg.MS}^{-1}$. O arsênio ficou distribuído em todas as partes da planta, porém o acúmulo foi maior nas raízes, e apenas pequena quantidade foi translocada para o caule e folhas. FT foi menor que 1 e FBA maior que 1 em todos os tratamentos. O conteúdo de macronutrientes (P, N, K, Ca, Mg) e micronutrientes (Mn, Cu, Fe, Zn) nas folhas, caule e raízes de *B. dracunculifolia* foi modificado pela presença do As. Os resultados demonstram que a espécie estudada não se caracteriza como fitoextratora de As, mas apresenta potencial para processos de fitoestabilização, recuperação e revegetação de áreas contaminadas com arsênio.

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the growth, accumulation, distribution of As and the phytoremediator potential of *Baccharis dracunculifolia* in a gold mining area. Soil samples and individuals of *B. dracunculifolia* collected in the gold mining in Nova Lima, MG indicated that the species occurs in areas with more than $8.667\text{mg.kg}^{-1}\text{As}$ and can accumulate more than 72.97mg.MS^{-1} in leaves and 22.97mg.MS^{-1} in the stem. Laboratory experiments showed that there was a 15% increase in total biomass of plants with $5\text{mg.kg}^{-1}\text{As}$ and a 6% increase in plants on the treatment of $10\text{mg.kg}^{-1}\text{As}$. In the other arsenic treatments plant had reduced biomass. *B. dracunculifolia* showed sensitivity to arsenic, because the shoot length, stem thickness, leaf number and root thickness were affected. At 100 and $200\text{mg.kg}^{-1}\text{As}$ concentrations, plants showed some toxicity symptoms such as chlorosis and necrosis in leaves. The distribution of As in *B. dracunculifolia* increased progressively with the increasing concentration of arsenic in the soil. The content of arsenic shown by the plants of the treatments with 5, 10, 25, 50,

100 and 200mg.kg⁻¹As were respectively 29.24, 54.12, 76.50, 113.10, 121.56 and 177.13mg.MS⁻¹As. The arsenic was distributed in all parts of the plant, but the accumulation was higher in the roots and only small amounts were translocated to the stem and leaves. FT was less than 1 and FBA was greater than 1 in all treatments. The content of macronutrients (P, N, K, Ca, Mg) and micronutrients (Mn, Cu, Fe, Zn) in leaves, stems and roots of *B. dracunculifolia* were modified by the presence of As. The results showed that the studied species is not characterized as fitoextractor of As, but it has the potential for phytostabilization processes, rehabilitation and revegetation of arsenic-contaminated areas.

INTRODUÇÃO

O arsênio é um metalóide traço normalmente encontrado em minérios de ouro, prata, cobalto, níquel, chumbo, cobre e antimônio; mas está presente em mais de duzentos minerais (Meharg & Hartley-Whitaker 2002). A forma mais comum é a arsenopirita (FeAsS) (WHO 2001), considerado um dos mais importantes sulfetos que ocorrem em corpos de minério aurífero. Com o intemperismo atmosférico a arsenopirita é oxidada liberando o arsênio para o meio ambiente (Borba *et al.* 2004).

O arsênio apresenta uma alta capacidade de retenção nos solos (Andrade 2008) e sua mobilidade depende das propriedades físicas e químicas deste. A biodisponibilidade do arsênio está diretamente relacionada com o conteúdo de óxidos de Fe e Al, pH, tipo e conteúdo de argila nos solos, entre outros fatores (WHO 2001, Campos *et al.* 2007). Em geral há um incremento na toxicidade em plantas quando o solo encontra-se mais ácido, em geral com pH abaixo de 5 (Deschamps & Matschullat 2007). A fitotoxicidade do arsênio depende da espécie presente no solo, no qual o arsenito, As(III), é mais fitotóxico que o arsenato, As(V). O As(V) é a forma predominante na fase sólida dos solos enquanto o As(III) ocorre em ambientes residuais e em solos encharcados ou com significativo conteúdo de matéria orgânica (Zhao *et al.* 2010). Estas são as duas formas inorgânicas de arsênio e são as formas predominantemente biodisponíveis para as plantas (Meharg & Hartley-Whitaker 2002). Formas metiladas como DMA e MMA podem ser absorvidas pelas plantas, porém em quantidades bem inferiores quando comparadas às formas inorgânicas (Zhao *et al.* 2008).

O arsênio é bastante tóxico para a grande maioria das plantas. O arsenato, por ser análogo ao fosfato, é absorvido como um análogo não funcional, através da membrana plasmática das raízes; porém os mecanismos de transporte apresentam maior afinidade pelo fosfato (Zhao *et al.* 2008). Quando dentro do citoplasma celular, devido à

sua semelhança química com o fosfato, o As(V) o substitui na adenosina-tri-fosfato (ATP), formando um complexo instável “ADP-As” que acarreta no desacoplamento do fluxo de energia nas células e redução dos níveis de ATP celular. O arsênio também influencia na absorção e distribuição de nutrientes por meio da competição direta com elementos essenciais, por alteração em processos metabólicos que levam à diminuição da energia necessária nos sistemas de transporte transmembrana ou por causar injúrias no sistema radicular prejudicando as suas funções (Meharg & Hartley-Whitaker 2002). Assim, as plantas sensíveis ao As sofrem considerável estresse quando expostas ao elemento. Além das desordens bioquímicas e fisiológicas são observados sintomas como cloroses, necroses, diminuição do crescimento, escurecimento das raízes e mudanças na arquitetura radicular, no número de folhas e na produção da massa seca, ou até a morte da planta (Meharg & Hartley-Whitaker 2002, Deschamps & Matschullat 2007, Zhao *et al.* 2008).

As plantas desenvolveram basicamente duas estratégias que as permitiram sobreviver e reproduzir em ambientes ricos em As: excluir ou acumular este elemento (Whiting *et al.* 2005, Nascimento & Xing 2006). A estratégia de exclusão consiste em restringir a translocação do As das raízes para partes aéreas, sendo a mais comum entre as plantas (Deschamps & Matschullat 2007). A estratégia de acumulação envolve sua concentração principalmente na parte aérea (Reeves 2006). Há plantas capazes de estocar grandes quantidades de metais/metaloídes nos tecidos, chamadas hiperacumuladoras. Até o presente momento apenas as pteridófitas são conhecidas como hiperacumuladoras de arsênio. *Pteris vittata* pode acumular acima de 22.630 mg.kg⁻¹ As (Ma *et al.* 2001), concentrando 2,3% deste elemento em sua biomassa enquanto outra pteridófitas, *Pityrogramma calomelanos*, consegue acumular 8.350 mg.kg⁻¹ As em sua massa seca (Francesconi *et al.* 2002, Visoottiviseth *et al.*, 2002). Há também plantas com capacidade intermediária de acumular As como *Oryza sativa*, *Triticum aestivum* e *Hordeum vulgare* (Zhao *et al.* 2010). A capacidade destas plantas hiperacumuladoras de extrair grandes quantidades de contaminantes, visando o estabelecimento de vegetação de áreas contaminadas, faz crescer ainda mais o interesse de cientistas, empresas e governo, pelo desenvolvimento de ferramentas de fitorremediação (Prasad & Freitas 2003).

A capacidade das plantas de absorver e acumular As em seus tecidos e a habilidade de transferir este elemento para os seus órgãos da parte aérea tem sido avaliada por meio do fator de bioacumulação (FBA) e do fator de transferência (FT) (Tu & Ma 2002, Zhao *et al.* 2010). O FBA é definido pela razão entre a concentração de As na planta e a concentração de As no solo. O FT é definido pela razão entre a concentração de As na biomassa aérea da planta (caule e folhas) e a concentração de As nas raízes (Tu & Ma 2002). A planta é considerada hiperacumuladora quando FT e FBA apresentam valores acima de 1 e a concentração de As total deve ser superior a 1000mg.kg^{-1} na biomassa da planta (Dias *et al.* 2010, Zhao *et al.* 2010).

Uma das localidades mais contaminadas pelo arsênio no mundo encontra-se no Quadrilátero Ferrífero no estado de Minas Gerais (Brasil). Não obstante os avanços tecnológicos e da legislação atuais a região apresenta um quadro crônico de contaminação da água e do solo devido aos rejeitos e cavas a céu aberto das minerações que constituem fontes substanciais de arsênio (Borba *et al.* 2000, Deschamps *et al.* 2002, Deschamps & Matschullat 2007). Estima-se que nos últimos três séculos, 390.000 toneladas de As tenham sido liberadas na região até o final do século XX (Borba *et al.* 2000). Estudos na cidade de Nova Lima revelam altos teores de As, que podem ultrapassar 5.000 mg.kg^{-1} , especialmente próximos a depósitos de rejeitos de mineração (Deschamps *et al.* 2002, Deschamps & Matschullat 2007). A exposição humana a este elemento está fortemente ligada a várias doenças, inclusive a diversos tipos de cânceres (Ferrecchio & Sancha 2006, Rahman 2006), sendo notório o conhecimento da relação entre a exposição ao arsênio e o óbito de vários moradores da referida região (Deschamps & Matschullat 2007). O impacto ambiental causado pelo As também atinge toda a comunidade biológica e assim as cascatas tróficas (Nemeth 1993, Zhao *et al.* 2010), embora este aspecto ainda não tenha sido abordado na região. A correta exposição e acondicionamento das pilhas de material estéril bem como a descontaminação do solo, cursos d'água e lençol freático tornam-se, portanto assuntos de extrema necessidade (Sarma 2011).

Observações casuais indicam uma grande quantidade de indivíduos de *Baccharis dracunculifolia* crescendo em áreas com altas concentrações de As nas proximidades de Nova Lima, fornecendo assim um cenário ideal para estudos que visam contribuir com soluções cientificamente embasadas para este grave problema ambiental. *Baccharis*

dracunculifolia é arbusto nativo que apresenta vários aspectos relevantes que apontam-na como uma espécie potencial para estudos de fitorremediação, por esta apresentar crescimento rápido, ser pioneira e frequentemente encontrada em áreas de grande perturbação antrópica. Assim, os objetivos do presente estudo foram: 1) avaliar as respostas de *B. dracunculifolia* ao arsênio, determinando acúmulo e distribuição de As nas plantas (raiz, caule, folha); 2) avaliar possíveis alterações no desenvolvimento de *B. dracunculifolia* na presença de As; 3) avaliar o efeito do arsênio na absorção e distribuição de nutrientes de *B. dracunculifolia*; e finalmente 4) avaliar o potencial fitorremediador desta espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

A espécie selecionada

Baccharis dracunculifolia D.C. é uma espécie de ampla distribuição no Brasil e em países da América do Sul (Barroso 1976). A espécie é pioneira e tem importância destacada na regeneração natural após distúrbios como fogo (Tabarelli & Mantovani 1999, Galindez *et al.* 2009). *B. dracunculifolia* apresenta ainda plasticidade fenotípica (Negreiros *et al.* 2010) e crescimento rápido (Espírito Santo *et al.* 2003, Fagundes *et al.* 2005, Müller *et al.* 2007). Além disso, apresenta ampla distribuição em biótopos urbanos sujeitos a vários graus de distúrbios antrópicos e de poluição atmosférica e está associada uma grande diversidade de outros organismos (Rodarte *et al.* 1998, Araújo *et al.* 2003)

Área de ocorrência e coletas de campo

Amostras de solos e partes de plantas de *Baccharis dracunculifolia* foram coletados na cidade de Nova Lima, Minas Gerais (19°59'09''S, 43°50'49''W), distante cerca de 35km de Belo Horizonte e inserida na região do Quadrilátero Ferrífero do estado de Minas Gerais, Brasil (Figura 1). As coletas foram realizadas nas imediações da área de mineração (Planta do Queiroz) pertencente a empresa AngloGold Ashanti, (19°58'13''S, 43°49'17''W). As atividades de mineração nesta região iniciaram no século XIX e ainda encontram-se ativas. Nesta mesma área funcionou uma fábrica de trióxido de arsênio, que manteve suas atividades do início da década de 1940 até 1975, aumentando ainda mais o passivo ambiental na região. O local já foi alvo de vários

estudos que comprovam os altos valores de contaminação por As nos solos e águas (Deschamps & Matschullat 2007). As coletas foram feitas em quatro áreas, todas próximas à locais de rejeito da mineradora, a fim de avaliar os teores de As presentes no solo e nos tecidos das plantas (Figura 2).

Foram coletadas amostras de caule e folhas de doze indivíduos de *B. dracunculifolia* e doze amostras de solo, em profundidade de 0-15cm, para avaliação do conteúdo de As total. O solo foi obtido imediatamente abaixo da copa dos indivíduos amostrados. As raízes dos indivíduos não foram coletadas devido a localização de difícil acesso, normalmente próximo a encostas. Para as leituras do As foi utilizado o espectrômetro de massas com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). A determinação foi realizada pela Embrapa Solos (CNPQ). Todas as amostras foram analisadas em triplicata.

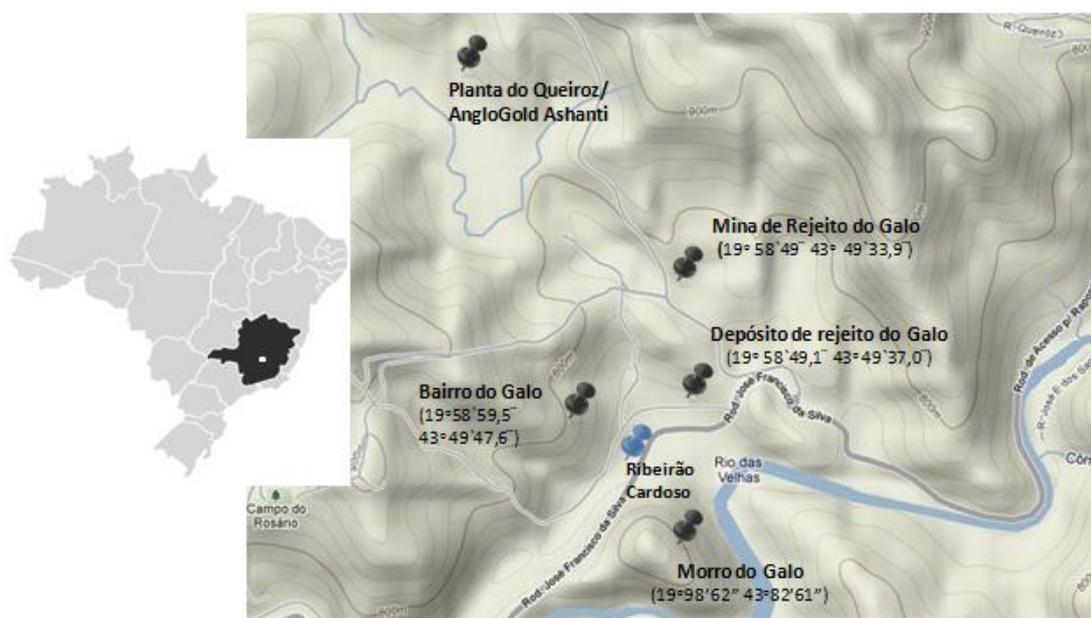


Figura 1: Localização das 4 áreas amostradas em Nova Lima, Minas Gerais. Área1: Depósito de rejeito do Galo (na margem esquerda do Ribeirão Cardoso); Área 2: Mina de Rejeito do Galo; Área 3: Morro do Galo (na margem direita do Ribeirão Cardoso); Área 4: Bairro do Galo.

Condução dos experimentos

Para estudar os efeitos do arsênio no desenvolvimento de *Baccharis dracunculifolia*, foram obtidos aquênios maduros de *B. dracunculifolia* a partir de coleta

manual de aproximadamente 30 indivíduos localizados na Reserva Particular Natural Vellozia, na Serra do Cipó, Minas Gerais, Brasil (19°17'S, 43°35'W). Estes aquênios foram colocados para germinar em bandejas plásticas com substrato contendo areia e umedecidos duas vezes ao dia. Este procedimento foi realizado em casa de vegetação, localizada no Instituto de Ciências Biológicas, Campus da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil (19°30'S, 44°00'W).

Após emissão do primeiro par de folhas, 105 plântulas foram cuidadosamente transplantadas para vasos de Polietileno de Alta Densidade (HDPE) de 1,7L (20 cm de altura x 12 cm de diâmetro), com substrato composto por uma mistura de areia, solo, vermiculita e matéria orgânica, mantidas com solução nutritiva (N-P-K), e irrigadas diariamente, de modo a manter a umidade do substrato próximo à saturação, pelo método da pesagem, conforme Novais *et al.* (1991). Foi colocado apenas uma plântula por vaso. O pH do solo foi aferido em 6,0.

Após aproximadamente dois meses, quando as plântulas apresentavam em média 20 cm de altura, demonstravam vigor e uniformidade, os tratamentos com arsênio (As) foram aplicados. As doses de As(V) foram preparadas a partir da adição de 4,16g de arseniato de sódio ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) em água destilada, para obtenção de uma solução estoque de $1.000 \text{ mg.L}^{-1}\text{As}$. A partir desta solução foram feitas as diluições necessárias para se atingir as concentrações: 5, 10, 25, 50, 100 e $200 \text{ mg.L}^{-1}\text{As}$. O grupo controle foi mantido apenas com água destilada. Para cada tratamento foram utilizados quinze vasos com uma planta em cada. O período de exposição das plantas ao arsênio foi de 60 dias.

Parâmetros avaliados

Ao longo do experimento foram realizados registros fotográficos e avaliações visuais das plantas para avaliar possíveis efeitos tóxicos. Ao final do experimento, a fim de avaliar possíveis alterações no desenvolvimento de *B. dracunculifolia* em diferentes concentrações de As, foram analisados parâmetros de crescimento como se segue: foram contados manualmente o número de folhas e número de ramos; foram aferidos as espessuras do caule e raiz com o auxílio de um paquímetro; e com uma fita métrica foram medidos os comprimentos da parte aérea e da raiz de cada indivíduo. Para as análises das raízes, as plantas foram coletadas dos vasos e foi realizada uma cuidadosa lavagem em água corrente sobre uma peneira de 3mm de abertura de malha, seguida de subsequente triagem com auxílio de pincel e pinça, até remoção completa

das partículas de substrato aderidas às raízes. Para as análises de alocação de biomassa, as plantas foram separadas em folhas, caules e raízes e avaliadas a biomassa fresca (g) e, após secagem em estufa a 60°C, até peso constante, foi determinada a massa seca (g) destes órgãos, medidos por uma microbalança (modelo SE2, precisão de 0,1µg).

Para a determinação dos conteúdos de arsênio total e nutrientes, amostras de 0,5g de material seco, de raízes, caules e folhas foram triturados em moinho tipo Willye equipado com peneira com malha de 0,38 mm e em seguida digeridos em tubos contendo 10 ml de solução nitro-perclórica 3:1 e mantidas a temperatura ambiente por um período de 12 horas. Na seqüência, os tubos foram transferidos para bloco digestor cuja temperatura deve ser aumentada gradativamente até 150°C, para evitar a volatilização do As, até a completa digestão da matéria orgânica (USEPA 2007). Após resfriamento a solução resultante foi diluída, filtrada e transferida para balão volumétrico de 50 ml completando-se o volume com água deionizada. A partir desta solução foi determinada a concentração do As e nutrientes por espectrômetro de massas com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), (Modelo Elan DRC II, Perkin Elmer Optima, EUA). Provas em branco foram analisadas para avaliar possíveis contaminações. O solo usado em todos os tratamentos também foi caracterizado quanto ao conteúdo de As total e presença de elementos minerais (macro e micro nutrientes). As análises do solo foram realizadas pela Embrapa-solos (CNPS).

A partir dos dados sobre o teor de As acumulado por unidade de matéria seca das plantas, foi calculado o fator de transferência (FT), definido como a razão entre a concentração de arsênio na parte aérea da planta (folhas e caule) a concentração de arsênio nas raízes e o fator de bioacumulação (FBA), definido pela razão entre a concentração de arsênio na planta e a concentração de arsênio no solo. Estas medidas foram utilizadas para determinar o potencial fitorremediador da espécie (Ma *et al.* 2001, Tu & Ma 2002, Zhao *et al.* 2010).

Análises estatísticas

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com sete concentrações de As e quinze repetições. Para análise de As total e nutrientes, houve a necessidade de juntar amostras para obtenção de maior quantidade de material. Assim, as análises apresentadas representam apenas três repetições por tratamento. Todavia, tomou-se o cuidado de realizar triplicatas das análises, de modo a garantir a veracidade

dos resultados. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e apresentados como médias e erro padrão, seguidos pelo Teste de Tukey ($\alpha=0,05$). Quando necessário os dados foram submetidos ao ajuste de modelos de regressão.

RESULTADOS

Análise de solo e plantas coletadas na área em estudo

Todas as amostras de solo coletadas em Nova Lima apresentaram conteúdo de arsênio, que variaram de 194 a 8.667 mg.kg⁻¹As (Figura 2). Na área 3, onde funcionava a antiga fábrica de trióxido de arsênio, no Morro do Galo, foram encontrados os maiores teores de As no solo (8.563 mg.kg⁻¹As em média), enquanto na área 4 foram encontrados os menores teores (202 mg.kg⁻¹As em média). A área 1, próxima a um depósito de rejeito da mineradora, também apresentou elevados teores de As no solo (média de 5.896 mg.kg⁻¹As). A área 2, próxima a uma mina de rejeito, apresentou em média 876 mg.kg⁻¹As.

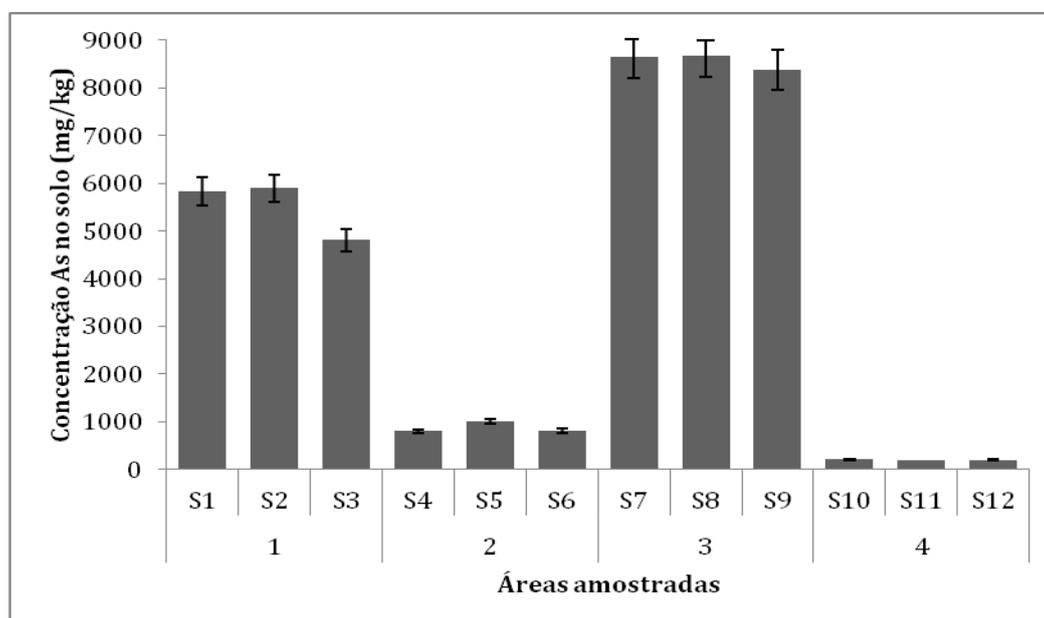


Figura 2: Análise de arsênio total das amostras de solo coletadas em quatro áreas em Nova Lima, Minas Gerais. Foram coletadas e analisadas 3 amostras em cada área. S1-S12 representam um total de 12 amostras analisadas.

Foram encontrados teores de arsênio em todos os indivíduos coletados nas quatro áreas (Figura 3). Indivíduos da área 1 apresentaram os maiores teores de As nas

folhas ($72,97 \text{ mg.kg}^{-1}\text{As}$) e no caule ($22,97 \text{ mg.kg}^{-1}\text{As}$). Na área 3, onde foram encontrados os maiores teores de As no solo, as plantas apresentaram em média $38,70 \text{ mg.kg}^{-1}\text{As}$ nas folhas e $14,57 \text{ mg.kg}^{-1}\text{As}$ nos caules e na área 4, apesar de ter apresentado os menores conteúdos de As no solo, as amostras dos indivíduos também apresentaram As. Nas folhas foram aferidos $13 \text{ mg.kg}^{-1}\text{As}$ e nos caules $6,64 \text{ mg}$ de As por quilo de massa seca (Figura 3).

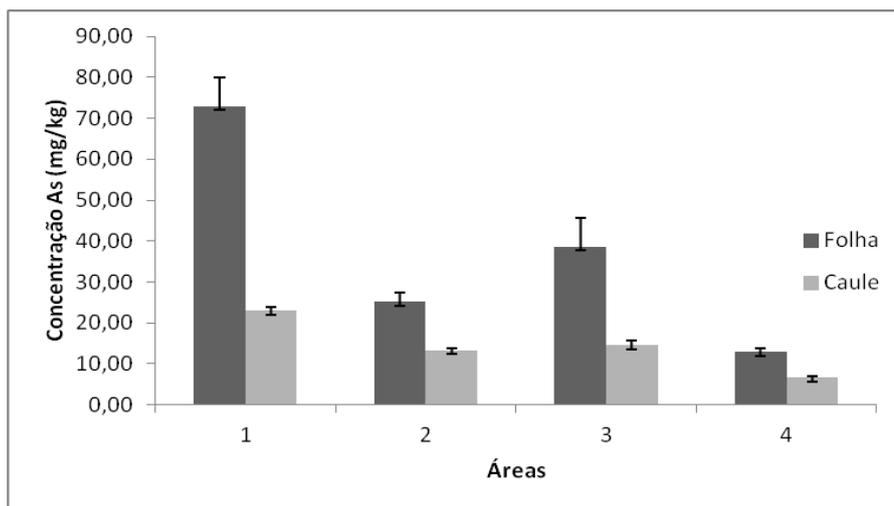


Figura 3: Variação da concentração de arsênio (mg.kg^{-1}) (média e erro padrão) nas folhas e caules de indivíduos de *Baccharis dracunculifolia* coletados nas quatro áreas próximas a mineradora em Nova Lima.

Biomassa, Crescimento e Arsênio (experimentos em casa de vegetação)

A biomassa total de *B. dracunculifolia* diferiu significativamente entre os tratamentos com diferentes concentrações de arsênio ($p < 0,001$, Fig.4). Houve um aumento de 15% na biomassa total das plantas tratadas com $5 \text{ mg.kg}^{-1}\text{As}$ e 6% de aumento nas plantas do tratamento com $10 \text{ mg.kg}^{-1}\text{As}$, (Figura 4). Nas demais concentrações, 25, 50, 100 e $200 \text{ mg.kg}^{-1}\text{As}$, a biomassa total foi reduzida em 5, 12, 15 e 17%, respectivamente, com relação ao controle (Tabela 1).

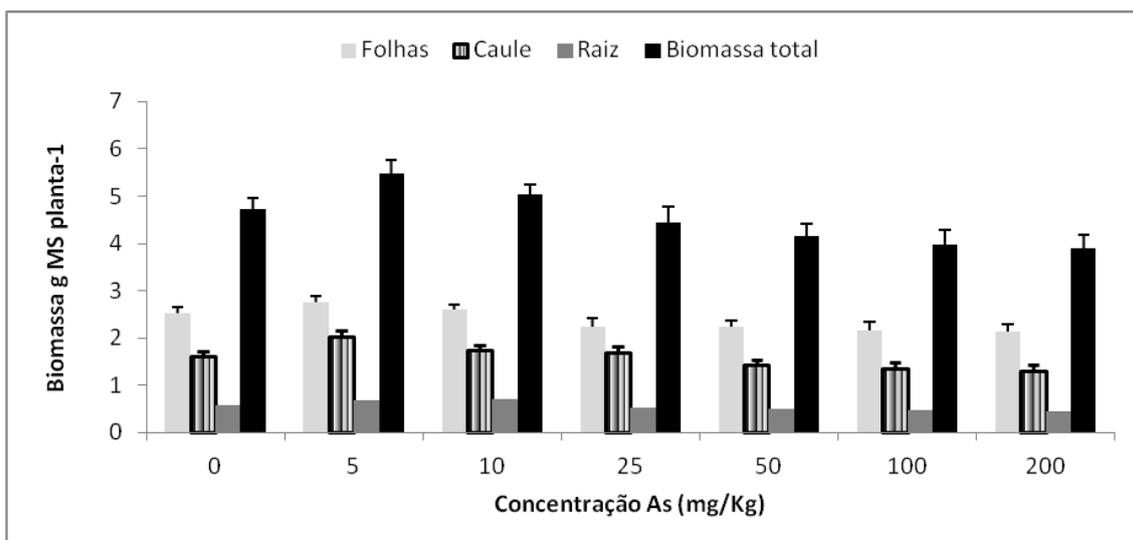


Figura 4: Variação da biomassa de folhas, caule, raízes e biomassa total das plantas de *Baccharis dracunculifolia* cultivadas sob diferentes concentrações de arsênio (médias e erro padrão).

A massa seca das folhas apresentou redução significativa ($p < 0,004$) apenas nos indivíduos nos quais foram aplicadas as maiores concentrações de As (100 e 200 mg.kg^{-1} As). Nos tratamentos de 5 e 10 mg.kg^{-1} As, houve ganho de matéria seca das folhas em 9 e 3%, respectivamente. Nas plantas dos tratamentos com 25 e 50 mg.kg^{-1} As, a redução foi de 11%, mas não sendo estas estatisticamente significativas (Fig.4, Tab 1).

Nos tratamentos com 5, 10 e 25 mg.kg^{-1} As houve ganho de massa seca nos caules de 24, 6 e 4%, respectivamente. Nas demais concentrações a redução foi estatisticamente significativa quando comparados ao grupo controle ($p < 0,0009$). Nas concentrações com 50 mg.kg^{-1} As, houve redução de 11% da massa seca dos caules, nos tratamentos com 100 mg.kg^{-1} As, reduziu 17% e nos de 200 mg.kg^{-1} As, a redução foi de 19% (Fig. 4, Tab 1).

Com relação à massa seca das raízes, as plantas dos tratamentos com 5 e 10 mg.kg^{-1} As apresentaram 20% de ganho de massa seca. Nos outros tratamentos a massa seca começou a reduzir significativamente ($p < 0,0003$). Nos tratamentos com 25, 50, 100 e 200 mg.kg^{-1} As, a massa seca das raízes reduziu 10, 15, 16 e 20% com relação ao grupo controle (Fig. 4, Tab 1), respectivamente.

Tabela 1: Biomassa (g) das folhas, caules, raízes e massa seca total das plantas de *Baccharis dracunculifolia* submetidas a diferentes tratamentos com As. Os valores apresentam as médias \pm erro padrão. Médias seguidas por letras diferentes diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$) ($n = 5$). ns= não significativo ($p > 0,05$).

As (mg/Kg)	Folhas	Caule	Raiz	Massa seca total
0	2,52 \pm 0,13 ^a	1,62 \pm 0,11 ^a	0,58 \pm 0,03 ^a	4,72 \pm 0,25 ^a
5	2,75 \pm 0,14 ^{ns}	2,02 \pm 0,14 ^{ns}	0,69 \pm 0,05 ^a	5,47 \pm 0,30 ^a
10	2,60 \pm 0,11 ^{ns}	1,74 \pm 0,12 ^{ns}	0,7 \pm 0,07 ^{ab}	5,03 \pm 0,22 ^{ab}
25	2,24 \pm 0,17 ^{ns}	1,70 \pm 0,13 ^{ns}	0,51 \pm 0,05 ^{ab}	4,45 \pm 0,33 ^{abc}
50	2,23 \pm 0,14 ^{ns}	1,43 \pm 0,09 ^b	0,49 \pm 0,05 ^{ac}	4,15 \pm 0,25 ^{bc}
100	2,15 \pm 0,18 ^b	1,34 \pm 0,13 ^b	0,48 \pm 0,04 ^c	3,98 \pm 0,32 ^c
200	2,13 \pm 0,15 ^b	1,31 \pm 0,13 ^b	0,44 \pm 0,08 ^c	3,88 \pm 0,29 ^c

O arsênio influenciou os seguintes parâmetros de crescimento analisados: comprimento da parte aérea, espessura do caule e raiz e número de folhas. As plantas dos tratamentos com 5, 10 e 25mg.kg⁻¹As, apresentaram uma redução de 3, 8 e 9% no comprimento da parte aérea, quando comparados ao grupo controle (Figura 5). Nos tratamentos com 50, 100 e 200mg.kg⁻¹As, a diferença foi maior, reduzindo respectivamente, 12, 14 e 16%. Foi demonstrado que 88% da variação no comprimento da parte aérea foi explicada pelo aumento da concentração de As (Figura 5). Com relação à espessura do caule, também houve redução nas plantas de todos os tratamentos com relação ao grupo controle (Figura 5). Nos tratamentos com 5mg.kg⁻¹As, a redução foi de apenas 2,4% , e nos outros tratamentos, 10, 25, 50, 100mg.kg⁻¹As as reduções foram de 9, 6, 7 e 10% e foi ainda maior (19%) no tratamento com 200mg.kg⁻¹As. Estes resultados demonstram que 81% de redução da espessura do caule de plantas de *B. dracunculifolia* foram explicadas pelo aumento da concentração de arsênio, de acordo com as análises de regressão (Tabela 2).

Quanto ao número de folhas, a redução também foi significativa ($p=0,04$). No tratamento com 5 mg.kg⁻¹As, a redução foi de menos de 1% com relação ao grupo controle. E nos tratamentos com 5, 10, 25, 50, 100 e 200 as reduções foram maiores, em 7, 8, 6, 13 e 12% respectivamente (Figura5). Com relação ao número de ramos, o grupo controle apresentava em média 17 ramos. Nos tratamentos com 5 e 10mg.kg⁻¹As, a

redução foi de 7% no número de ramos. Nas demais concentrações com arsênio 25, 50, 100 e 200 as plantas apresentaram reduções entre 14 e 19% (Figura 5).

A espessura da raiz também variou significativamente ($p=0,003$). A maior redução (15%) ocorreu nas plantas dos tratamentos com $100\text{mg.kg}^{-1}\text{As}$, seguido pelo tratamento com $200\text{mg.kg}^{-1}\text{As}$, onde a redução foi de 10%. Nos tratamentos com $5\text{mg.kg}^{-1}\text{As}$, a redução foi a menor (1,7%) e nas concentrações de 10, 25 e $50\text{mg.kg}^{-1}\text{As}$, as reduções foram 6, 6 e 9% respectivamente (Figura 6).

O comprimento da raiz não foi afetado pelo aumento na concentração de arsênio. No tratamento com a menor concentração de As ($5\text{mg.kg}^{-1}\text{As}$), as plantas apresentaram um aumento no crescimento da raiz (3,44%) com relação ao grupo controle. Nos outros tratamentos, a raiz apresentou-se menor do que as plantas do grupo controle e as reduções foram 1,6; 2,9; 4,3; 5,2 e 5,9% referentes aos tratamentos com 10, 25, 50, 100 e $200\text{mg.kg}^{-1}\text{As}$ (Figura 6).

Foram observados alguns sintomas de toxicidade nas folhas de indivíduos de *B. dracunculifolia* submetidos às maiores doses de arsênio (100 e 200mg.kg^{-1}). Algumas folhas apresentavam sintomas visíveis como clorose, amarelecimento, necrose principalmente das extremidades, assim como murcha e queda de algumas folhas (Figura 7). Não foram observados sinais de injúria nas raízes, como escurecimento ou alteração no aspecto. Por outro lado, houve uma menor emissão de raízes secundárias, o que provavelmente levou a diminuição da biomassa desde órgão na presença de concentrações mais elevadas de arsênio (Figura 8).

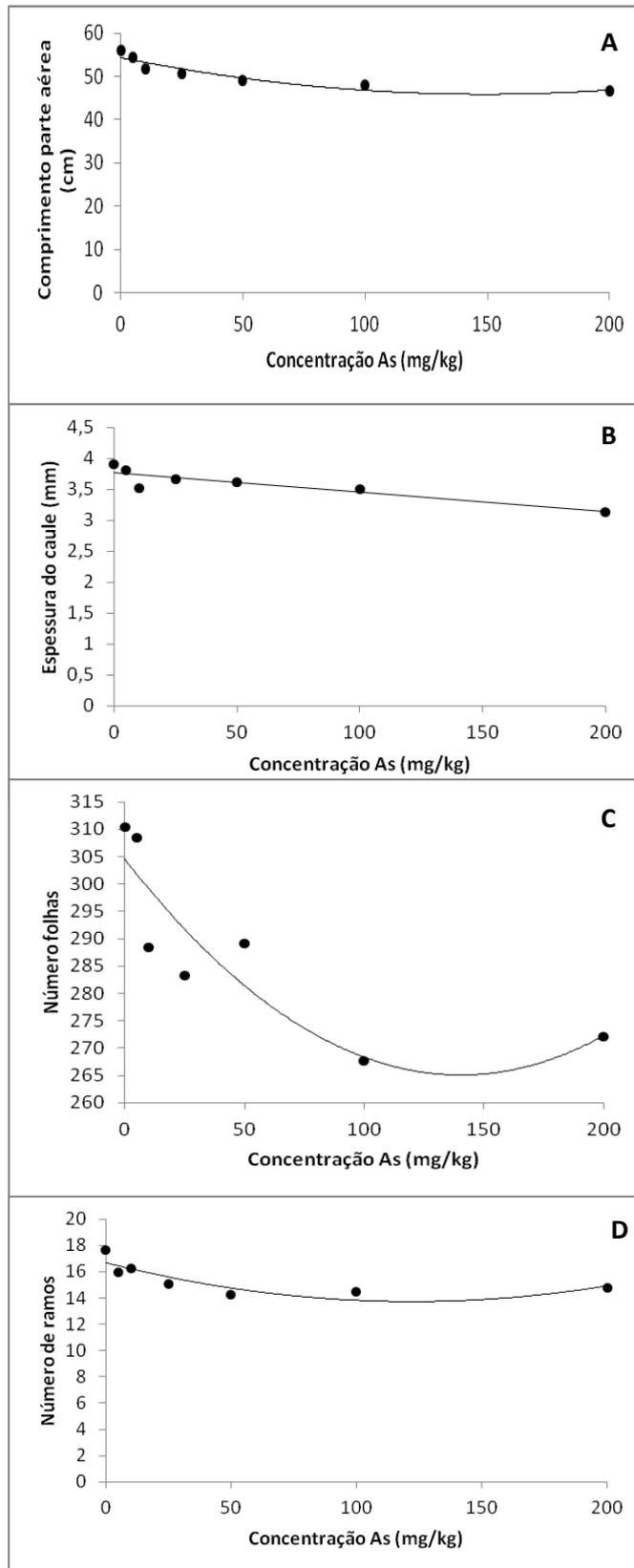


Figura 5: Variação de parâmetros de crescimento em indivíduos de *Baccharis dracunculifolia* submetidos a diferentes doses de As. (A) Comprimento parte aérea (B) Espessura caule (C) número de folhas (D) número de ramos. Estão representadas as médias de cada tratamento.

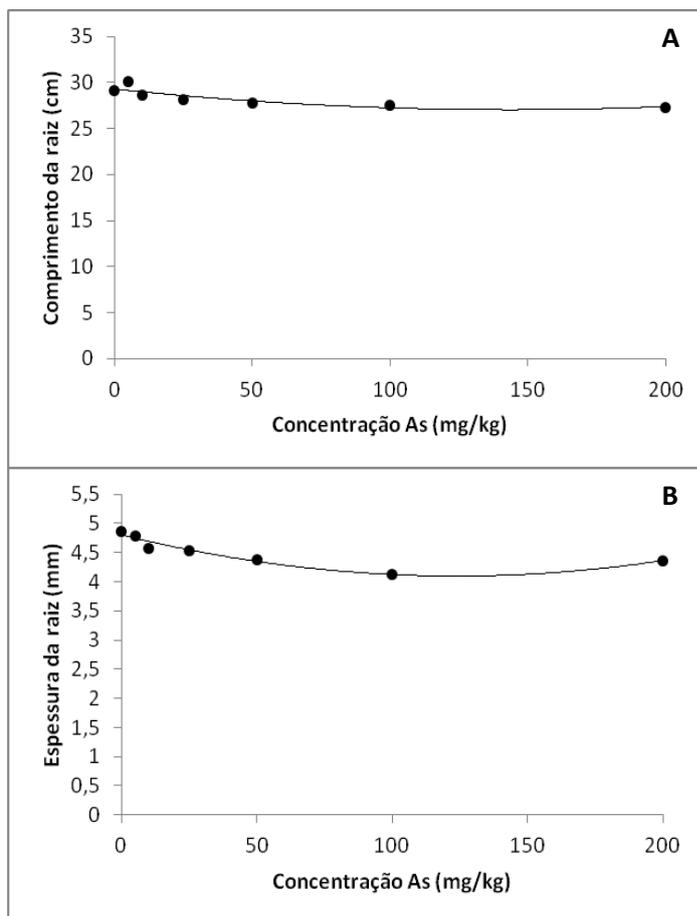


Figura 6: Variação de parâmetros de crescimento em indivíduos de *Baccharis dracunculifolia* submetidos a diferentes doses de As. (A) Comprimento raiz (B) Espessura raiz. Estão representadas as médias de cada tratamento.

Tabela 2: Análise de regressão de parâmetros de crescimento em *Baccharis dracunculifolia* sob diversas concentrações de As

Índice	Equação da regressão	Coefficiente de correlação
Comp. Parte aérea	$y = 0,0004x^2 - 0,1141x + 54,339$	$r = 0,874^*$
Espessura Caule	$y = -0,0031x + 3,7657$	$r = 0,8122^*$
Númeo folhas	$y = 0,002x^2 - 0,5626x + 304,57$	$r = 0,7971^*$
Número ramos	$y = 0,0002x^2 - 0,0485x + 16,689$	$r = 0,75^{ns}$
Comp. Raiz	$y = 0,0001x^2 - 0,0314x + 29,287$	$r = 0,7602^{ns}$
Espessura Raiz	$y = 5E-05x^2 - 0,0114x + 4,8028$	$r = 0,945^*$

*= $p < 0,05$; $^{ns} = p > 0,05$

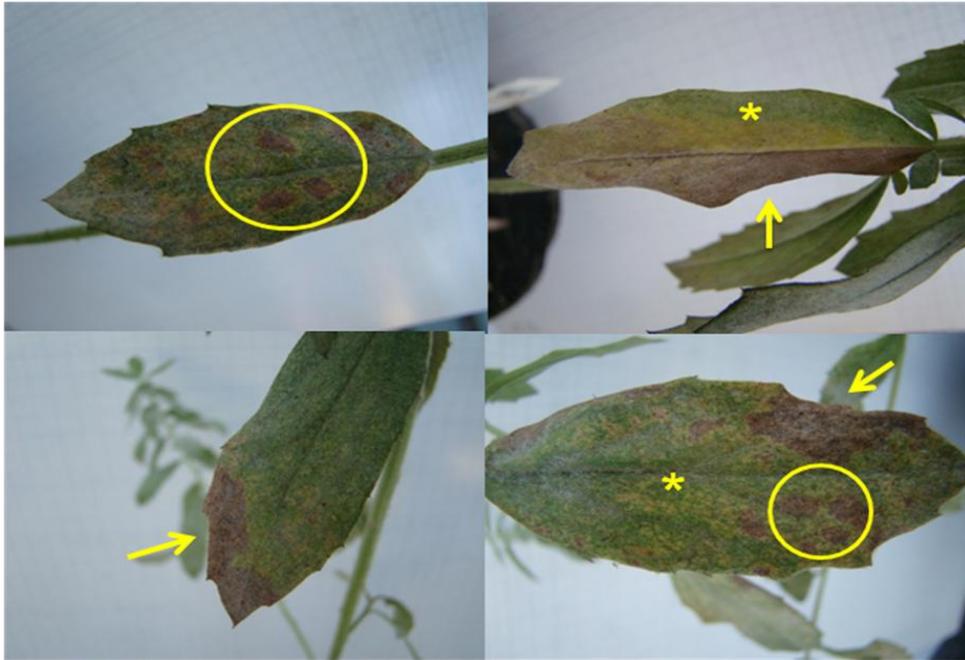


Figura 7: Efeitos do arsênio no aspecto geral das folhas de *B. dracunculifolia* nos tratamentos com 100 e 200 mg.kg⁻¹As. Seta: necroses marginais; asterisco: cloroses; círculos: manchas escuras.

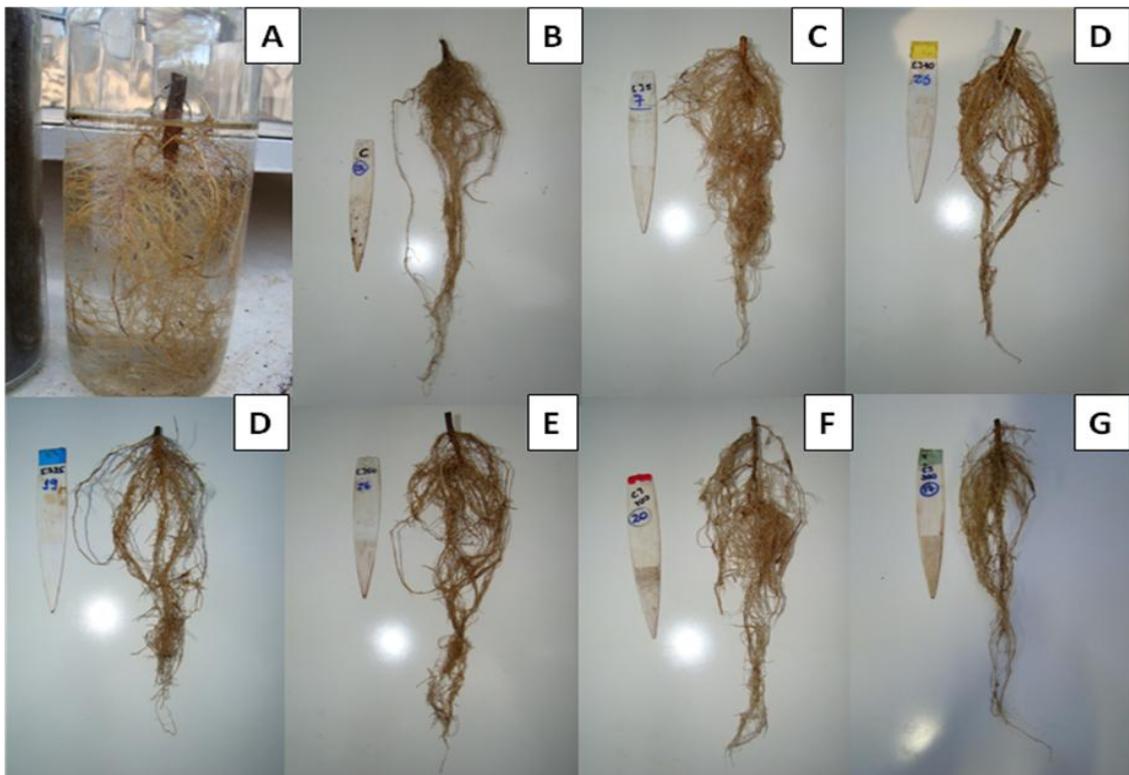


Figura 8: Efeitos do arsênio no sistema radicular de *Baccharis dracunculifolia* (A) Detalhe da raiz após coleta e remoção completa do substrato (B) Grupo controle (C) 5 mg.kg⁻¹As (D) 10 mg.kg⁻¹As (E) 25 mg.kg⁻¹As (F) 50 mg.kg⁻¹As (G) 100 mg.kg⁻¹As (H) 200 mg.kg⁻¹As.

Acúmulo e distribuição de arsênio

A quantidade de As nos tecidos de *B. dracunculifolia* aumentou progressivamente com o aumento da concentração de arsênio no solo. A variação da concentração de As no solo explicou 86% da concentração de As nos tecidos de *B. dracunculifolia* (Figura 9). As plantas do grupo controle também apresentaram conteúdo de arsênio em seus tecidos, pois embora tenham recebido apenas água destilada durante todo experimento, o solo utilizado continha naturalmente uma média de 9,24 mg.kg⁻¹As (Figura 9). As plantas do grupo controle apresentaram em média, 16,35 mg de As total por quilo de massa seca. No tratamento com 5 mg.kg⁻¹, o As total medido nas plantas foi em média, 29,24 mg.MS⁻¹. Nos demais tratamentos (10, 25, 50, 100 mg.kg⁻¹As) o As total foi de 54,12; 76,50; 113,10; 121,56 mg.MS⁻¹ e no tratamento com a maior concentração (200 mg.kg⁻¹As) o As total foi de 177, 13 mg.MS⁻¹.

O arsênio apresentou-se distribuído em todas as partes da planta, porém o acúmulo foi maior nas raízes, e apenas pequena quantidade foi translocada para o caule e folhas. O teor de arsênio nas raízes também aumentou com a elevação das doses de arsênio, sendo que 96% desta variação pode ser explicada pelo aumento do As no solo (Fig. 10). O maior teor de arsênio encontrado nas raízes foi de 123 mg.MS⁻¹, na dosagem de 200 mg.kg⁻¹As e o menor teor (24,83 mg.MS⁻¹As) foi encontrado nas plantas dos tratamentos com 5 mg.kg⁻¹As. Nas demais concentrações (10, 25, 50 e 100 mg.kg⁻¹As) as médias de As encontrados nas raízes foram de 48,50; 66,43; 94,77 e 92,53 mg.MS⁻¹ (Figura 10).

O conteúdo de arsênio nas folhas e caules, embora menores que nas raízes, também aumentou progressivamente com o aumento da concentração de arsênio utilizada. Nos caules, as doses de arsênio nas plantas dos tratamentos controle, 5, 10, 25, 50, 100 e 200 mg.kg⁻¹As foram respectivamente 1; 2; 2,84; 5,85; 12,33; 22 e 47,80 mg.MS⁻¹ e nas folhas 4; 2,36; 2,78; 4,21; 6; 6,83 e 8,33 mg.MS⁻¹ (Figura10).

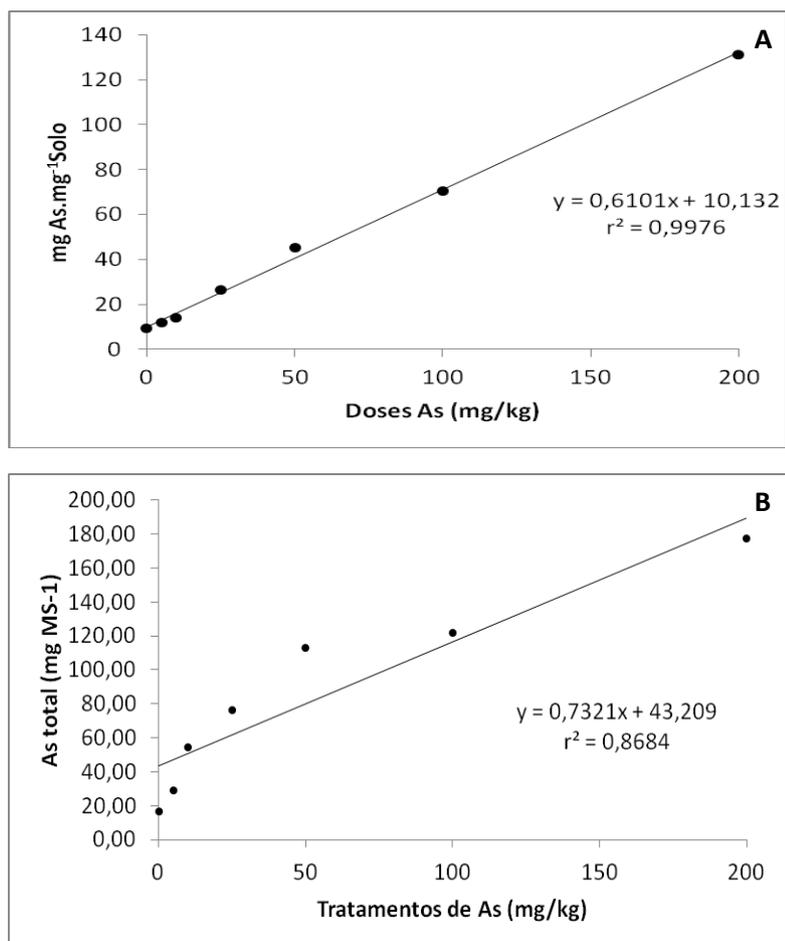


Figura 9: Concentração de As (A) nos solos (B) nos tecidos dos indivíduos de *Baccharis dracunculifolia* em função dos tratamentos com diferentes concentrações de As utilizados, avaliados após 60 dias de exposição ao elemento.

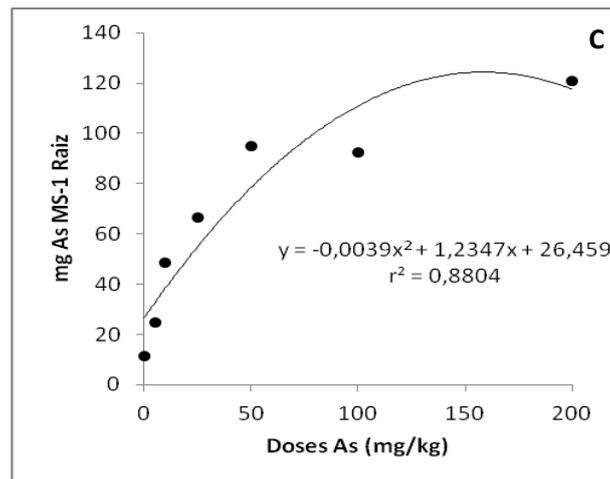
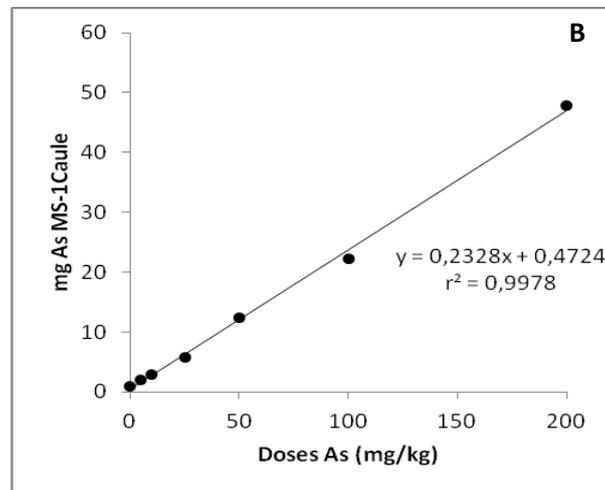
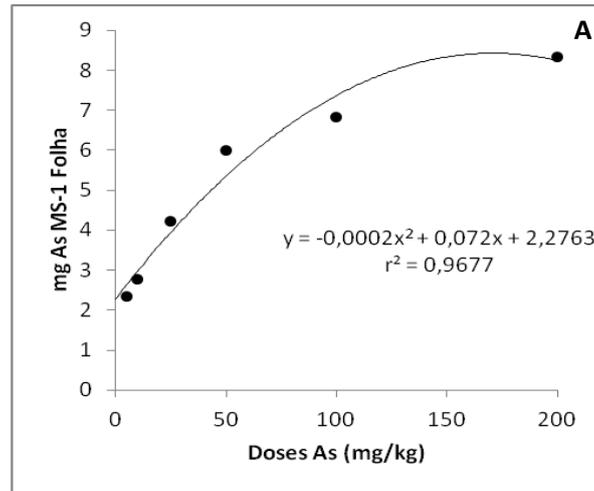


Figura 10: Variação da distribuição de As nos indivíduos de *Baccharis dracunculifolia*, de acordo com cada tratamento. (A) Folhas (B) Caule (C) Raiz.

Ao final do experimento, o solo usado em todos os tratamentos foi caracterizado quanto ao conteúdo de As total (Figura 9) e de elementos minerais (N, P, K, Ca, Mg, Cu, Mn, Fe e Zn) (Tabela 3).

A presença do As no solo, principalmente na maior dose de As utilizada, exerceu influência quanto ao conteúdo de outros elementos no solo. Nitrogênio, fósforo, potássio, magnésio e cobre apresentaram os menores valores nos solos dos tratamentos com a maior concentração de As utilizada (200mg.kg^{-1}). Quanto ao teor de N, a redução foi de 19% quando comparado ao grupo controle. A redução do P foi de 35%, o K foi 15%, Mg e Cu reduziram 68 e 22%, respectivamente. Os conteúdos de manganês, ferro e zinco, por outro lado, apresentaram maiores teores nos solos com maior concentração de As (200mg.kg^{-1}). Neste tratamento, o conteúdo de Mn e Zn encontravam-se em aproximadamente 1% acima da concentração encontrada no grupo controle. Já o Fe apresentou 8% a mais de conteúdo que o controle (Tabela 3).

Translocação e Bioacumulação de Arsênio

A capacidade de absorção e acúmulo de As, avaliada pelo fator de bioacumulação, variou significativamente entre as doses de arsênio usadas ($p=0,004$). O maior FBA ocorreu nas plantas dos tratamentos com $10\text{ mg.kg}^{-1}\text{As}$, numa média de $3,80\pm 0,11$ e o menor FBA, no tratamento com $200\text{ mg.kg}^{-1}\text{As}$, foi em média $1,36\pm 0,08$ (Figura 11). O FBA em todos os tratamentos foi maior que 1, indicando que as plantas conseguiram absorver o As do solo e o mesmo ficou retido nas raízes.

O fator de transferência verificado em *B. dracunculifolia* foi menor que 1 em todas as concentrações de arsênio aplicadas, indicando sua baixa capacidade de transferir o As para a parte aérea. Não houve diferença significativa entre os tratamentos. O maior FT foi das plantas do grupo controle ($0,64\pm 0,30$) seguido pelo tratamento com $200\text{ mg.kg}^{-1}\text{As}$ ($0,46\pm 0,01$). O menor valor de FT ($0,11\pm 0,01$) foi observado nas plantas dos tratamentos com $10\text{ mg.kg}^{-1}\text{As}$ (Figura 11).

Tabela 3: Determinação de macro (N, P, K, Ca, Mg) e micronutrientes (Cu, Mn, Fe, Zn) presentes no solo usado para o experimento com diferentes concentrações de As em *Baccharis dracunculifolia*.

Tratamentos As (mg.kg ⁻¹)	As (mg.kg ⁻¹)	N(g.Kg ⁻¹)	P(g.Kg-1)	K(g.Kg-1)	Ca(g.Kg-1)	Mg(g.Kg-1)	Cu (mg.kg-1)	Mn (mg.kg-1)	Fe (mg.kg-1)	Zn (mg.kg-1)
0	9,24±0,25	4,67±0,46	1,72±0,13	6,45±0,15	1,72±0,02	2,63±0,36	43,63±0,87	293,70±11,45	42817,26±103,54	96,68±17,32
5	11,93±0,21	4,61±0,88	1,90±0,02	5,51±0,08	1,59±0,08	3,18±0,41	44,68±1,07	269,83±5,63	37387,85±1042,85	81,79±1,81
10	14,20 ±0,61	4,43±0,36	1,89±0,02	6,60±0,28	1,87±0,28	2,35±0,40	43,48±3,25	283,8±16,65	44217,43±2213,17	90,96±4,17
25	26,40±0,40	4,84±0,15	2,04±0,04	6,29±0,00	1,79±0,00	1,92±0,04	44,06±0,41	289,73±3,85	40610,28±1022,42	90,73±0,82
50	45,17±1,80	5,30±0,10	2,43±0,09	6,53±1,15	1,90±0,04	3,09±0,11	44,46±3,26	268,33±3,35	35456,98±3659,74	88,81±3,91
100	70,53±0,29	5,01±0,20	1,82±0,11	6,06±0,61	1,82±0,11	2,31±0,52	44,36±1,68	356,51±64,10	39770,08±2764,95	88,20±5,66
200	131,33±9,02	3,79±0,21	1,11±0,17	5,44±0,43	1,75±0,16	0,83±0,06	33,95±0,10	294,13±10,66	46091,63±1093,33	97,82±8,05

Estão representadas as médias de cada tratamento±erro padrão.

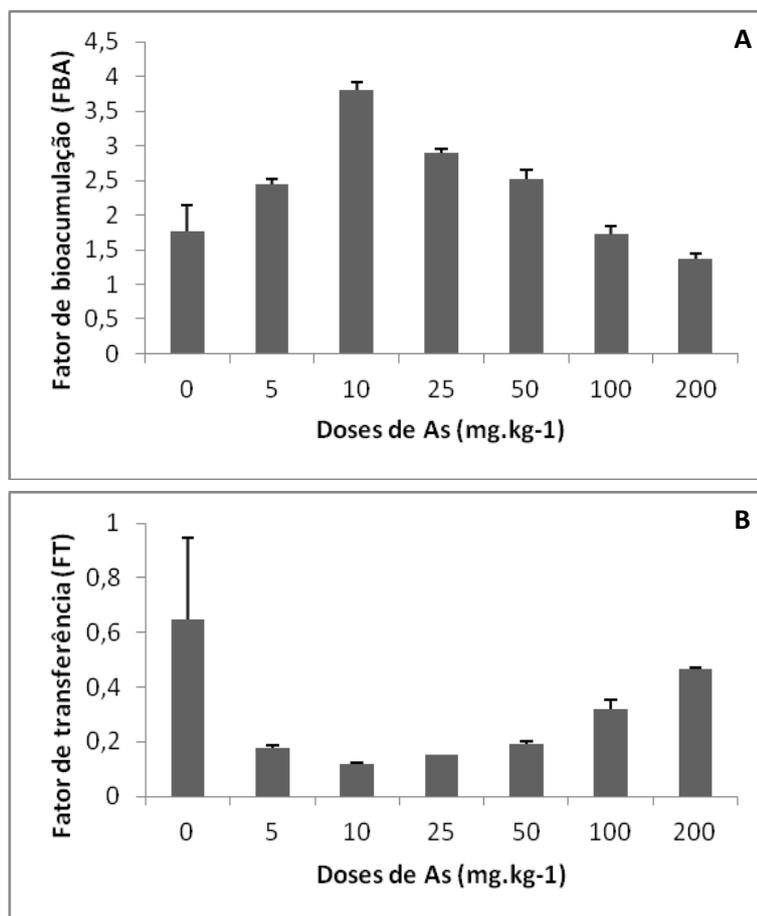


Figura 11: Fator de bioacumulação (A) e fator de transferência (B) de arsênio em *Baccharis dracunculifolia*, sob diferentes doses de arsênio. Estão representadas as médias e erro padrão.

Distribuição de macro e micro nutrientes

O conteúdo de alguns nutrientes nas folhas, caule e raízes de *B. dracunculifolia* foi modificado pelo As (Figuras 12 e 13). O conteúdo de fósforo (P) variou significativamente ($p < 0,01$) em todas as partes das plantas. Na concentração de $10 \text{ mg.kg}^{-1} \text{As}$, as plantas apresentaram menor quantidade de fósforo ($2,49 \text{ g.MS}^{-1}$) nas folhas, seguido pelas plantas na concentração de $200 \text{ mg.kg}^{-1} \text{As}$, que apresentaram $2,61 \text{ g.MS}^{-1}$. Nos caules e nas raízes, a concentração de P diminuiu significativamente ($p < 0,002$) na maior concentração de As utilizada. Nas concentrações de $5, 25$ e $50 \text{ mg.kg}^{-1} \text{As}$, houve um incremento de P em todas as partes das plantas. Em todos os tratamentos os maiores conteúdos de P foram verificados nas raízes (Figura 12).

Com relação ao nitrogênio (N), o As provocou mudanças em seu conteúdo e a diferença entre os tratamentos foi estatisticamente significativa ($p < 0,01$) nas folhas e raízes. Em todos os tratamentos os maiores teores de N foram encontrados nas folhas. O grupo controle apresentou em média 18,26g de nitrogênio por quilo de massa seca das folhas. Nos tratamentos com 5, 10, 25, 50 e 100 mg.kg^{-1} , houve um aumento de cerca de 2% no conteúdo de N. Apenas nas plantas dos tratamentos com 200 mg.kg^{-1} As, houve redução de 7% no conteúdo de N nas folhas. Os menores conteúdos de N nas folhas e raízes foram do tratamento com a maior dose de arsênio, porém nos caules, o menor conteúdo de arsênio foi no tratamento com 10 mg.kg^{-1} (Figura 12)

O conteúdo de potássio (K) também foi modificado nos indivíduos de *B. dracunculifolia*. Houve diferença significativa ($p = 0,04$) nas folhas, porém nos caules e raízes, as variações foram discretas e não significativas em função do As em solução. No grupo controle e no tratamento com 10 mg.kg^{-1} , o conteúdo de K nas folhas foi o mesmo ($32,5\text{g.MS}^{-1}$), enquanto nos demais tratamentos, os teores de K aumentaram entre 4 e 11%. No caule, o menor conteúdo de K nas plantas foi no tratamento com a maior dose de As (200 mg.kg^{-1}). Na raiz, o menor conteúdo foi no tratamento com 50 mg.kg^{-1} , havendo uma redução de 10% com relação ao grupo controle (Figura 12).

Os teores de cálcio (Ca) foram significativamente influenciados pelo As principalmente nas folhas e raízes ($p < 0,02$). Houve uma maior redução (60%) da quantidade de Ca nas raízes das plantas dos tratamentos com 200 mg.kg^{-1} As, seguido pelo tratamento com 50 mg.kg^{-1} As (53%). Nas folhas, a maior redução (10%) foi nas doses de 10 mg.kg^{-1} As, quando comparado ao controle. Foi encontrada pouca ou nenhuma quantidade de Ca e Mg nas raízes de alguns indivíduos dos tratamentos com 200 mg.kg^{-1} As. Com relação ao Mg, houve diferença significativa apenas nas raízes. As maiores reduções no conteúdo de Mg nas raízes foram nas plantas dos tratamentos com 200 mg.kg^{-1} (73%) e 50 mg.kg^{-1} (56%). Nas folhas houve um aumento de 1 a 18% dos teores de magnésio nos tratamentos com 5, 10, 25 e 50 mg.kg^{-1} , com relação ao grupo controle, já nos tratamentos com 100 e 200 mg.kg^{-1} , houve redução de 2 e 12% respectivamente. Nos caules, os conteúdos de Mg reduziram nos tratamentos com 50 e 200 mg.kg^{-1} , 7 e 8% (Figura 12).

Os conteúdos de micro nutrientes também foram modificados pela presença do arsênio. Houve diferença significativa ($p < 0,01$) quanto aos teores de cobre (Cu) em todas as partes das plantas, e a maior redução (14%) deste elemento foi nas raízes das plantas do

tratamento com 200 mg.kg⁻¹As. O conteúdo de Cu reduziu 13 e 4% nas folhas dos tratamentos com 100 e 200 mg.kg⁻¹. O manganês (Mn) apresentou diferença significativa ($p < 0,0004$) quanto ao seu conteúdo nas folhas e caules. Os menores teores de Mn ocorreram nos indivíduos dos tratamentos com 200 mg.kg⁻¹, tendo reduzido 38% nas folhas, 57% nos caules e 35% nas raízes (Figura 13).

Os teores de ferro (Fe) e zinco (Zn) também foram afetados pelo arsênio. Os teores de Fe variaram significativamente ($p = 0,008$) apenas nas folhas, com as maiores reduções para os indivíduos do tratamento com 10 mg.kg⁻¹As (39%), seguido pelos de 200 mg.kg⁻¹As (38%). O tratamento com 200 mg.kg⁻¹ apresentou maior redução (64%) de Fe nos caules e o tratamento com 25 mg.kg⁻¹ apresentou maior redução (52%) nas raízes. Por fim, o conteúdo de zinco (Zn) apresentou diferença significativa ($p < 0,0002$) apenas nos caules, onde a maior redução (12%) ocorreu nos tratamentos com 200 mg.kg⁻¹, seguido pelo tratamento com 100mg.kg⁻¹ (2,5%). Nos demais tratamentos com As houve um aumento no conteúdo de Zn nos caules, entre 2 e 11% (Figura 13).

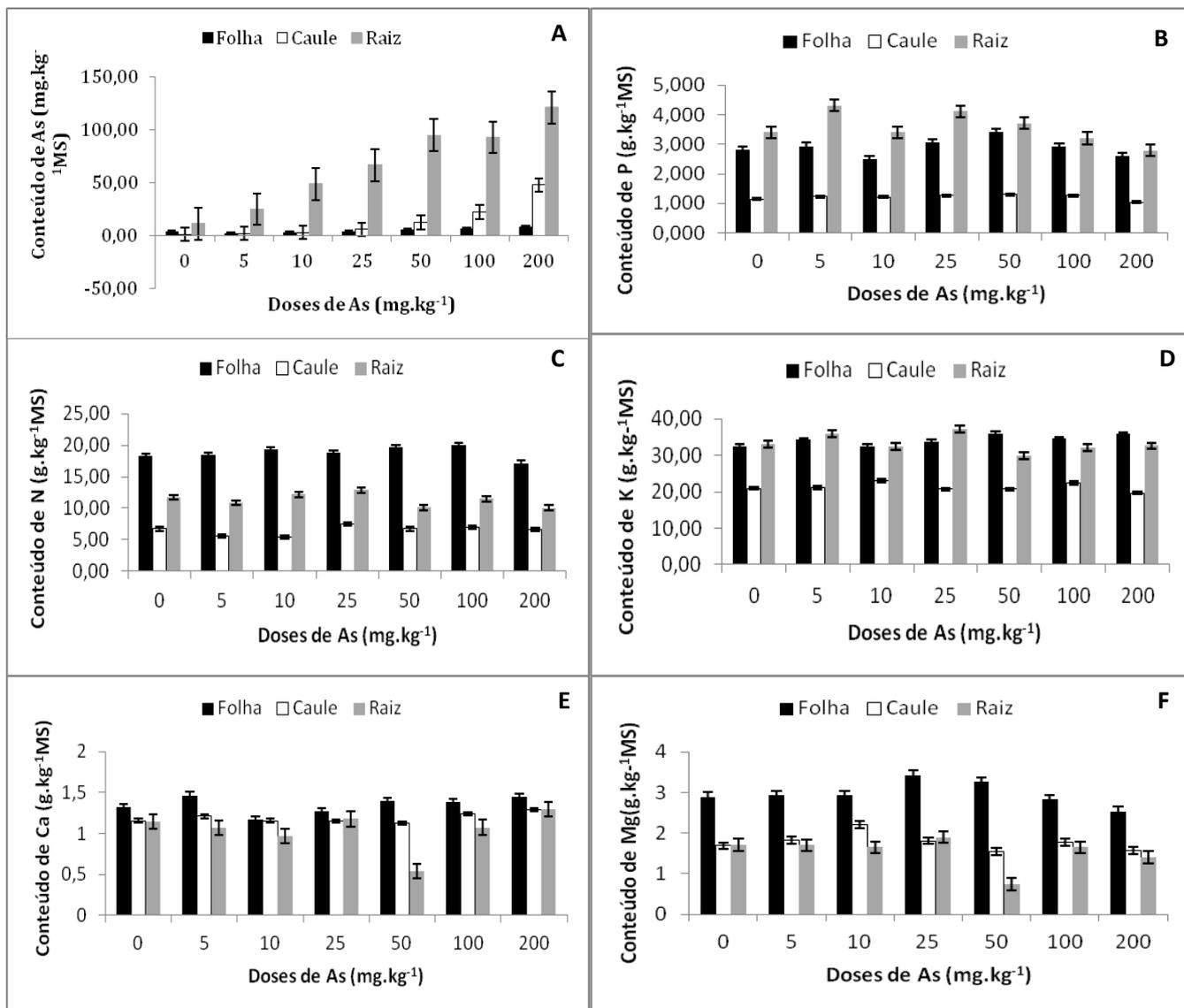


Figura 12: Concentração (média e erro padrão) de arsênio (A), fósforo (B), nitrogênio (C), potássio (D), cálcio (E) e de magnésio (F) em folhas, caule e raízes de *Baccharis dracunculifolia*, sob diferentes tratamentos com As.

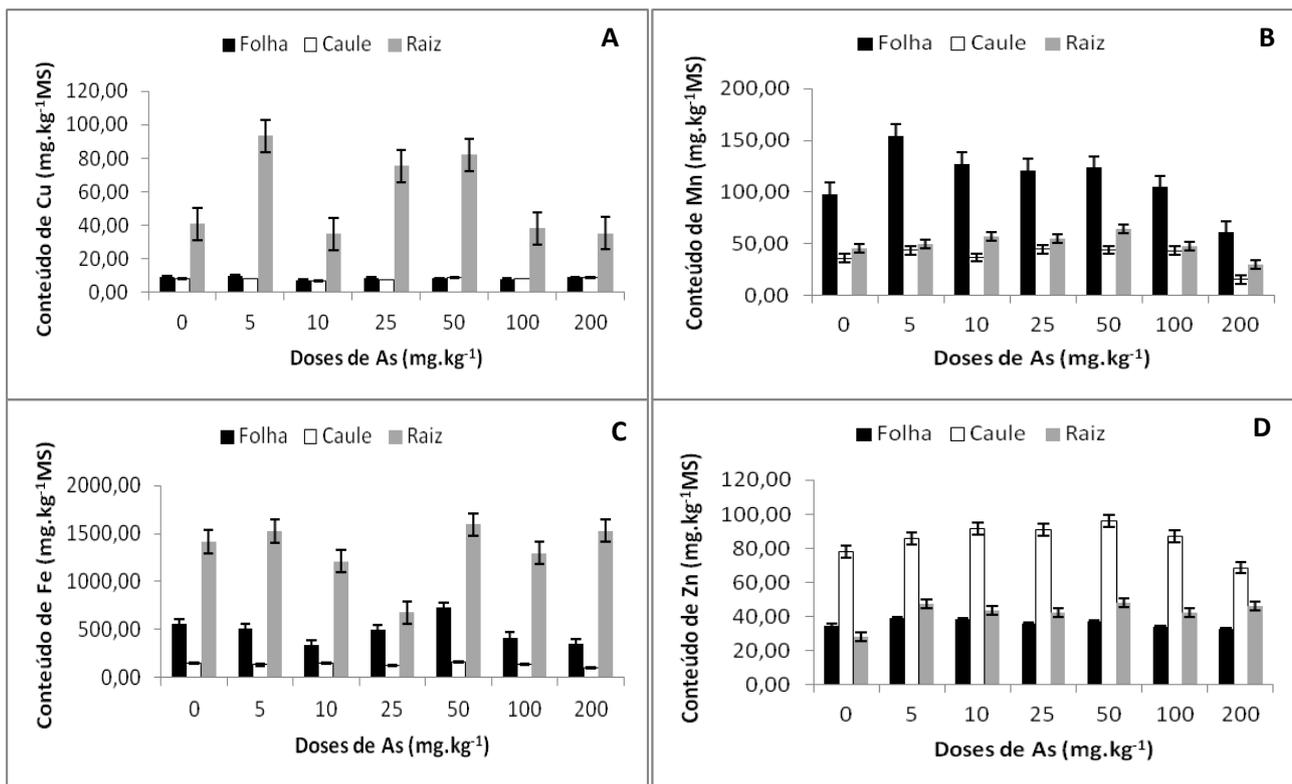


Figura 13: Concentração de micronutrientes, cobre (A), manganês (B), ferro (C) e zinco (D) em folhas, caule e raízes de *Baccharis dracunculifolia*, sob diferentes tratamentos com As. Os dados representados são as médias e erro padrão.

DISCUSSÃO

Todas as amostras de superfície de solos analisadas, coletadas em Nova Lima, excederam a média global ($7,5 \text{ mg.kg}^{-1} \text{As}$) e todos os valores mínimos recomendados pelos órgãos nacionais e internacionais (que não ultrapassa $100 \text{ mg.kg}^{-1} \text{As}$). No Quadrilátero Ferrífero, espécies de As ocorrem no minério de ouro, principalmente como piritas, pirrotitas e arsenopiritas (Deschamps & Matschullat 2007). Os altos teores de As encontrados em Nova Lima se devem ao fato de terem sido encontrados em áreas próximas ou sobre depósitos de rejeitos de mineração (Deschamps *et al.* 2002, Daus *et al.* 2005). Esta alta concentração do elemento pode ser explicada pela prevalência dos longos anos de atividade mineração e fundição na região. Além disto, na margem direita do ribeirão Cardoso, próximo a área 3 amostrada (Fig.2), funcionava uma fábrica de trióxido de arsênio, o qual contribuiu extensivamente para a contaminação deste local (Deschamps & Matschullat 2007).

No presente estudo, mesmo nas áreas onde foram encontrados os menores teores de As no solo, foram encontrados mais de 13 mg.MS^{-1} nas folhas dos indivíduos de *B. dracunculifolia*. O arsênio tem efeito fitotóxico para a maioria das plantas e é raro encontrar naturalmente nas plantas valores que excedam 1 mg.kg^{-1} de peso seco (Zhao *et al.* 2010). Todavia, plantas que conseguem sobreviver em solos tóxicos metalíferos apresentam mecanismos biológicos de resistência e/ou tolerância ao metal presente no solo (Whiting *et al.* 2004). *B. dracunculifolia* não é uma planta exclusiva de áreas mineiradas, sua distribuição ocorre em uma variedade de biótopos naturais e locais sujeitos a vários graus de distúrbios antrópicos (Araújo *et al.* 1995, Gomes & Fernandes 2002). Diante disto, pode-se afirmar que a espécie está bem adaptada a estas áreas contaminadas em Nova Lima tendo em vista sua ampla distribuição inclusive próxima aos rejeitos de mineração.

Nos experimentos controlados em casa de vegetação, *Baccharis dracunculifolia* apresentou tolerância na presença de arsênio. Foi observado um aumento da biomassa nas plantas dos tratamentos com até $10 \text{ mg.kg}^{-1} \text{As}$ enquanto em concentrações acima de $10 \text{ mg.kg}^{-1} \text{As}$, *B. dracunculifolia* apresentou redução de biomassa e alteração de alguns parâmetros de crescimento. Alterações na biomassa pela presença de As têm sido reportada em algumas espécies de plantas (Li *et al.* 2007, Liu *et al.* 2005). Indivíduos de *Lycopersicon esculentum*, quando submetidos a tratamento com apenas $10 \text{ mg.kg}^{-1} \text{As}$,

apresentaram significativa redução da biomassa (Carbonell-Barrachina *et al.* 1997). Por outro lado, em De La Rosa *et al.* (2006), o arsênio na concentração de 4mg.L^{-1} , promoveu um aumento da biomassa de *Salsola kali*, mas o comprimento das raízes foi reduzido nesta mesma concentração. Cao *et al.* (2004) demonstraram que indivíduos de *Pteris vitatta* apresentaram ganho de biomassa quando expostas a $20\text{ mg.kg}^{-1}\text{As}$; porém em outro estudo, Tu & Ma (2005) demonstraram que a mesma espécie apresentou reduções no crescimento em concentrações de As maiores que 100 mg.kg^{-1} solo.

É comum ocorrer o aumento de biomassa em concentrações mais baixas de arsênio, especialmente em plantas tolerantes. Porém, o crescimento das plantas nem sempre ocorre e algumas vezes é apenas temporário e após um período de exposição ao elemento, pode ainda reduzir o comprimento da planta (Gulz 2002). A redução no crescimento é um dos mais freqüentes sintomas observados numa condição de estresse ambiental em plantas (Kabata-Pendias 2011).

Embora tenha apresentado redução em alguns parâmetros de crescimento e apresentado alguns sintomas de toxicidade, como necrose e clorose de folhas, em função do aumento da concentração de As no solo, *B. dracunculifolia* demonstrou apresentar mecanismos de resistência que a permitiu manter o crescimento quase inalterado. Além disto, os indivíduos produziram novas ramificações e novas folhas mesmo em elevadas concentrações de As. Além disto, *B. dracunculifolia* não demonstrou sensibilidade da raiz ao elemento. A maior redução no comprimento da raiz, observada na maior dose de As utilizada (200mg.kg^{-1}), foi de apenas 5% quando comparado ao grupo controle. Normalmente o sistema radicular apresenta sintomas severos de injúria tais como redução no crescimento e morte devido ao contato direto com o As (Abedin & Meharg 2002, Wang *et al.* 2010). Estas observações reforçam a hipótese da planta ser tolerante a este elemento tóxico.

A elevada concentração de arsênio disponível no solo afeta a maioria das espécies pela sua toxicidade (Rahman *et al.* 2008). O elemento atua negativamente no metabolismo da planta influenciando no seu crescimento e desenvolvimento. Os sintomas mais comuns associados à fitotoxicidade do arsênio são: menor taxa de germinação (Abedin & Meharg 2002), redução no crescimento, seja das raízes, ou da parte aérea com diminuição da altura das plantas, diminuição do número de folhas e produção de massa seca (Carbonell-Barrachina *et al.* 1997, Abedin & Meharg 2002, Deschamps & Matschullat 2007). Segundo Meharg & Macnair (1991), espécies de plantas sensíveis ao As sofrem

considerável estresse quando expostas e apresentam sintomas que variam desde a redução no crescimento até a morte.

Além da capacidade de manter seu crescimento, todos os indivíduos de *B. dracunculifolia* conseguiram acumular o elemento nos seus tecidos. Outro ponto importante a destacar é o fato dos teores de arsênio nas plantas terem aumentado progressivamente com a elevação da concentração de arsênio no solo. Estes dados corroboram com estudos de Lokhande *et al.* (2010) com *Sesuvium portulacastrum*. Por outro lado, Daus *et al.* 2005, realizaram estudos no Quadrilátero Ferrífero com *Baccharis trimera* que apresentou baixa concentração de As nos seus tecidos (menos de $15\mu\text{g.g}^{-1}$ do peso seco da planta). Estudos de Carbonell-Barrachina *et al.* (1997) demonstraram que com menos de 10 mg.L^{-1} As, *Phaseolus vulgaris L.* apresentaram sintomas de toxicidade e nesta concentração as plantas morreram. Já *B. dracunculifolia* foi capaz de armazenar $177,1\text{ mg.kg}^{-1}$ de As total e tolerar até 200 mg.kg^{-1} As no solo. Estes resultados sugerem que *B. dracunculifolia* apresenta mecanismos adaptativos de resistência ao As, possivelmente por supressão do sistema de absorção de alta afinidade de P e síntese de compostos que promovem a desintoxicação intracelular do As absorvido. Dentre os vários mecanismos de desintoxicação do As, está a síntese de fitoquelatinas, já demonstradas em estudos com diversas espécies quando expostas ao As (Schmoger 2000).

Indivíduos de *B. dracunculifolia* conseguiram armazenar em média 79% do As nas suas raízes. Estudos com *Oryza sativa* demonstraram que a espécie também armazena a maior parte do arsênio nas suas raízes (Chaturvedi 2006, Rahman *et al.* 2008, Bhattacharya *et al.* 2009). Carbonell-Barrachina *et al.* (1997) demonstraram que em *Lycopersicon esculentum* 83,2% do As ficou estocado nas raízes e apenas 7,3% atingiram as folhas. Exceto para hiperacumuladoras, o As apresenta baixa mobilidade quanto à sua translocação das raízes para a parte aérea (Zhao *et al.* 2008). Por isto, em geral, as raízes contêm níveis mais elevados de As que o caule, folhas ou frutos (Deschamps & Matschullat 2007). Provavelmente a limitação do transporte de As para a parte aérea se deve à rápida redução do arsenato à arsenito, que por sua vez é complexado com tióis e possivelmente seqüestrado nos vacúolos das células radiculares (Zhao *et al.* 2008). Esta característica é muito importante tendo em vista que o elemento fica praticamente retido em um órgão da planta diminuindo a chance de passar para outros níveis tróficos e assim contaminar a comunidade de organismos e teias tróficas associadas.

Fator de transferência (FT) e fator de bioacumulação (FBA) são utilizados para avaliar a capacidade das plantas de absorver metais do meio externo e a capacidade de transferir metais para os órgãos superiores, desta forma, estes fatores têm sido considerados na seleção de plantas para processos de fitorremediação (Ma *et al.* 2001, Visoottiviseth *et al.* 2002, Zhao *et al.* 2010). Em *B. dracunculifolia* a maior parte do arsênio ficou acumulado nas raízes apresentando, portanto, FT menor que 1, não podendo assim, ser considerada uma hiperacumuladora. A estratégia utilizada por *B. dracunculifolia* para tolerar o meio com As, é o de exclusão do elemento. Esta característica constitui em um dos principais mecanismos utilizados por plantas na tolerância a metais (Carbonell-Barrachina *et al.* 1997, Meharg & Hartley-Hitaker, 2002). A exudação radicular de ligantes orgânicos é considerada uma das estratégias mais importantes para as plantas conseguirem excluir metais, quelando-os na rizosfera ou no apoplasto, impedindo sua entrada no simplasto, o que permite a espécies tolerantes restringirem a absorção e translocação de metais (Baker, 1987). Outra estratégia é a compartimentação do elemento em vacúolos ou sua quelação no citoplasma (Nascimento & Xing 2006, Burló *et al.* 2009). Estudos anatômicos e bioquímicos futuros auxiliarão no entendimento deste processo nesta espécie. Foram identificadas até hoje poucas espécies hiperacumuladoras de As, sendo todas elas pteridófitas (Zhao *et al.* 2008, Zhao *et al.* 2010). *Pteris vitatta* consegue acumular acima de 20.000 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{As}$ (Ma *et al.* 2001) e *Pityrogramma calomelanos* acumula mais de 8.000 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{As}$ da sua massa seca (Francesconi *et al.* 2002).

Os valores de FBA foram maiores que 1 em todos os tratamentos, porém estes valores encontrados foram baixos quando comparados com outras espécies. Estudos com a espécie *Sesuvium portulacastrum*, que não é uma planta hiperacumuladora, apresenta FBA com valores entre 12 e 36, dependendo da concentração de As no meio (Lokhande *et al.* 2010). Por outro lado, de acordo com Wang *et al.* (2010) a transferência do arsênio do solo para a planta na maioria das espécies de plantas é baixa. Os baixos valores de FBA encontrados podem ser explicados pela disponibilidade do As no solo. Fatores como pH, potencial redox, composição do solo, conteúdo de Al, Fe e Mn influenciam a mobilização e biodisponibilidade do As no solo (Visoottiviseth *et al.* 2002, Gulz 2002). Os solos utilizados neste estudo apresentaram pH6,0, alto conteúdo de matéria orgânica e altas concentrações de Al e Fe. Em geral há um aumento da toxicidade do arsênio em pH's abaixo de 5, pois oxicompostos de Fe e Al, que normalmente se ligam ao As, tornam-se mais solúveis (Campos *et al.* 2007, Deschamps & Matchulat 2007). Em solos com pH's

mais próximos a neutros, também aumentam a mobilidade do As (WHO 2001, Deschamps & Matchulat 2007, Campos *et al.* 2007). Além disto, solos com elevado teor de Al e Fe apresentam maior capacidade de adsorção de As (Fitzpatrick 1998, Visoottiviseth *et al.* 2002, Campos *et al.* 2007, Zhao *et al.* 2008).

Metais pesados também podem interferir no metabolismo vegetal, afetando a absorção de elementos essenciais pelas plantas (Cao *et al.* 2004, Tu & Ma, 2005). Neste estudo foi observado que o As, sobretudo em elevadas concentrações, influenciou na absorção de nutrientes pelos indivíduos de *B. dracunculifolia*.

A presença do arsênio apresentou significativa influência na concentração de fósforo em todas as partes das plantas. Nos tratamentos com 5, 10, 25, 50 e 100 mg.kg⁻¹As, houve um incremento nos teores de P nas plantas, porém no tratamento com 200 mg.kg⁻¹As a concentração de P diminuiu, especialmente nas raízes. A redução da absorção de P pelas plantas, verificado em *B. dracunculifolia*, em elevada concentração de As no meio, é provavelmente resultado da fitotoxicidade do elemento no sistema radicular e devido à competição do P e As (Carbonell *et al.* 1998, Wang *et al.* 2002, Cao *et al.* 2004). Tu & Ma (2005) verificaram que em concentrações acima de 200 mg.kg⁻¹As, *Pteris vittata* apresentou menores teores de P nos tecidos e o crescimento da planta foi retardado. A absorção de As e P ocorre pelas mesmas proteínas transportadoras, embora exista uma maior afinidade pelo fosfato. Portanto, se há maior quantidade de fosfato, o mesmo será absorvido mais efetivamente tornando-o assim, o mais eficiente inibidor da absorção de arsenato em plantas (Meharg & Hartley-Whitaker 2002, Zhao *et al.* 2008).

O fato de haver uma diminuição no teor de P absorvido pela planta sugere a ativação de um mecanismo de desintoxicação de As (Visoottiviseth *et al.* 2002), pois sua taxa de influxo foi reduzida. Assim, o arsenato que chega à célula é metabolizado antes de promover injúrias irreversíveis na estrutura celular (Meharg & Macnair 1991, Meharg 2003). Este mecanismo de resistência ao arsenato envolve a supressão do sistema de alta afinidade de absorção fosfato/arsenato, permitindo que estas plantas reduzam a absorção e otimizem os mecanismos de desintoxicação do As do meio celular. Este mecanismo já foi verificado em espécies como *Holcus lanatus* (Quaghebeur & Rengel 2003), e *Pteris vittata* (Wang *et al.*, 2002); porém são necessários mais estudos para investigar se realmente acontece uma supressão do sistema de alta afinidade de absorção de fósforo em *B. dracunculifolia*.

O nitrogênio é um importante componente da síntese de aminoácidos. O N foi encontrado predominantemente nas folhas de *B. dracunculifolia*, porém tanto nas raízes quanto na parte aérea o conteúdo de N reduziu na maior concentração de As utilizada. Em resposta ao estresse oxidativo, as plantas aumentam as atividades das enzimas antioxidantes (como catalase, superóxido dismutase e ascorbato peroxidase) e por isto a planta necessitaria de um maior suprimento de N, levando então a uma maior absorção do elemento (Cao *et al* 2004). Foi encontrada uma relação positiva entre aumento de As e N nas folhas das plantas de *B. dracunculifolia* nos tratamentos com 5, 10, 25, 50 e 100 mg.kg⁻¹As.

Elevadas concentrações de As (50, 100 e 200 mg.kg⁻¹) provocaram um aumento da concentração de Ca nas folhas. Carbonell *et al.* (2008) também descreveram um aumento dos teores de Ca nas folhas em *S. alterniflora* quando em elevadas concentrações de As. O aumento nos níveis de Ca ocorre como uma reação a toxicidade do As (Mengel & Kirkby 2001). Nas raízes, houve diminuição da absorção de Ca quando em elevados teores de As. Baixas concentrações de Ca também foram verificadas em *P. vittata* (Tu & Ma 2005, Cao *et al.* 2004). O cálcio é de fundamental importância na manutenção da permeabilidade e integridade das membranas celulares (Tu & Ma 2005), mas apesar da redução deste elemento em plantas dos tratamentos com elevada concentração de As, não foram verificados danos visuais no sistema radicular de *B. dracunculifolia*.

Assim como o cálcio, o magnésio também foi menos absorvido pelas raízes de *B. dracunculifolia* nas concentrações mais elevadas de As (50, 100 e 200 mg.kg⁻¹). As principais funções do Mg é ser constituinte estrutural das moléculas de clorofilas além de ser co-fator em diversas enzimas que participam de reações de fosforilação (Tu & Ma 2005). Existem evidências que apontam que a elevação dos níveis de As pode inibir os processos de fosforilação oxidativa e por este motivo a planta acaba por diminuir a absorção de Mg (Carbonell *et al.* 1998).

O aumento da concentração de arsênio no meio provocou um aumento na absorção de K pelas folhas de *B. dracunculifolia*. Segundo Tu & Ma (2005) as concentrações de K nas folhas das plantas normalmente encontram-se entre 10 e 50 g.MS⁻¹. Em *B. dracunculifolia* os valores de K ficaram em torno de 32 g.MS⁻¹ nas folhas dos indivíduos do tratamento controle e nas plantas de todos os tratamentos com As, ocorreu uma elevação dos teores de K nas folhas. Estes dados são corroborados pelos estudos de Tu & Ma (2005) que também verificaram este comportamento. O potássio está relacionado com

a síntese de proteínas, crescimento das plantas e atua como um cátion para contrabalancear ânions nas plantas. Desta forma, o aumento na absorção de K pela planta ocorre para balancear a excessiva entrada de ânions provocada pela absorção de As (Mengel & Kirkby 2001). Resultado similar foi encontrado por Carbonell *et al.* (1998) que encontraram aumento na concentração de K em função da elevação de As na parte aérea de *Spartina alterniflora*.

O As também alterou o conteúdo de micronutrientes em *B. dracunculifolia*. Os micronutrientes estão relacionados a vários sistemas enzimáticos nas plantas (Kabata-Pendias 2011). O Mn foi menos absorvido pelas plantas apenas nos tratamentos com 200 mg.kg⁻¹As. Em todos os outros tratamentos, as plantas apresentaram maiores teores de Mn em todas as partes das plantas quando comparados ao grupo controle, além disto, o Mn absorvido foi encontrado em maior quantidade nas folhas. Resultados semelhantes foram encontrados em *P. vittata* submetida a tratamentos com As (Cao *et al.* 2004, Tu & Ma 2005). O arsênio influenciou os conteúdos de Cu em todas as partes das plantas, mas os maiores níveis do elemento foram encontrados nas raízes. Em *Pteris vittata*, ao contrário, o Cu não foi alterado pela presença de As (Tu & Ma 2005). O Cu é um elemento essencial para as plantas e está relacionado a processos fotossintéticos, metabólicos e mecanismos de resistência a doenças (Kabata-Pendias 2011). A deficiência de Cu pode estar relacionada a sintomas como necroses e cloroses, principalmente em folhas novas. Em *B. dracunculifolia* o Cu foi encontrado em menores doses nas concentrações de 100 e 200 mg.kg⁻¹As, podendo então ser uma das causas para as necroses e cloroses observadas em algumas folhas.

A presença do arsênio em *B. dracunculifolia* estimulou uma maior absorção de Zn, em todas as concentrações de As usadas, assim como em Cao *et al.* (2004). O aumento dos teores de Zn nas plantas possivelmente está ligado a defesas da planta em diminuir os efeitos tóxicos do As (Kabata-Pendias 2011). Os teores de ferro também foram afetados pela presença do As em quase todos os tratamentos. Estes resultados são corroborados pelos trabalhos de Tu & Ma (2005). Os sintomas de deficiência em Fe estão relacionados a clorose nas folhas, diminuição do crescimento das plantas, entre outros (Kabata-Pendias 2011).

Embora *B. dracunculifolia* tenha demonstrado alguns sintomas de toxicidade, apresentado redução de crescimento e alteração do estado nutricional, os resultados indicam que a espécie conseguiu sobreviver a níveis muito altos de As no solo,

demonstrando apresentar mecanismos de resistência/tolerância ao elemento. *B. dracunculifolia* pode ser utilizada em recuperação de áreas contaminadas por As, possivelmente no estágio inicial de regeneração.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar das hiperacumuladoras naturais de As, como *P. vittata*, conseguirem armazenar grande quantidade deste elemento em seus tecidos, o crescimento destas espécies normalmente é limitado a certos habitats e clima. *Baccharis dracunculifolia* apresenta crescimento rápido, ciclo de vida curto, alta taxa de propagação e consegue acumular grande quantidade de biomassa (Tabarelli & Mantovani 1999, Gomes & Fernandes 2002). Apesar de não ser uma planta hiperacumuladora de As, *B. dracunculifolia* consegue sobreviver em concentrações muito altas deste metalóide, acima de 8.000 mg.kg⁻¹, sendo assim, mais estudos devem ser realizados com esta espécie a fim de se entender melhor os mecanismos de tolerância envolvidos e assim, confirmar seu uso em técnicas de fitorremediação.

Apesar de *B. dracunculifolia* ter demonstrado maior sensibilidade ao As nos estágios iniciais de desenvolvimento, a espécie demonstrou que consegue se desenvolver nestes ambientes contaminados, corroborado pelos resultados das análises dos indivíduos coletados em Nova Lima e das plantas submetidas a tratamentos com diversas concentrações de As em casa de vegetação.

O fato de *B. dracunculifolia* restringir o acúmulo de arsênio nas suas raízes, a caracteriza como planta exclusora. Esta característica é interessante para o uso desta espécie em técnicas de fitoestabilização. Esta técnica é aplicada para revegetação de locais contaminados com o uso de plantas que toleram sobreviver nestas áreas e conseguem promover uma estabilização mecânica do poluente por meio da sua imobilização no sistema radicular. Estas plantas acabam proporcionando o restabelecimento de uma cobertura vegetal e assim formam um substrato adequado para que outras espécies possam colonizar e sobreviver, da mesma forma que evitam erosão e previne o transporte do poluente por processos de lixiviação (Fitz & Wenzel 2002) evitando a contaminação de aquíferos e a entrada destes metais na cadeia produtiva (Whiting *et al.* 2004). Portanto a identificação de novas espécies tolerantes torna-se de suma importância.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABEDIN, M.J. MEHARG, A.A. 2002. Relative toxicity of arsenite and arsenate on germination and early seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant and Soil* 243: 57–66.
- ANDRADE, R. P., FIGUEIREDO, B.R., MELLO, J.W.V., ZANDONADI, L.U. 2008. Control of the geochemical mobility of arsenic in acid mine drainage environments by liming. *Journal of Soils and Sediments*. 8:123-129.
- ARAÚJO, A.N., FERNANDES, G.W., BEDÊ, L.C. 1995. Influência do sexo e fenologia de *Baccharis dracunculifolia* DC. (Asteraceae) sobre insetos herbívoros. *Revista Brasileira de Entomologia* 39: 347-353.
- ARAÚJO, A.P.A.; CARNEIRO, M.A.A. & FERNANDES, G.W. 2003. Efeitos do sexo, do vigor e do tamanho da planta hospedeira sobre a distribuição de insetos indutores de galhas em *Baccharis pseudomyrriocephala* Teodoro (Asteraceae). *Revista Brasileira de Entomologia* 47: 487-490.
- BAKER, A.J.M. 1987. Metal Tolerance. *New Phytologist* 93-111.
- BARROSO, G. 1976. Compositae-subtribo Baccharidinae Hoffmann estudo das espécies ocorrentes no Brasil. *Rodriguésia* 40: 7-273.
- BHATTACHARYA, P. SAMAL, A.C., MAJUMDAR, J., SANTRA, S.C. 2009. Transfer of Arsenic from Groundwater and Paddy Soil to Rice Plant (*Oryza sativa* L.): A Micro Level Study in West Bengal, India. *World Journal of Agricultural Sciences* 5: 425-431.
- BORBA, R.P., FIGUEIREDO, B.R., RAWLINS, B., MATSCHULLAT, J. 2000. Arsenic in water and sediment in the iron quadrangle, state of Minas Gerais, Brazil. *Revista Brasileira de Geociências* 30:558-561.
- BORBA, R.P., FIGUEIREDO, B.R., CAVALCANTI, J.A. 2004. Arsênio na água subterrânea em Ouro Preto e Mariana, Quadrilátero Ferrífero (MG). *Revista. Escola de Minas* 57: 45-51.
- BURLÓ, F., CARBONELL-BARRACHINA, A.A., VALERO, D., MARTINEZ-SANCHEZ, F. 2009. Arsenic species: effects on and accumulation by tomato plants. *Journal of Agricultural. and Food Chemistry* 47: 1247 –1253.
- CAMPOS, M.L., GUILHERME, L.R.G., LOPES, R.S., ANTUNES, A.S., MELO MARQUES, J.J.G.,CURI, N. 2007. Teor e capacidade máxima de adsorção de arsênio em latossolos brasileiros. *Revista. Brasileira de Ciência do Solo* 31: 1311-1318.
- CAO, X., MA, L.Q., TU, C. 2004. Antioxidative responses to arsenic in the arsenic-hyperaccumulator Chinese brake fern(*Pteris vittata* L.). *Environmental Pollution* 128: 317–325.
- CARBONELL-BARRACHINA, A.A. BURLÓ, F. BURGOS-HERNANDEZ, A. LÓPEZ, E. MATAIX, J. 1997. The influence of arsenite concentration on arsenic accumulation in tomato and bean plants. *Scientia Horticulturae* 71: 167-176.

CARBONELL, A.A., AARABI, M.A., DELAUNE, R.D., GAMBRELL, R.P., PATRICK Jr, H.W. 1998. Arsenic in wetland vegetation: Availability, phytotoxicity uptake and effects on plant growth and nutrition. *The Science of the Total Environment* 217: 189-199.

CHATURVEDI, I. 2006. Effects of arsenic concentrations and forms on growth and arsenic uptake and accumulation by Indian mustard (*Brassica juncea* L.). *Journal Central European Agriculture* 7: 31-40.

DAUS, B., WENNRICH, R., MORGENSTERN P., WEIB, H., PALMIERI, H.E.L., NALINI, H.A., LEONEL, L.V., MONTEIRO, R.P.G., MOREIRA, R.M. 2005. Arsenic Speciation in Plant Samples from the Iron Quadrangle, Minas Gerais, Brazil. *Microchimica Acta* 151: 175–180.

DE LA ROSA, G., PARSONS, J.G., MARTINEZ-MARTINEZ, A., PERALTA-VIDEA, J.R., GARDEA-TORRESDEY, J.L. 2006. Spectroscopic Study of the Impact of Arsenic Speciation on Arsenic/Phosphorus Uptake and Plant Growth in Tumbleweed (*Salsola kali*). *Environment Science Technology* 40: 1991-1996.

DESCHAMPS, E. CIMINELLI, V.S.T., LANGE, F.T., MATSCHULLAT, J., RAUE, B., SCHMIDT, K. 2002. Soil and Sediment Geochemistry of the Iron Quadrangle, Brazil The Case of Arsenic. *Journal of soils & sediments* 2: 216–222.

DESCHAMPS, E. & MATSULLAT, J. 2007. Arsênio antropogênico e natural. Um estudo em regiões do quadrilátero ferrífero. 1ed. Fundação Estadual do meio ambiente. Belo Horizonte. 330p.

DIAS, L.E., MELO, R.F., MELLO, J.W.V., OLIVEIRA, J.A., DANIELS, W.L. 2010. Growth of seedlings of pigeon pea (*Cajanus cajan* (L.) millsp), wand riverhemp (*Sesbania virgata* (cav.) pers.), and lead tree (*Leucaena leucocephala* (lam.) de wit) in an arsenic-contaminated soil. *Revista Brasileira de. Ciência do. Solo*, 34:975-983.

ESPÍRITO-SANTO, M.M, MADEIRA, B.G. NEVES, F.S. FARIA, M.L FAGUNDES, M. FERNANDES, G.W. 2003. Sexual differences in reproductive phenology and their consequences for the demography of *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae), a dioecious tropical shrub. *Annals of Botany* 91: 13-19.

FAGUNDES, M. NEVES, F.S. FERNANDES, G.W. 2005. Direct and indirect interactions involving ants, insect herbivores, parasitoids, and the host plant *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae). *Ecological Entomology* 30: 28-35.

FERRECCIO, C. & SANCHA, A.M. 2006. Arsenic Exposure and Its Impact on Health in Chile. *Journal of Health, Population and Nutrition* 24: 164-175.

FITZ, W.J. & WENZEL, W.W. 2002. Arsenic transformations in the soil-rhizosphere-plant system: fundamentals and potential application to phytoremediation. *Journal of Biotechnology* 99: 259-278.

FITZPATRICK, A.J. 1998. Adsorption of arsenate and phosphate on gibbsite from artificial seawater. *National Library of Canada*. 110p.

- FRANCESCONI, K., VISOOTTIVISETH, P., SRIDOKCHAN, W., GOESSLER, W. 2002. Arsenic species in an arsenic hyperaccumulating fern, *Pityrogramma calomelanos*: a potential phytoremediator of arsenic-contaminated soils. *The Science of the Total Environment* 284: 27-35.
- GALLINDEZ, G., BIGANZOLI, F., ORTEGA-BAES, P., SCOPEL, A.L. 2009. Fire responses of three co-occurring Asteraceae shrubs in a temperature savanna in South America. *Plant Ecology* 202: 149-158.
- GOMES, V. & FERNANDES, G.W. 2002. Germinação de aquênios de *Baccharis dracunculifolia* D.C. (Asteraceae). *Acta botanica brasílica* 16: 421-427.
- GULZ, P.A. 2002. Arsenic uptake of common crop plants from contaminated soil sand interaction with phosphate. Swiss Federal Institute of Technology Zurich. 108p.
- KABATA-PENDIAS, A. 2011. Trace elements in soils and plants. 4ed. CRC Press. Taylor and Francis Group. 505p.
- LI, C.X., FENG S.L., SHAO, Y., JIANG, L.N., LU, X.Y., HOU, X.L. 2007. Effects of arsenic on seed germination and physiological activities of wheat seedlings. *Journal of Environmental Sciences* 19: 725–732.
- LIU, X., ZHANG, S., SHAN, X., ZHU, Y.G. 2005. Toxicity of arsenate and arsenite on germination, seedling growth and amyolytic activity of wheat. *Chemosphere* 61: 293–301.
- LOKHANDE, V.H., SRIVASTAVA, S., PATADE, V.Y., DWIVEDI, S., TRIPATHI, R.D., NIKAM, T.D., SUPRASANNA, P. 2010. Investigation of arsenic accumulation and tolerance potential of *Sesuvium portulacastrum* (L.). *Chemosphere*: doi:10.1016/j.chemosphere.2010.10.059.
- MA, L., KOMAR, K.M., TU, C., ZHANG, W., CAI, Z., KENNELEY, E.D. 2001. A fern that hyperaccumulates arsenic. *Nature* 409: 579.
- MEHARG, A.A., MACNAIR, M.R. 1991. The mechanisms of arsenate tolerance in *Deschampsia cespitosa* (L.) Beauv and *Agrostis capillaris* L. *New Phytologist* 119: 291–297.
- MEHARG, A.A. & HARTLEY-WHITAKER, J. 2002. Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and nonresistant plant species. *New Phytologist* 154: 29-43.
- MEHARG, A.A. 2003. Variation in arsenic accumulation-hyperaccumulation in ferns and their allies. *New Phytologist* 157: 25-31.
- MENGEL, K., KIRKBY, E.A. 2001. Principles of Plant Nutrition, 5th ed. International Potash Institute, Worblaufen-Bern, Switzerland. 849p.
- MÜLLER, S.C., OVERBECK, G.E., PFADENHAUER, J., PILLAR, V.D. 2007. Plant functional types of woody species related to fire disturbance in forest-grassland ecotones. *Plant Ecology* 189: 1-14.

- NASCIMENTO, C.W.A. & XING, B. 2006. Phytoextraction: a review on enhanced metal availability and plant accumulation. *Scientia Agricola*.63: 299-311.
- NEGREIROS, D., ESTEVES, D. FERNANDES, G.W., OKI, Y. VICHATO, M., CHALUB, C. 2010. Nutritional ecology of *Baccharis dracunculifolia* DC. (Asteraceae), na important species for regeneration of disturbed áreas. *Ecology Research* (submetido).
- NEMETH, T., MOLNAR, E., CSILLAG, J., BUJTAS, K., LUKACS, A., PARTAY, G., FEHER, J., VAN GENUCHTEN, M. Th. 1993. Mobility of some heavy metals in soil-plant systems studied on soil monoliths. *Water Science Technology* 28: 389-398.
- NOVAIS, R.F., NEVES, J.C.L., BARROS, N.F. 1991. Ensaio em ambiente controlado. *In: OLIVEIRA, A.J., GARRIDO, W.E., ARAÚJO, J.D., LOURENÇO, S. (Eds.). Métodos de pesquisa em fertilidade do solo. Embrapa-Sea, Brasília, DF, PP 189-253.*
- PRASAD, M.N.V. & FREITAS, H.M.O. 2003. Metal hyperaccumulation in plants - Biodiversity prospecting for phytoremediation technology *Electronic Journal of Biotechnology* 6: 285-321.
- QUAGHEBEUR, M. & RENGEL, Z. 2003. The distribution of arsenate and arsenite in shoots and roots of *Holcus lanatus* is influenced by arsenic tolerance and arsenate and phosphate supply. *Plant Physiology* 132: 1600–1609.
- RAHMAN, M. 2006. International Research on Arsenic Contamination and Health. *Journal of health population and nutrition* 24: 123-128.
- RAHMAN, M.A., HASEGAWA, H., RAHMAN, M.M., MAZID MIAH, M.A., TASMEN, A. 2008. Arsenic Accumulation in Rice (*Oryza sativa* L.); Human Exposure through Food Chain. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 69: 317-324.:
- REEVES, R.D. 2006. Hyperaccumulation of trace elements byplants. *IN: MOREL, J.L, ECHEVARRIA, G, GONCHAROVA, N. (eds). Phytoremediation of metal-contaminated soils. Earth and environmental sciences* 68: 1–25.
- RODARTE L.H.O., FERNANDES G.W., OLIVEIRA J.A. 1998. Características físico-químicas de solos naturais e em áreas degradadas por atividades de construção rodoviária em campo rupestre. *In: Anais do 3º Encontro Ibero-Americano de Unidades Ambientais do Setor de Transportes. Florianópolis*
- SARMA, A. GONTIA-MISHRA, I. SRIVASTAVA, A.K. 2011. Toxicity of Heavy Metals on Germination and Seedling Growth of *Salicornia brachiata*. *Journal of Phytology* 3: 33-36.
- SCHOMOGER, M.E.V., OVEN, M., GRILL, E. 2000. Detoxification of Arsenic by Phytochelatins in Plants. *Plant Physiology* 122: 793-801.
- TABARELLI, M. & MANTOVANI, W. 1999. A regeneração de uma floresta tropical montana após corte e queima (São Paulo-Brasil). *Revista Brasileira de Biologia* 59: 239-250.

TU, C. & MA, L.Q. 2002. Effects of arsenic concentrations and forms on arsenic uptake by the hyperaccumulator ladder brake. *Journal of Environment Quality*. 31:641–647.

TU, C. & MA, L.Q. (2005). Effects of arsenic on concentration and distribution of nutrients in the fronds of the arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. *Environmental Pollution* 135: 333-340.

USEPA.2007. Method 3051a. Disponível em: <http://www.epa.gov/sw-846/3051a.pdf>. Acesso em: setembro de 2011

VISOOTTIVISETH, P., FRANCESCONI, K., SRIDOKCHAN, W. 2002. The potential of Thai indigenous plant species for the phytoremediation of arsenic contaminated land. *Environmental Pollution* 118: 453–461.

WANG, J., ZHAO, F.J., MEHARG, A.A., RAAB, A., FELDMANN, J., MCGRATH, S.P., 2002. Mechanisms of arsenic hyperaccumulation in *Pteris vittata* . Uptake kinetics, interactions with phosphate, and arsenic speciation. *Plant Physiology* 130: 1552–1561.

WANG, H.B. HE, H.B. YANG, G.D. YE, C.Y. NIU, B.H. LIN, W.X. 2010. Effects of two species of inorganic arsenic on the nutrient physiology of rice seedlings. *Acta Physiology Plant* 32: 245–251.

WHITING, S.N., REEVES, R.D., RICHARDS, D., JOHNSON, M.S., COOKE, J.A., MALAISSE, F., PATON, A., SMITH, J.A.C., ANGLE, J.S., CHANEY, R.L., GINOCCHIO, R., JAFFRÉ , T., JOHNS, R., MCINTYRE, T., PURVIS, O.W., SALT, D.E., SCHAT, H., ZHAO, F.J., BAKER, A.J.M. 2004. Research priorities for conservation of metallophyte. Biodiversity and their potential for restoration and site remediation. *Restoration Ecology* 12: 106-116.

WHITING, S.N., REEVES, R.D., RICHARDS, D., JOHNSON, M.S., COOKE, J.A., MALAISSE, F., PATON, A., SMITH, J.A.C., ANGLE, J.S., CHANEY, R.L., GINOCCHIO, R., JAFFRÉ , T., JOHNS, R., MCINTYRE, T., PURVIS, O.W., SALT, D.E., SCHAT, H., ZHAO, F.J., BAKER, A.J.M. 2005. Use of plants to manage sites contaminated with metals. *In: BROADLEY, M.R. & WHITE, P.J. Plant nutritional Genomics*. Blackwell publishing. 344p.

WHO. 2001. Arsenic and arsenic compounds. *Environmental health criteria*; 224. World Health Organization WHO, 180p.

ZHAO, F.J., MA J.F., MEHARG A. A., MCGRATH, S.P. 2008. Arsenic uptake and metabolism in plants. *New Phytologist* 181: 777–794.

ZHAO, F.J., MCGRATH, S.P., MEHARG, A.A. 2010. Arsenic as a Food Chain Contaminant: Mechanisms of Plant Uptake and Metabolism and Mitigation Strategies. *Annual Review of Plant Biology* 61: 535–59.