FITORREMEDIAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS: DESENVOLVIMENTO VEGETATIVO E NODULAÇÃO DE LEUCAENA LEUCOCEPHALA (LAM) DE WIT

Denise Czarnescki da Silva [1]

Ferdinando Bisogno de Castro [2]

Paulo Roberto Diniz da Silva [3]

Suelen Martinez Guterres [4]

Valdir Marcos Stefenon [5]

Resumo:

As explorações de minérios de cobre em diversas partes do país, causaram impactos ambientais visíveis nas condições dos solos, como baixo teor de nutrientes e matéria orgânica, que consequentemente prejudicam o estabelecimento e desenvolvimento de grande parte das espécies vegetais, além de dificultarem a recuperação destas áreas degradadas. Tendo em vista este problema neste estudo, buscamos avaliar a capacidade de nodulação de (Leucaena leucocephala (Lam.) de Wit) ao estimular a simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio da linhagem Mesorhizobium loti SEMIA806, cujo as cepas podem ser empregadas para a biorremediação de solos contaminado com cobre, visando seu posterior uso na rizoremediação. As sementes de leucena coletadas passaram por uma assepsia com imersão em hipoclorito de sódio a 1% (NaClO) por 5 minutos, e para o plantio das sementes utilizamos 4 bandejas para mudas/isopor 128 células, contendo terra coletada no campus, previamente peneirada e esterilizada por autoclave. Um total de 600, foram submetidas a um tratamento pré plantio, para superação de dormência tegumentar, onde foram imergidas em água fervente a 100ºC e deixadas por duas horas em água a temperatura ambiente. Antes do plantio ainda foram imersas em uma suspensão de turfa SEMIA806 concentração de 2,5x 1011 UFC/g por quatro horas. E aos 45 e 75 dias após o plantio as mudas receberam novamente pulverizações da suspensão da turfa SEMIA806 na concentração de 1x10 11 UFC/g de maneira uniforme em toda a área das bandejas. Mudas jovens coletadas a campo, bem como as mudas da casa de vegetação tiveram a verificação de nodulação em suas raízes se deu através do uso de microscópio lupa estereoscópio. Aos 160 dias após a emergência (DAE) observamos através do microscópio o início da formação das estruturas primordiais de nódulos nas raízes. Assim nossos resultados foram satisfatórios com relação ao crescimento e nodulação de mudas de leucena, mas a realização de testes posteriores que venham simular as condições naturais de solos contaminado com o cobre são necessários. Afim buscar corroborar com a literatura e destacar esta espécie de leguminosa arbórea, como uma promissora fitorremediadora de áreas degradadas por metais.

Palavras-chave: biorremediação.degradação ambiental.cobre.recuperação

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

FITORREMEDIAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS: DESENVOLVIMENTO VEGETATIVO E NODULAÇÃO DE LEUCAENA LEUCOCEPHALA (LAM) DE WIT

[1] Aluno de graduação. de.czaki@gmail.com. Autor principal

[2] aluno de graduação. ferdibisogno12@gmail.com. Co-autor

[3] aluno de graduação. paulorobertodinizdasilva@gmail.com. Co-autor

[4] aluna de graduação. suelenguterres@gmail.com. Co-autor

[5] Docente. valdirstefenon@unipampa.edu.br. Orientador

FITORREMEDIAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS: DESENVOLVIMENTO VEGETATIVO E NODULAÇÃO DE *Leucaena leucocephala* (Lam) DE WIT

1 INTRODUÇÃO

As explorações de minérios de cobre em diversas partes do país, causaram danos ambientais visíveis, e impactaram diretamente nas condições dos solos, como baixo teor de nutrientes e matéria orgânica, que consequentemente prejudicam o estabelecimento e desenvolvimento de grande parte das espécies vegetais (MENEZES et al., 2013).

Tendo em vista a dificuldade da recuperação de áreas como esta, algumas espécies de leguminosas vem sendo empregadas para o reflorestamento e conservação do solo (DRUMOND et al, 2011). Um exemplo é a leguminosa arbórea *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit., popularmente conhecida como leucena, ela apresenta alta taxa de germinação, crescimento rápido, facilidade de nodulação e rápido crescimento do sistema radicular (CORDEIRO; SALATINO, 1995). Além de ser muito utilizada como forrageira e na adubação verde por não ser exigente em grandes quantidades de fertilizantes nitrogenados, devido a sua capacidade de associação simbiótica com bactérias conhecidas como rizóbios atuantes na fixação de nitrogênio, como as do gênero *Mesorhizobium* (DRUMOND; RIBASKI, 2010).

Mesorhizobium loti é então uma importante bactéria do solo devido a capacidade simbiótica com leguminosas. Esta espécie é capaz de formar nódulos globulares e realizar a fixação de nitrogênio. As investigações in vitro demonstraram que M. loti SEMIA806 e SEMIA816 são resistentes a até 50 mg. L-1 de CuSO4 no meio de cultura, e que, portanto, tais cepas podem ser empregadas para a biorremediação de solos contaminado com cobre (VIEIRA; SILVA; STEFENON, 2017).

Neste estudo, buscamos avaliar a capacidade de nodulação de (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit) ao estimular a simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio da linhagem *Mesorhizobium loti* SEMIA806, visando seu posterior uso na rizoremediação de solos contaminados com cobre.

2 METODOLOGIA

Os experimentos foram desenvolvidos no Núcleo de Cultura de Tecidos Vegetais (NCTV) da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA) no Campus São Gabriel.

As plantas foram cultivadas em casa de vegetação sob temperatura e condições fotoperiódicas naturais durante todo o período experimental.

As estirpes de rizobactérias do gênero *Mesorhizobium loti* (SEMIA 806) foram cedidas pela Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária – Fepagro de São Gabriel- RS.

As sementes de leucena foram coletadas na cidade de São Gabriel, foram selecionadas e passaram por uma assepsia com imersão em hipoclorito de sódio a 1% (NaClO) por 5 minutos, seguida por uma tripla lavagem com água destilada após, foram secas e armazenadas em local seco.

Para o plantio das sementes utilizamos 4 bandejas para mudas/isopor 128 células, contendo terra coletada no campus, previamente peneirada e esterilizada por autoclave. As sementes selecionadas em um total de 600, foram submetidas a um tratamento pré plantio, para superação de dormência tegumentar, onde foram imergidas em água fervente a 100ºC e deixadas por duas horas em água a temperatura ambiente, seguindo recomendações da literatura (OLIVEIRA, 2008).

Antes do plantio as sementes foram imersas em uma suspensão de turfa SEMIA806 concentração de 2,5x 1011 UFC/g por quatro horas.

A observação da germinação ocorreu semanalmente, e aos 45 e 75 dias após o plantio as mudas receberam pulverizações da suspensão da turfa SEMIA806 na concentração de 1x10 11 UFC/g de maneira uniforme em toda a área das bandejas.

As mudas jovens coletadas a campo, bem como as mudas da casa de vegetação foram coletadas na cidade de São Gabriel, e a verificação de nodulação em suas raízes se deu através do uso de microscópio lupa estereoscópio.

As mudas aos 110 dias foram alocadas na casa de vegetação, dispostas em vasos maiores para melhor crescimento radicular, seguindo o mesmo padrão de observação e irrigação.

3 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Seguindo as observações da germinação em aproximadamente 30 dias após a emergência (DAE) tínhamos uma germinação uniforme, mas cerca de 40% das sementes não haviam germinado. Tal fato pode ter ocorrido porque apesar do tratamento realizado para a quebra tegumentar, a presença da película cerosa na semente a tornou bastante resistente o que dificultou a sua germinação nos primeiros meses.

As pulverizações da suspensão da turfa SEMIA806 sobre as plantas teve por objetivo melhorar a distribuição das rizobactérias no solo, ficando, portanto, melhor localizado para infectar as raízes desde o início da sua formação.

No decorrer da observação do crescimento passamos por um período de queda brusca de temperatura, devido a entrada do inverno e verificamos o início do processo germinativo das sementes que até os 75 dias ainda não o tinham realizado.

A avaliação da nodulação de mudas de leucena ocorreu aos 110 dias após a emergência (DAE), essas mudas foram delicadamente lavadas para retirar o excesso de terra, na observação através do microscópio lupa estereoscópio, notou-se que as mudas não apresentaram nodulação. Com relação aos dados apontados pela literatura também podemos citar as diferenças com relação ao crescimento que se deu de forma lenta, com o mesmo número em dias, estudos relatam um tamanho significativamente maior para a mesma espécie (PEREZ; FANTI, 1999).

A avaliação de nodulação em mudas jovens coletadas a campo também não apresentaram nódulos, uma das questões apontadas para esta ausência pode ser atribuída a fertilidade, uma vez que não são conhecidas as condições do solo em que se encontravam pois, trata-se de uma área urbana, então não se pode inferir sobre capacidade nodulifera natural uma vez que desconhecemos os fatores de influência para tal.

Em nossa última avaliação, aos 160 dias após a emergência (DAE) observamos através do microscópio o início da formação das estruturas primordiais de nódulos nas raízes, devido ao tamanho pequena e pouca quantidade destas estruturas ainda não podemos retira-las para posterior confirmação (Figura 1).

Mas, já obtivemos um grande avanço em nosso experimento principalmente porque, as mudas jovens coletadas durante o experimento em diferentes estações e solos não apresentam tal condição. As mudas seguem viáveis e alocada na casa de vegetação, seguindo o mesmo padrão de observação e irrigação (Figura 2).

Como resultados temos que a nodulação de espécies arbóreas em especial a leucena, necessita de atenção especial somada ao fato da nítida diferença nos protocolos a serem aplicados para cada região do país. O uso desta leguminosas arbóreas como fitorremediadoras necessita de mais investigações que incluam experimentos realizados em condições naturais de solos contaminados, para a certificação desses resultados (LE BOURLEGAT et al, 2007).

Além de um controle maior sobre a sazonalidade, época de colheita das sementes aliados a bioprospecção de novas estirpes que fornecem subsídios sobre a eficiência da nodulação.

Figura 1- Estrutura primária da formação de rizóbios em raiz de leucena, captada pelo microscópio lupa estereoscópio, após 160 dias após a emergência (DAE).



Fonte: do autor, 2018.

Figura 2 – Mudas de leucena alocadas na casa de vegetação.



Fonte: do autor, 2018.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando-se que, são nítidos o potencial e a importância de ter espécies arbóreas a serem utilizadas na recuperação de áreas degradadas, e que os nossos resultados foram satisfatórios com relação ao crescimento e nodulação de mudas de leucena, a realização de testes posteriores que venham simular as condições naturais de solos contaminado com o cobre são necessários. Afim buscar corroborar com a literatura e destacar esta espécie de leguminosa arbórea, como uma promissora fitorremediadora de áreas degradadas por metais, nosso próximo passo será a realização de um estudo onde avaliaremos os efeitos de diferentes concentrações de CuSO4 sobre a simbiose existente entre *M. loti* e leucena.

REFERÊNCIAS

CORDEIRO, A.; SALATINO, A. **Revista Brasileira de Botânica**. Efeito do pH na nodulação em leucena (Leucaena leucocephala (Lim.) de Wit.). São Paulo, ed.18, 191-195p. 1995.

DRUMOND, M. A.; RIBASKI, J. Leucena (Leucaena leucocephala):Uma leguminosa de uso múltiplo para o semiárido brasileiro.Embrapa Semiárido, 2010. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/28781/1/Drumond 2010.pdf. Acesso em: 14 jul. 2018.

DRUMOND, M. A.; SÁ, I. B.; CUNHA, T. J. F.; JUNIOR, J. T. C.; MELO, V. C. Documentação Fotográfica do Desempenho Silvicultural de Espécies Arbóreas na Recuperação de Áreas Degradadas pela Deposição de Rejeitos Finos da Mineração de Cobre. In: SIMPÓSIO DE MUDANÇAS CLIMÁTICAS E DESERTIFICAÇÃO NO SEMIÁRIDO BRASILEIRO, 2011, Juazeiro. Disponível em:http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/49796/1/Drumond.pdf>. Acesso em: 14 jul. 2018.

LE BOURLEGAT, J. M. G.; ROSSI, S. C.; CHINO, C. E.; SCHIAVINATO, M. A.; LAGOA, M. M. A. Tolerância de Leucaena leucocephala (Lam.) de Wit. ao Metal Pesado Chumbo. Revista Brasileira de Biociências, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 1017-1019, jul. 2007.

MENEZES, K. A. S.; SILVA, A. F.; NUNES, G. F. de O.; SAMPAIO, A. A.; VIEIRA, L. M. V.; FERNANDES JUNIOR, P. I. Nodulação e desenvolvimento vegetativo de leucena (*leucaena leucocephala*) (lam.) de wit) em diferentes solos do semiárido**.** Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Semiárido, 2013. Disponível em:<http://www.sbpcnet.org.br/livro/65ra/resumos/areas/listaE.1.1.htm>. Acesso em: 24 ago.2018.

OLIVEIRA, A. B. Germinação de sementes de leucena (Leucaena leucocephala (Lam.) De Wit.), var. K-72. **Revista de biologia e ciências da terra**, São Cristóvão, Sergipe, v. 8, n.2, p.4-6, set.2008.

PEREZ, S. C. J. G. de A.; FANTI, S. C. Crescimento e resistência à seca de leucena em solo de cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.6, p.933-44, jun. 1999.

VIEIRA, J. D.; SILVA, P.R.D. ; STEFENON, V.M.. In vitro growth and indoleacetic acid production by Mesorhizobium loti SEMIA 806 and SEMIA 816 under the influence of cooper ions. MICROBIOLOGY RESEARCH, v.8,p.55-58,2017.