



LIVIA CRISTINA COELHO

**ELEMENTOS TERRAS RARAS NA
FISIOLOGIA, NUTRIÇÃO E CRESCIMENTO
DA SOJA**

LAVRAS - MG

2015

LIVIA CRISTINA COELHO

**ELEMENTOS TERRAS RARAS NA FISIOLOGIA, NUTRIÇÃO E
CRESCIMENTO DA SOJA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, área de concentração em Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, para a obtenção do título de Doutora.

Orientador

Dr. Valdemar Faquin

Coorientadores

Dra. Cynthia de Oliveira

Dr. Silvio Júnio Ramos

LAVRAS - MG

2015

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha
Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados
informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Coelho, Livia Cristina.

Elementos terras raras na fisiologia, nutrição e crescimento da soja /
Livia Cristina Coelho. – Lavras: UFLA, 2016.

97 p.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2015.

Orientador(a): Valdemar Faquin.

Bibliografia.

1. *Glycine max*. 2. Elementos terras raras. 3. Crescimento. 4.
Fisiologia. 5. Nutrição. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

LIVIA CRISTINA COELHO

**ELEMENTOS TERRAS RARAS NA FISIOLÓGIA, NUTRIÇÃO E
CRESCIMENTO DA SOJA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, área de concentração em Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, para a obtenção do título de Doutora.

APROVADA em 11 de dezembro de 2015.

Dr. Renato Paiva	UFLA
Dr. Mozart Martins Ferreira	UFLA
Dr. Carlos Alberto Silva	UFLA
Dr. Luiz Carlos Alves de Oliveira	UFMG

Dr. Valdemar Faquin
Orientador

LAVRAS - MG
2015

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me concede forças e fé. Por reconfortar meu espírito e fortalecer meus anseios.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras pela oportunidade da realização do curso de Doutorado, e à Universidade Federal de Lavras, por me conceder tantas realizações na vida.

Agradeço aos financiadores desse trabalho: Instituto de Tecnologia Vale, em cooperação com a Universidade Federal de Lavras, CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais).

À minha mãe que sempre me incentivou aos estudos e ressaltou a importância dele para a minha maioridade, sem nunca me cobrar uma nota, conceito ou prova. Obrigada pelas noites sem sono, pelos joelhos dobrados e pelas lágrimas derramadas.

Ao querido Eric. Obrigada pela ajuda, por estimular meus sonhos, por fazer minhas vontades.

Aos meus irmãos Larissa e Matheus, pela paciência, carinho, ajuda e amor. Vocês são meus tesouros.

Aos meus avós Lázaro e Antônia, pelos exemplos de vida e carinho.

Aos meus colegas do DCS, Marcelle, Rimena, Ana Paula, Viviane, Geila, Adalberto e Cleber pelo auxílio e amizade.

À amiga Cynthia, pela atenção e disponibilidade dada na confecção deste trabalho.

Às minhas queridas amigas Malu e Nilma, pelos momentos de descontração e companheirismo.

Às minhas amigas da Prefeitura Universitária, Renata, Vera, Darlene, Cris, Helia, Ângela e Sheila, que fazem da minha rotina mais divertida.

Aos professores Valdemar Faquin e Alfredo Scheid Lopes, exemplos de profissionalismo e vida. A todos outros professores do Departamento de Ciência do Solo, pela convivência agradável e ensinamentos.

Aos membros da banca pelas valiosas contribuições e orientações seguras.

À secretária Dirce pela boa vontade, dedicação, alegre convívio e excelência nas suas atividades.

Por último, gostaria de agradecer à Professora Janice (*in memoriam*), que infelizmente não pode estar presente neste momento tão feliz da minha vida. Obrigada pelo estímulo, ensinamentos e valores passados.

RESUMO GERAL

Estratégicos para a alta tecnologia, os elementos terras raras (ETRs) constituem um grupo de elementos com características físicas e químicas semelhantes. São chamados terras pela sua ocorrência na forma de óxidos, e raros por dificuldades no processo de individualização, já que a abundância na litosfera é relativamente alta. Esses elementos podem substituir o cálcio em minerais fosfatados e serem adicionados ao solo juntamente aos fertilizantes. Nesse sentido, a soja é uma das culturas que mais recebem fertilizantes fosfatados, então, sujeita a aplicações mais recorrentes desses elementos. Assim, os objetivos desse estudo foram avaliar, em plantas de soja: 1) a bioacumulação e os efeitos do lantânio (La) no crescimento e índice mitótico; 2) a bioacumulação e os efeitos do samário (Sm), gadolínio (Gd) e neodímio (Nd) no crescimento e as alterações nutricionais decorrentes do uso desses elementos; visando proporcionar melhor compreensão sobre os possíveis mecanismos pelos quais a soja apresenta-se sob o efeito da presença de ETRs e verificar o potencial benéfico ou tóxico desses elementos. Os resultados do primeiro experimento demonstraram um efeito bifásico da aplicação do lantânio, em função da dose aplicada, sendo que estímulos na produção de parte aérea e raízes em baixas concentrações, bem como estímulos na taxa fotossintética, aumento no teor total de clorofila e aumento da incidência de células binucleadas. Também foram observadas em altas doses, redução do crescimento, modificações ultraestruturais na parede celular, tilacóides e cloroplastos. Nesse estudo foi observado teores nas raízes sessenta vezes maiores que na parte aérea. Em futuros estudos são sugeridas doses inferiores a 10 μM para ensaios com La em solução nutritiva. Os resultados do segundo experimento demonstraram que a aplicação de Sm, Gd e Nd em solução nutritiva nas concentrações estudadas não proporcionaram ganhos de biomassa significativos nas plantas de soja. A aplicação dos elementos terras raras estudados, afetam o balanço nutricional nas plantas de soja, destacando-se o aumento nos teores e acúmulos de P em toda a planta. Os ganhos em taxa fotossintética e acúmulo de alguns nutrientes, não resultaram em um aumento líquido de biomassa, uma vez que o efeito tóxico do Sm, Gd e Nd nas concentrações estudadas estão interferindo de forma determinante na construção de biomassa nas plantas, devido ao possível estresse promovido por estes elemento. De forma geral, conclui-se que a aplicação de forma isolada de ETRs em solução nutritiva apresenta aspectos distintos em função do elemento e da dose estudada.

Palavras-chave: *Glycine max*. Elementos terras raras. Crescimento. Fisiologia. Nutrição.

GENERAL ABSTRACT

Strategic for high technology, the rare earth elements (REE) are a group of elements having similar physical and chemical characteristics. These elements are called earth rare by their occurrence in the form of oxides, and because the difficulties of individualization in the analysis process, but, the abundance in the lithosphere is relatively high. They can exchange calcium at phosphate minerals and be added to the soil through the fertilizers. In this direction, soybean is one of the crops which receive the most phosphate fertilizers, then, frequent applications of these elements can be found. Thus, the objective of this study were to evaluate: 1) bioaccumulation and effects of lanthanum (La) on growth and mitotic index; 2) bioaccumulation and effects of samarium (Sm), gadolinium (Gd) and neodymium (Nd) on the growth and nutritional changes of soybean under these elements; aiming to provide a better understanding about of possible mechanisms of that plants subjected to REE and to examine the beneficial or toxic potential of REE. The results of the first experiment showed a biphasic effect of application of lanthanum, depending of concentrations, stimulations in shoot production and roots at low concentrations was observed, as well as elevation in photosynthetic rate, increase in the total chlorophyll content and increased incidence of binucleated cells. Decreased growth was detected and ultrastructural changes in the cell wall, thylakoids and chloroplasts. In this study, we observed roots biomass sixty times higher than shoots. In future, is suggested to use concentrations less than 10 μM for tests with La in nutrient solution. The second experimental results showed that the application of Sm, Nd and Gd in nutrient solution at the levels studied did not provide substantial biomass gains in soybean plants. The application of rare earth elements (Sm, Gd and Nd) affect the nutritional balance of soybean plant, especially the increase in the P content and P accumulation of whole plant. The gains in photosynthetic rate and accumulation of some nutrients did not result in increase of biomass, because the toxic effect of Sm, Gd and Nd at the higher levels are interfering decisively in the construction of biomass plants due stress occasioned under these elements. In general, it is concluded that the application of REE isolated in nutrient solution has different aspects depending on the element and REE concentrations.

Keywords: *Glycine max*. Rare earth elements. Growth. Physiology. Nutrition.

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	9
1	INTRODUÇÃO	9
2	REFERENCIAL TEÓRICO	11
2.1	Aspectos gerais	11
2.2	Geoquímica dos ETRs	14
2.3	Vias de entradas dos ETRs em solos	15
2.4	Presença de ETRs em solos	16
2.5	Efeitos de ETRs nas plantas e na qualidade de produtos vegetais	19
2.6	A cultura da soja	23
	REFERÊNCIAS	25
	SEGUNDA PARTE - ARTIGOS	31
	ARTIGO 1 Bioacumulação e efeitos do lantânio no crescimento e índice mitótico de plantas de soja	31
	ARTIGO 2 Bioacumulação de samário, gadolínio e neodímio e seus efeitos no crescimento e nutrição em soja (<i>Glicine max</i> (L.) Merrill)	62

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

Elementos Terras Raras ou ETRs é o nome dado a 17 elementos químicos da tabela periódica que engloba os 15 elementos lantanídeos (La a Lu) e mais os elementos ítrio (Y) e escândio (Sc) que são denominados de forma generalizada por apresentarem propriedades físico-químicas e de ocorrência semelhantes.

Estratégicos para a alta tecnologia, os elementos terras raras constituem um grupo de elementos com características físicas e químicas semelhantes. São utilizados em aparelhos eletrônicos, carros híbridos, ímãs, lâmpadas de led, monitores, computadores, ligas, etc; produtos de elevado valor agregado. Além desses produtos, os ETRs são aplicados na agricultura chinesa como elementos benéficos, país que produz a maior parte dos ETRs consumidos no mundo.

Não se sabe ao certo se são benéficos ou não, mas sabe-se que em 2011, quando a China regulou a produção, os preços desses elementos elevaram, então, iniciou-se uma maior preocupação com esses elementos e suas peculiaridades.

Os efeitos dos ETRs nas culturas têm sido estudados de forma mais expressiva em países como a China, Austrália e a Rússia. Além de estudos sobre os rendimentos das culturas, são encontrados em literatura, efeitos envolvendo os mecanismos de absorção radicular e foliar dos ETRs, bem como sua distribuição nas plantas e citolocalização. As implicações do uso dos ETRs nas plantas incluem hipóteses sobre mudanças na estabilidade e funcionalidade das membranas e parede celular, fotossíntese, atividade do sistema antioxidante, nutrição das plantas, eficiência no uso da água, produção e qualidade dos produtos colhidos. Entretanto, os resultados apresentados são ainda contraditórios e inconsistentes, mostrando, por exemplo, a dependência da dose

aplicada como uma condição para a manifestação da toxidez ou caráter benéfico dos mesmos.

Ressalta-se também, que a maioria dos trabalhos envolvendo ETRs é originária da China, escritos em sua língua oficial, o que dificulta a compreensão e o acesso à informação.

A soja é uma das culturas que mais recebem fertilizantes fosfatados, cujos minerais de origem são aqueles que mais contribuem com o fornecimento de ETRs para o solo via intemperismo ou fertilizantes.

Pela importância econômica dos ETRs no mundo e dos possíveis efeitos benéficos da aplicação dos mesmos na agricultura, estudos envolvendo a sua dinâmica no sistema solo-planta, em condições tropicais, devem ser abordados, a fim de conhecer as modificações em mecanismos e processos fisiológicos, bem como nos aspectos nutricionais, para o esclarecimento dos reais efeitos positivos e fitotóxicos.

Nesse contexto, os objetivos desse estudo foram avaliar, em plantas de soja: 1) a bioacumulação e os efeitos do lantânio (La) no crescimento e índice mitótico; 2) a bioacumulação e os efeitos do samário (Sm), gadolínio (Gd) e neodímio (Nd) no crescimento e as alterações nutricionais decorrentes do uso desses elementos; visando proporcionar melhor compreensão sobre os possíveis mecanismos pelos quais a soja apresenta-se sob o efeito da presença de ETRs e verificar o potencial benéfico ou tóxico desses elementos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Neste tópico, serão exploradas informações sobre a importância dos ETRs e ocorrências desses elementos no ambiente, bem como os seus efeitos nas plantas e na qualidade de produtos vegetais. Também será abordada uma breve visão sobre a cultura da soja e sua relação com os ETRs.

2.1 Aspectos gerais

Os elementos terras raras (ETRs) são, de acordo com a classificação da International Union of Pure and Applied Chemistry – IUPAC (2005), um grupo relativamente abundante de 17 elementos químicos. Dentre esses elementos, 15 pertencem ao grupo dos lantanídeos com número atômico entre $Z=57$ e $Z=71$ na tabela periódica. Pertencem a esse grupo, os seguintes elementos: lantânio (La), cério (Ce), praseodímio (Pr), neodímio (Nd), promécio (Pm), samário (Sm), európio (Eu), gadolínio (Gd), térbio (Tb), disprósio (Dy), hólmio (Ho), érbio (Er), túlio (Tm), itérbio (Yb) e lutécio (Lu). A eles, se juntam o escândio (Sc, $Z=21$) e o ítrio (Y, $Z=39$) (IUPAC, 2005).

A expressão “Elementos Terras Raras” é imprópria para designar estes elementos. A denominação “terras” foi dada em função da aparência terrosa de seus óxidos. No entanto, a expressão “raras” não está de acordo, pois os lantanídeos são mais abundantes que muitos outros elementos, à exceção do promécio que não ocorre na natureza. Os teores de ETRs podem ser encontrados na crosta terrestre variando de 0,5 a 66 mg g⁻¹. Nesse sentido, vários deles não são portanto, “raros” e ocorrem amplamente dispersos em uma variedade de formas, especialmente como minerais acessórios em granitos e gnaisses. Por exemplo, os elementos túlio (Tm) (0,5 mg kg⁻¹) e lutécio (Lu) (0,3 mg kg⁻¹) que são as terras raras menos abundantes na crosta terrestre, são mais abundantes

que a prata (Ag) ($0,06 \text{ mg kg}^{-1}$), bismuto (Bi) ($0,2 \text{ mg kg}^{-1}$) e cádmio (Cd) ($0,1 \text{ mg kg}^{-1}$). A abundância de Ce em solos do mundo ($56,7 \text{ mg kg}^{-1}$) é maior que elementos mais conhecidos, como cobre (Cu) ($38,9 \text{ mg kg}^{-1}$) e molibdênio (Mo) ($1,1 \text{ mg kg}^{-1}$) (KABATA-PENDIAS, 2010). Entre os principais países produtores de ETRs, destaca-se a China, que possui as maiores reservas mundiais (**Tabela 1**).

Tabela 1 Distribuição das principais reservas mundiais de ETRs

País	Reserva mundial (%)
China	59,3
Rússia	14,0
EUA	9,3
Austrália	3,9
Índia	0,9
Canadá	0,7
África do Sul	0,3
Brasil	0,1
Malásia	0,02
Siri Lanka	0,008
Outros países	14,0
Total	100

Fonte: Adaptado de Hedrick (2004)

As principais fontes econômicas contendo os ETRs são as argilas lateríticas e os minerais bastnasita, monazita e loparita. Apesar de sua abundância relativamente elevada, os ETRs são mais difíceis de serem minerados e extraídos, comparados a fontes equivalentes de metais de transição, devido, em parte, às suas semelhanças químicas (JORJANI; SHAHBAZI, 2012).

As propriedades químicas e físicas dos ETRs permitem a sua utilização em grande variedade de aplicações tecnológicas, que vão desde a constituição de catalisadores à produção de materiais luminescentes e de magnetos. Nesse sentido, os ETRs compõem os supercondutores, magnetos miniaturizados,

catalisadores utilizados em refinação de produtos diversos e componentes para carros híbridos (HAXEL; HEDRICK; ORRIS, 2006).

Com o desenvolvimento tecnológico, os ETRs ganharam novos usos e, atualmente, o universo de suas aplicações é muito abrangente, sendo utilizados como catalisadores no tratamento de emissões automotivas, no craqueamento do petróleo, na fabricação de *lasers*, como materiais luminescentes, na fabricação de lâmpadas fluorescentes e tubos de raios catódicos de aparelhos de televisão, etc. (MARTINS; ISOLANI, 2005).

Na agricultura a adição de ETRs via fertilizantes tem chamado a atenção nos últimos anos, devido ao aumento de sua aplicação no solo. Essa prática tem sido amplamente utilizada na China desde a década de 80 (GUO, 1985). Nesse país são relatados aumentos na produção de culturas agrícolas relacionadas com a aplicação de diversos ETRs. Na China também se encontram as maiores reservas mundiais de ETRs, o que torna esse país o principal fornecedor para o mercado mundial (JACKSON, 1985). Segundo Haid e Wettig (2000) a demanda e a previsão mundial para o consumo de ETRs são crescentes.

Alguns trabalhos de pesquisas têm avaliado os efeitos dos ETRs nos atributos do solo e no crescimento vegetal. A aplicação desses elementos foi relacionada a aumentos na biodisponibilidade de cálcio e manganês no solo (CHANG, 1991). Dentre seus efeitos nas plantas, foram constatados estímulos na síntese de clorofila (GUO, 1993) e crescimento de raiz e parte aérea em trigo, pepino, soja e milho (WU et al., 1985). No entanto, os efeitos relatados na literatura nem sempre são positivos, existindo opiniões conflitantes sobre os benefícios desses elementos no solo e plantas (TURRA; FERNANDES; BACCHI, 2011).

2.2 Geoquímica dos ETRs

Elementos terras raras, em geral, possuem uma conformação eletrônica ímpar, com raios iônicos grandes, estado de oxidação 3^+ e uma eletronegatividade bem próxima a de elementos como cálcio (Ca) ou sódio (Na), contudo, inferior à dos metais de transição da tabela periódica (LAVEUF; CORNU, 2009). Possuem como característica, a preferência em formar ligações covalentes, o que, dentre outros predicados, explica a proximidade em que os ETRs se encontram nos minerais, bem como o comportamento similar existente entre eles no meio ambiente (TYLER, 2004).

Os ETRs são distribuídos e redistribuídos durante o intemperismo em função da estabilidade e natureza mineralógica do mineral em que estão presentes, bem como as diferentes propriedades destes na solução do solo. São encontrados em minerais como fosfatos, carbonatos, fluoretos e silicatos, ocorrendo principalmente em pegmatitos, granitos e rochas ígneas e metamórficas (TYLER, 2004). O que difere os ETRs em cada mineral, com relação ao teor, são basicamente a sua valência e seu raio iônico (KANAZAWA; KAMITANI, 2006). Há alguns elementos como sódio (Na), cálcio (Ca), tório (Th) e urânio (U), que possuem raio iônico muito semelhante aos dos ETRs, e, por muitas vezes, são substituídos nos minerais por esses últimos. Entretanto, a substituição mais comum é pelo cálcio (Ca) (KANAZAWA; KAMITANI, 2006).

Os minerais fosfatados são aqueles que mais contribuem com o fornecimento de ETRs para o solo. Taunton, Welch e Banfield (2000) e Tyler (2004) relatam que os minerais fosfatados podem conter altas concentrações de ETRs, estando estas concentrações diretamente relacionadas com a gênese do mineral (PICARD et al., 2002).

Sendo assim, rochas fosfatadas são grandes contribuidoras para o aumento de ETRs em solos, seja através do intemperismo, ou ainda via fertilizantes. Essas adições, mesmo em pequenas quantidades, podem influenciar os teores de ETRs nos solos (PAPOULIS, 2004).

2.3 Vias de entradas dos ETRs em solos

Nos últimos anos, os ETRs têm entrado no ambiente de várias maneiras, devido ao rápido aumento da exploração dos recursos minerais que contêm ETRs e também pelas suas aplicações na indústria moderna, na agricultura e na vida cotidiana (EL-RAMADY, 2011). Além do intemperismo, formas antropogênicas também acrescentam, de forma direta ou indireta ETRs ao solo.

Aubert et al. (2002) ao estudarem a migração de ETRs da atmosfera para o solo, concluíram que a deposição destes elementos é totalmente dependente do ambiente em contexto. Laveuf e Cornu (2009) salientaram que as deposições secas de ETRs, como por exemplo, as de partículas, não são comuns. Todavia, esses autores comentaram que as concentrações de ETRs na água da chuva são variáveis, notadamente quando próximo a cidades. A utilização da prática da irrigação, juntamente com o intemperismo também são responsáveis pela entrada de ETRs no solo (AUBERT et al., 2002).

Atividades industriais vêm sendo relacionadas com o aumento de ETRs em solos, através da adição de lodo de esgoto, resíduos de mineração e descarte de efluentes (JONES, 1997). Zhang, Yamasaki e Kimura (2001) realizaram estudos com a aplicação de cinzas, em diferentes solos agrícolas e observaram que a aplicação contínua desses resíduos, pode aumentar a concentração de alguns ETRs nos solos. Contudo, esses autores concluíram que a distribuição de ETRs nesses solos, após a aplicação dos resíduos era normal, não sendo constatado portanto, nenhum tipo de poluição.

Desde a década de 70, os chineses utilizam fertilizantes contendo ETRs em suas formulações, visando melhorar a produção de diversas culturas. Muitos são os trabalhos demonstrando que a aplicação desses fertilizantes melhora o desempenho na produção e o crescimento de plantas sob os mais diversos estresses (FANG et al., 2007; PANG; LI; PENG, 2002; XU et al., 2002). Os fertilizantes fosfatados são produzidos a partir de fosfatos naturais, como apatita e fosforita, e podem conter altas concentrações de ETRs, devido à alta afinidade que grupamentos de fósforo possuem por estes elementos (TYLER, 2004). Sendo assim, estes fertilizantes também carregam ETRs para o solo, sendo confirmado por alguns autores. Redling (2006) salientou que fertilizantes fosfatados aplicados em longo prazo são grandes fornecedores de ETRs ao solo. Volokh et al. (1990) concluíram que fertilizantes fosfatados são uma importante fonte antropogênica de ETRs para os solos. Turra, Fernandes e Bacchi (2011) ao estudarem diversos fertilizantes comercializados no Brasil, concluíram que os teores de ETRs em fertilizantes são muito variáveis e que dentre estes, os fertilizantes fosfatados são aqueles que contêm os maiores teores de ETRs.

Com isso, a entrada de ETRs no solo fica restrita basicamente onde há um predomínio de minerais que contenham ETRs, onde há deposição de resíduos contaminados com estes elementos ou principalmente em áreas agrícolas onde há adubações contínuas com fertilizantes fosfatados.

2.4 Presença de ETRs em solos

As concentrações de ETRs em solos variam de acordo com propriedades da rocha de origem, clima, grau de intemperismo do solo, teores de matéria orgânica e minerais de argila (TYLER, 2004). As concentrações médias de ETRs (teores totais) em solos são mostradas na **Tabela 2**.

Teores de ETRs foram analisados por ativação de nêutrons, em solos de textura arenosa e argilosa, amostrados em uma profundidade de 20 cm, ambos na região de cerrado do estado de Minas Gerais, Brasil (OLIVEIRA et al., 2012). Neste estudo, o solo arenoso mostrou maior teor de Ce (21 mg kg^{-1}), seguido por Sc ($6,6 \text{ mg kg}^{-1}$) e La ($3,0 \text{ mg kg}^{-1}$), enquanto Sm ($0,39 \text{ mg kg}^{-1}$), Yb ($1,5 \text{ mg kg}^{-1}$) e Tb ($0,20 \text{ mg kg}^{-1}$) apareceram em proporções menores. Já no solo argiloso, os teores de ETRs foram: Ce (148 mg kg^{-1}), La (62 mg kg^{-1}), Nd (41 mg kg^{-1}) e Sc (30 mg kg^{-1}). Os elementos Sm ($6,7 \text{ mg kg}^{-1}$), Yb ($4,3 \text{ mg kg}^{-1}$), Eu ($2,0 \text{ mg kg}^{-1}$) e Tb ($1,2 \text{ mg kg}^{-1}$) mostraram proporções menores (OLIVEIRA et al., 2012). Liang et al. (2005) avaliaram os teores de ETRs em solos da China e os valores médios de ETRs totais nos solos foram de $176,8 \text{ mg kg}^{-1}$, variando de $85,0$ a $522,7 \text{ mg kg}^{-1}$.

Tabela 2 Concentração média de ETRs em solos de diferentes origens

Elemento	Crosta terrestre	Solos do Japão	Solos da China	Solos da Suécia
mg kg^{-1}				
La	35	15	34,7	5,5 – 33,2
Ce	66	33	74,8	11,0–68,0
Pr	9,1	38	-	1,3 – 7,5
Nd	40	15	33	9,3 – 5,3
Sm	7	3,4	5,63	0,9 – 4,6
Eu	2,1	0,8	1,11	0,2 – 0,9
Gd	6,1	3,4	-	1,0 – 4,8
Tb	1,2	0,5	0,77	0,2 – 0,6
Dy	4,5	3	-	0,9 – 3,7
Ho	1,3	0,6	-	0,2 – 0,7
Er	3,5	1,8	-	0,6 – 2,2
Tm	0,5	0,3	-	0,1 – 0,3
Yb	3,1	1,8	2,64	0,6 – 2,3
Lu	0,8	0,3	0,45	0,1 – 0,3

Fonte: Liang et al. (2005), Tyler (2004) e Uchida, Tagami e Hirai (2007)

A quantidade de ETRs absorvida pelas plantas é altamente dependente de sua disponibilidade em solo, e ela tem relação com as concentrações desses elementos na solução do solo. Altas concentrações de ETRs no solo podem levar a alterações nas propriedades do solo e da fertilidade. Por exemplo, a acumulação de La pode levar à lixiviação de Ca^{+2} , Mg^{+2} e outros cátions alcalinos, aumento do pH e diminuição de nitrogênio e de fósforo disponível (JINXIA et al., 2010).

A disponibilidade de ETRs é influenciada por muitos fatores no solo. Em solução, os ETRs podem ser complexados com ligantes inorgânicos, como carbonato e sulfato, e ligantes orgânicos, como ácidos húmicos e fúlvicos (PANG; LI; PENG, 2002). Nesse sentido, há uma grande variedade de ligantes orgânicos e inorgânicos e, portanto, apenas uma pequena parcela dos elementos, em geral, é dissolvida como cátions hidratados (SHAN et al., 2003). Um estudo evidenciou que a disponibilidade de ETRs é fortemente influenciada pelos atributos físico-químicos do solo (LIANG et al., 2005), como pH, capacidade de troca catiônica (CTC) (LI et al., 2001), bem como a matéria orgânica do solo (ZHENGHUA et al., 2001). Segundo Pang, Li e Peng (2002) a capacidade de adsorção de ETRs em solos é dependente do tipo de argila e das concentrações de óxidos de ferro e de manganês, sendo que este possui elevada capacidade de adsorção.

A matéria orgânica do solo, assim como as substâncias húmicas participam de uma diversidade de processos geoquímicos e bioquímicos no solo. Os microrganismos em decomposição têm enorme importância no comportamento dos ETRs do solo, por produzirem diversos compostos orgânicos, como grupos funcionais carregados negativamente, o que resulta em alta capacidade de adsorção ou quelação de cátions. No sistema de solo natural, ligantes orgânicos, tais como o ácido orgânico, ácido fúlvico, ácido húmico, exsudatos de plantas, dentre outros, desempenham um papel muito importante

na alteração da biodisponibilidade e complexação de ETRs no solo (ZHIMANG et al., 2001).

A aplicação de terras raras tem levado a dispersão e bioacumulação desses elementos no ambiente, em particular na produção agrícola, o que leva a transferência através da cadeia alimentar para o corpo humano (XU et al., 2002).

Jinxia et al. (2010) estudaram a comunidade da macrofauna em áreas de solo onde ocorreu poluição com ETRs e chegaram à conclusão que ela pode sofrer redução em sua diversidade, principalmente os representantes dos grupos dos *Carabidae* e *Dermaptera*.

Os fertilizantes fosfatados além de conterem elementos essenciais para as plantas, podem ter quantidades variadas de elementos-traço e elementos terras raras. Ao avaliar os teores de ETRs em solo agrícola, com histórico de adubação anual de 300 kg de P ha⁻¹ com fertilizante fosfatado, Todorovsky, Minkova e Bakalova (1997) chegaram à conclusão de que com a utilização regular desses fertilizantes há um aumento significativo no teor de ETRs no solo de 19%.

A contaminação ambiental resultante da utilização de ETRs deve crescer rapidamente em um futuro próximo e pesquisas têm sido feitas para compreender a distribuição e acumulação deles no ambiente (MIAO et al., 2007). Como exemplo, a toxicidade de La em trigo é mais baixa que a de Cu, mas um pouco mais elevada que a do Fe (WHEELER; POWER, 1995). Os ETRs adicionados a partir de fontes antropogênicas, normalmente entram no ambiente em formas biologicamente disponíveis e assim podem deslocar o equilíbrio no ciclo biogeoquímico das espécies (SHAN; LIAN; WEN, 2002).

2.5 Efeitos de ETRs nas plantas e na qualidade de produtos vegetais

De maneira geral, os efeitos de ETRs em plantas ainda são pouco estudados. A maior parte dos trabalhos encontrados em literatura sobre os

elementos de forma isolada, trata-se daqueles mais abundantes no solo, como o La, Ce e Nd.

Os ETRs são absorvidos via radicular ou ocasionalmente, via foliar (EL RAMADY, 2011), e tal como ocorre com a maioria dos elementos-traço, há uma tendência na diminuição do teor de ETRs, segundo a ordem: raiz > folhas > caule > flor, grãos, frutos (BRIOSCHI et al., 2012; XU et al., 2002). Hu et al. (2002) relataram que a absorção de ETRs do solo é, geralmente, muito maior que a taxa de translocação das raízes para a parte aérea. Nesse sentido, Zhimang et al. (2001) demonstraram que, em trigo, a sua acumulação na raiz foi maior que na parte aérea. Foy, Chaney e White (1978) relataram que as plantas tendem a limitar a translocação de ETRs para a parte aérea, a fim de minimizar seus efeitos tóxicos causados pelas altas concentrações. Ao serem absorvidos, esses elementos tendem a combinar-se com a parede celular ou acumulam-se no espaço intercelular (EL RAMADY, 2011; LIU et al., 2012), além de combinarem com proteínas, aminoácidos, pigmentos e celulose (SHAN et al., 2003).

Alguns efeitos dos ETRs em plantas estão relacionados principalmente a mudanças fisiológicas como o aumento da atividade enzimática, aumento no conteúdo de clorofila e na taxa fotossintética, aumento da resistência ao estresse ambiental, além dos efeitos sinérgicos e antagônicos na absorção de nutrientes como N, P e K. De acordo com Wang et al. (2003) os ETRs podem inibir a formação de espécies reativas de oxigênio e diminuir a oxidação de proteínas das membranas. Nesse sentido, Zheng et al. (2000) verificaram menor produção de radicais de oxigênio ativos e, conseqüentemente, menor peroxidação lipídica em plantas de arroz tratadas com cloreto de lantânio. Hong, Wei e Zhao (2000) relataram aumento na atividade da superóxido dismutase e da catalase, bem como diminuição de radicais superóxido em sementes de arroz tratadas com nitrato de lantânio.

Os ETRs possuem uma peculiaridade com o cálcio, que muito relaciona-se com as plantas: a similaridade do raio iônico. Enquanto o Ca possui raio iônico 9,9 pm, o raio iônico dos ETRs variam de 9,6 a 11,5. Estudos constataram que ETRs podem inibir a absorção de Ca e afetar o metabolismo do Ca e Mg (NARI et al., 1989).

O aumento na absorção de P foi verificado por Jie e Yu (1985) em plantas de arroz, tratadas com nitrato contendo ETRs. Além disso, Wu et al. (1985) propuseram que as melhorias no crescimento das plantas podem ser atribuídas a uma elevação na absorção de fosfato proporcionado pelos ETRs.

Atualmente, o uso de ETRs na agricultura é amplamente praticado na China. Por isso, a maior parte das pesquisas científicas desenvolvidas com a aplicação desses elementos na agricultura é originária desse país e encontrada em sua língua oficial. Uma extensa pesquisa iniciada desde a década de 80, envolve experimentos em campo e em casa de vegetação, com uma grande variedade de espécies de plantas. Foram avaliadas aproximadamente 50 espécies, incluindo cereais, frutíferas e leguminosas e, 20 espécies florestais e pastagens. Alguns desses estudos estão listados na **Tabela 3**.

Tabela 3 Efeitos da aplicação de ETRs na produção e qualidade dos vegetais

Cultura Agrícola	Aumento na Produção (%)	Efeito na qualidade do produto	Referência
Milho	6 – 12	-	Guo (1993)
Trigo	6 – 15	aumento no teor de lisina	Xiong (1995)
Arroz	5 – 15	-	Xiong (1995)
Cana-de-açúcar	8 – 20	aumento de 0,5% em açúcar	Xiong (1995)
Beterraba açucareira	8 – 15	aumento de 0,4% em açúcar	Xiong (1995)
Colza	14 – 24	aumento de 2% no teor de óleo	Xiong (1995)
Laranja	8 – 38	aumento de 0,6% em açúcar	Wan et al. (1998)
Batata	10 – 14	aumento em 1% em amido	Guo (1993)

Fonte: Redling (2006)

De maneira geral, são relatadas respostas das plantas da ordem de 5 a 15%, resultante da aplicação de ETRs (XIONG, 1995). Alguns estudos comprovaram melhorias na qualidade dos produtos vegetais proporcionando aumentos no teor de açúcar em cana de açúcar, no teor de vitamina C em uvas e maçãs e no conteúdo de proteína em soja (WAN et al., 1998). Foram realizados 124 experimentos de campo envolvendo a aplicação de ETRs em beterraba na China. Dos experimentos feitos, 84% demonstraram melhorias significativas no rendimento e na qualidade de beterraba após a aplicação de ETRs (GUO et al., 1988). Na cultura do algodão, Yang e Jiang (1988) verificaram aumentos de 5 a 12% no rendimento de plumas após a aplicação de ETRs. Em trigo, onde foram aplicados esses elementos, foram verificados aumentos nos teores de aminoácidos totais, lisina e histidina (GUO et al., 1988).

No Brasil, os estudos envolvendo os efeitos de ETRs em plantas são ainda mais incipientes, não existindo registros sobre sua utilização na agricultura. Espindola (2009) estudou em Santa Maria, RS, os efeitos dos elementos terras raras Ce e La, sobre a qualidade fisiológica de sementes de alface, milho, feijão e soja e; crescimento e desenvolvimento de plantas de milho e soja em campo após tratamento das sementes com os elementos. Os resultados mostraram que a aplicação de Ce e La nas sementes influenciou, na maioria dos casos, a germinação e o vigor. Em campo, não foram observados efeitos do Ce e do La sobre o crescimento e desenvolvimento de plantas de milho e sobre a emergência da soja, mas, o tratamento com Ce foi capaz de aumentar o rendimento final da cultura do milho.

Todavia, com os relatos benéficos da utilização desses, como alternativa para aumentar o rendimento das culturas, estudos que visam uma melhor compreensão e comprovação dos mecanismos envolvidos, são necessários. Também, estudos de risco ecológico devem ser traçados, visando uma previsão dos efeitos da aplicação desses elementos em longo prazo.

2.6 A cultura da soja

A soja é uma das culturas que possuem grande impacto no setor econômico nacional e mundial. A grande importância da soja está ligada aos relativamente elevados teores de proteína (25%-29%) e de óleo (cerca de 20%) nos grãos e assim, fonte desses, para diversos produtos para nutrição humana e animal (DALSHAD; PAKHSHAN; SHIREEN, 2013).

A produção nacional e mundial de grãos de soja para a safra 2014/2015 foi, respectivamente, de 96,20 e 318,68 milhões de toneladas com projeções para 2015/2016 de 100,00 e 321,02 milhões de toneladas, ou seja, aumento de 3,95% e 0,73%. Vale lembrar que, a produção de grãos de soja do Brasil é a segunda maior do mundo, perdendo apenas para os Estados Unidos, 107 milhões de toneladas na safra de 2014/2015 (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA, 2015a). A estimativa de consumo e exportação brasileira de grãos de soja para a safra de 2015/2016 é de 43,10 e 57,0 milhões de toneladas (USDA, 2015b).

Sabe-se que para altas produções e grãos de qualidade são necessários níveis adequados de nutrientes para as plantas. Nesse sentido, o fósforo é um dos nutrientes que mais limita a produtividade das culturas e, é o aplicado em maiores quantidades. A soja é umas das culturas que recebem as maiores aplicações de fertilizantes fosfatados, que contém elevados teores de ETRs (TURRA; FERNANDES; BACCHI, 2011). Em média, no Brasil, são utilizados 28 kg de P ha⁻¹ para produção de soja. Um prognóstico, de 2005, para uso global de P nesta cultura é um aumento de 30,64% até 2020 (de 235 para 307 toneladas) (CORDELL; SMIT; ROSEMARIN, 2010).

As altas taxas de aplicação de fertilizantes fosfatados, especialmente em países tropicais como o Brasil pode introduzir níveis consideráveis de ETRs no solo (TURRA; FERNANDES; BACCHI, 2011). Sendo que, esses elementos

podem ser transferidos para as plantas e causar efeitos no crescimento e desenvolvimento. Embora esses efeitos ainda sejam pouco elucidados, na cultura da soja Guangxian (2012) apresenta resultados em que houve aumento no crescimento de plantas, na nodulação e na atividade de fixação de nitrogênio do nódulo, na presença de ETRs.

Diante do exposto, estudos sobre os efeitos dos ETRs no crescimento e nas características fisiológicas e estruturais da soja podem fornecer maiores informações sobre os possíveis benefícios ou malefícios da presença de ETRs na cultura.

REFERÊNCIAS

AUBERT, D. et al. Characterization and migration of atmospheric REE in soils and surface waters. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, London, v. 66, n. 19, p. 3339–3350, 2002.

BRIOSCHI, L. et al. Transfer of rare earth elements (REE) from natural soil to plant systems: implications for the environmental availability of anthropogenic REE. **Plant and Soil**, The Hague, v. 366, p. 143–163, 2012.

CHANG, J. Effects of lanthanum on the permeability of root plasmalemma and the absorption and accumulation of nutrients in rice and wheat. **Chinese Plant Physiology Communication**, Shanghai, v. 27, p. 17-21, 1991.

CORDELL, D.; SMIT, A. L.; ROSEMARIN, A. **Sustainable use of phosphorus**: EU tender ENV. B1/ETU/2009/0025. 2010. Disponível em: <http://ec.europa.eu/environment/natres/pdf/sustainable_use_phosphorus.pdf>. Acesso em: 1 dez. 2015.

DALSHAD, A. D.; PAKHSHAN, M. M.; SHIREEN, A. A. Effect of Phosphorus fertilizers on growth and physiological phosphorus use efficiency of three soy bean cultivars. **Journal of Agriculture and Veterinary Science**, Qasim, v. 3, n. 6, p. 32-36, jul./agos. 2013.

EL-RAMADY, H. R. H. **A contribution on the bio-actions of rare earth elements in the soil / plant environment**. 2011. 278 f. Thesis. (Ph.D in Science) - Facultad fur Lebenswissenschaften der Technischen Universitat carolo, Wilhelmina Brunsvique, 2011.

FANG, J. et al. Evaluation of bioavailability of light rare earth elements to wheat (*Triticum aestivum* L.) under field conditions. **Geoderma**, Amsterdam, v. 141, n. 1, p. 53-59, 2007.

FOY, C. D.; CHANEY, R. L.; WHITE, M. C. The physiology of metal toxicity in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 29, p. 511-566, 1978.

GUANGXIAN, X. (Ed.). **New frontiers in rare earth science and applications**. [S. l.]: Elsevier, 2012. v. 1, 2, p. 1515-1517.

GUO, B. S. et al. Rare earths in Agriculture. **Agricultural Scientific Technological**, Beijing, v. 23, p. 208, 1988.

GUO, B. S. Present and future situation of rare earth research in chinese agronomy. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON RARE EARTH DEVELOPMENT AND APPLICATIONS, 1., 1985, Beijing. **Proceedings...** Beijing: Science, 1985. p. 1522–1526.

GUO, B. S. The application of rare earth elements on agriculture and breeding. **Chinese Rare Earth**, Beijing, v. 15, p. 37-43, 1993.

HAID, A.; WETTIG, E. **Konzentrationstendenzen im Weltbergbau**. 2000. Disponível em: <http://www.diw.de/deutsch/wb_3/00_konzentrationstendenzen_im_weltbergbau/30468.html>. Acesso em: 22 jan. 2015.

HAXEL, G.; HEDRICK, J.; ORRIS, J. **Rare earth elements critical resources for high technology**. Reston: United States Geological Survey, 2006.

HEDRICK, J. B. **Rare earths**: mineral commodity summaries. Disponível em: <http://minerals.er.usgs.gov/minerals/pubs/commodity/rare_earths/rareemyb02.pdf>. Acesso em: 22 jun. 2015.

HONG, F. H.; WEI, Z. G.; ZHAO, G. W. Effect of lanthanum on aged seed germination of rice. **Biological Trace Element Research**, Clifton, v. 75, p. 205-213, 2000.

HU, X.; et al. Bioaccumulation of lanthanum and cerium and their effects on the growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. **Chemosphere**, Oxford, v. 48, p. 621- 629, 2002.

INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY. **Nomenclature of inorganic chemistry**: Iupac recommendations. Davis, 2005. 366 p.

JACKSON, N. **Rare earth report on a visit to the republic of China by an Australian delegation**. Canberra: Department of Science, 1985.

JIE, H. G.; YU, Z. H. Effects of REEs on increasing yield and physiology of wheat . **Journal of Agricultural Science**, Toronto, v. 1, p. 25–29, 1985.

JINXIA, L. I. et al. Effects of the accumulation of the rare earth elements on soil macrofauna community. **Journal of Rare Earths**, Beijing, v. 28, n. 6, p. 957-964, 2010.

JONES, D. L. Trivalent metal (Cr, Y, Rh, La, Pr, Gd) sorption in two acid soils and its consequences for bioremediation. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 48, p. 697-702, Dec. 1997.

JORJANI, E.; SHAHBAZI, M. **The production of rare earth elements group via tributyl phosphate extraction and precipitation stripping using oxalic acid**. 2012. Disponível em: <http://ac.els-cdn.com/S1878535212000706/1-s2.0-S1878535212000706-main.pdf?_tid=ccea8286-fcb5-11e5-8203-00000aab0f27&acdnat=1460029526_a0320f060097cd24fdfe58ae52632a9>. Acesso em: 22 nov. 2015.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants**. New York: CRC, 2010.

KANAZAWA, Y.; KAMITANI, M. Rare earth minerals and resources in the world. **Journal of Alloys and Compounds**, Lausanne, v. 408/412, p. 1339-1343, Feb. 2006.

LAVEUF, C.; CORNU, S. A review on the potentiality of Rare Earth Elements to trace pedogenetic processes. **Geoderma**, Amsterdam, v. 154, n. 1/2, p. 1-12, Dec. 2009.

LIANG, T. et al. Environmental biogeochemical behaviors of rare earth elements in soil-plant systems. **Environmental Geochemistry and Health**, Heidelberg, v. 27, n. 4, p. 301-11, dez. 2005.

LI, D. et al. Study on the kinetics of cerium (III) adsorption-desorption on different soils of China. **Chemosphere**, Oxford, v. 44, n. 4, p. 663-669, 2001.

LIU, D. et al. The effects of cerium on the growth and some antioxidant metabolisms in rice seedlings. **Environmental Science and Pollution Research International**, Berlin, v. 19, p. 3282-3291, 2012.

MARTINS, T. S.; ISOLANI, P. C. Terras raras: aplicações industriais e biológicas. **Quimica Nova**, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 111-117, 2005.

MIAO, L. et al. Geochemistry and biogeochemistry of rare earth elements in a surface environment (soil and plant) in South China. **Environmental Geology**, Berlin, v. 56, n. 2, p. 225-235, Dec. 2007.

NARI, R.R. et al. Enhanced cerium concentration in magnesium-deficient plants. **Current Science**, Bangalore, v. 58, p. 696-697, 1989.

OLIVEIRA, K. A. P. et al. Transfer factor of Rare Earth Elements from Phosphogypsum Amended Brazilian Tropical Soils to Lettuce, Corn and Soybean. **The Journal of Solid Waste Technology and Management**, Chester, v. 38, n. 3, p. 202-210, 2012.

PANG, X.; LI, D.; PENG, A. Application of rare-earth elements in the agriculture of China and its environmental behavior in soil. **Environmental Science and Pollution Research International**, Berlin, v. 9, n. 2, p. 143-8, Jan. 2002.

PAPOULIS, D. Monazite alteration mechanisms and depletion measurements in kaolins. **Applied Clay Science**, Amsterdam, v. 24, n. 3/4, p. 271–285, Feb. 2004.

PICARD, S. et al. Rare earth element contents of Jurassic fish and reptile teeth and their potential relation to seawater composition (Anglo-Paris Basin, France and England). **Chemical Geology**, Amsterdam, v. 186, n. 1/2, p. 1–16, June 2002.

REDLING, K. **Rare earth elements in agriculture**: with emphasis on animal husbandry. 2006. 326 p. Dissertation (PhD) –Universität München, Munich, 2006.

SHAN, S. et al. Labile rhizosphere soil solution fraction for prediction of bioavailability of heavy metals and rare earth elements to plants. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 375, n. 3, p. 400-407, 2003.

SHAN, X. Q.; LIAN, J.; WEN, B. Effect of organic acids on adsorption and desorption of rare earth elements. **Chemosphere**, Oxford, v. 47, n. 7, p. 701-10, May 2002.

TAUNTON, A. E.; WELCH, S. A.; BANFIELD, J. F. Geomicrobiological controls on light rare earth element, Y and Ba distributions during granite weathering and soil formation. **Journal of Alloys and Compounds**, Lausanne, v. 303/304, p. 30–36, May 2000.

TODOROVSKY, D. S.; MINKOVA, N. L.; BAKALOVA, D. P. Effect of the application of superphosphate on rare earths' content in the soil. **Science of The Total Environment**, Amsterdam, v. 203, n. 1, p. 13-16, ago. 1997.

TURRA, C.; FERNANDES, E. A. N.; BACCHI, M. A. Evaluation on rare earth elements of Brazilian agricultural supplies. **Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology**, Tanta, v. 3, p. 86-92, Apr. 2011.

TYLER, G. Rare earth elements in soil and plant systems: a review. **Plant and Soil**, The Hague, v. 267, n. 1/2, p. 191-206, Dec. 2004.

UCHIDA, S.; TAGAMI, K.; HIRAI, I. Soil-to-Plant transfer factors of stable elements and naturally occurring radionuclides (1) upland field crops collected in Japan. **Journal of Nuclear Science and Technology**, Tokyo, v. 44, n. 4, p. 628-640, Apr. 2007.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **World agricultural production**. Washington, 2015a. Disponível em: <<http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf>>. Acesso em: 1 dez. 2015.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **World agricultural supply and demand estimates**. Washington, 2015b. Disponível em: <<http://usda.mannlib.cornell.edu/usda/current/wasde/wasde-11-10-2015.pdf>>. Acesso em: 1 dez. 2015

WANG, D. et al. Effects of spraying rare earths on contents of rare earth elements and effective components in tea. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, p. 6731-6135, 2003.

WAN, Q. et al. The effects of rare earth on increasing yield, improving quality and reducing agricultural chemical remained in crop production. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TRACE ELEMENTS AND FOOD CHAIN, 2., 1998, Wuhan. **Proceedings...** Wuhan: [s. n.], 1998. p. 25.

WHEELER, D. M.; POWER, I. L. Comparison of plant uptake and plant toxicity of various ions in wheat. **Plant and Soil**, The Hague, v. 172, p. 167-173, 1995.

WU, Z. et al. The effect of rare earth elements on nodulation and nitrogen fixation of Soybean plants. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON RARE EARTH DEVELOPMENT AND APPLICATIONS, 2., 1985, Beijing. **Proceedings...** Beijing: Science, 1985. p. 1515.

XIONG, B. K. Application of rare earths in chinese agriculture and their perspectives of development. In: THE RARE EARTHS IN AGRICULTURE SEMINAR, 20., 1995, Camberra. **Proceeding...** Camberra: ACT, 1995. p. 5-9.

XU, X. et al. Distribution of rare earths and heavy metals in field-grown maize after application of rare earth-containing fertilizer. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 293, p. 97-105, 2002.

YANG, H. Y.; JIANG, G. Z. Technologies and effect of application of REEs on cotton. **Rare Metals**, Cham, v. 6, p. 45-51, 1988. (Special).

ZHANG, F. S.; YAMASAKI, S.; KIMURA, K. Rare earth element content in various waste ashes and the potential risk to Japanese soils. **Environment International**, New York, v. 27, n. 5, p. 393-8, Nov. 2001.

ZHENG, H. L. et al. Changes in lipid peroxidation, the redox system and ATPase activities in plasma membrances of rice seedling roots caused by lanthanum chloride. **Biomaterials**, London, v. 13, p. 157-163, 2000.

ZHENGHUA, W. et al. Adsorption isotherms of lanthanum to soil constituents and effects of pH, EDTA and fulvic acid on adsorption of lanthanum onto goethite and humic acid. **Chemical Speciation & Bioavailability**, Surrey, v. 13, n. 3, p. 75-81, 2001.

ZHIMANG, G. et al. Effects of fulvic acid on bioavailability of rare earth elements and GOT enzyme activity in wheat (*Triticum aestivum*). **Chemosphere**, Oxford, v. 44, p. 545-551, 2001.

SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

ARTIGO 1

Bioacumulação e efeitos do lantânio no crescimento e índice mitótico de plantas de soja

Bioaccumulation and effects of lanthanum on growth and mitotic index in soybean plants.

Cynthia de Oliveira, Sílvio J. Ramos, José O. Siqueira, Valdemar Faquin, Evaristo M. de Castro, Douglas C. Amaral, Vânia H. Techio, Lívia C. Coelho, Pedro H. P. e Silva, Ewald Schnug, Luiz R. G. Guilherme

Ecotoxicology and Environmental Safety, V. 122, P. 136–144, 2015.

Bioaccumulation and effects of lanthanum on growth and mitotic index in soybean plants

Cynthia de Oliveira ^a, Sílvia J. Ramos ^b, José O. Siqueira ^c, Valdemar Faquin ^a,
Evaristo M. de Castro ^d, Douglas A. Carvalho ^a, Vânia H. Techio ^d, Livia C.
Coelho ^a, Pedro H. P. e Silva ^a, Ewald Schnug ^e, Luiz R. G. Guilherme ^{a*}

^a Department of Soil Science, Federal University of Lavras, CP 3037, Campus UFLA, Lavras 37200-000, Brazil

^b Vale Institute of Technology – Mining, 3580 Ligação Avenue, Building #4, Nova Lima 34000-000, Brazil

^c Vale Institute of Technology – Sustainable Development, 955 Boaventura da Silva Street, Nazaré Belém, 66055-090, Brazil

^d Department of Biology, Federal University of Lavras, CP 3037, Campus UFLA Lavras 37200-000, Brazil

^e Institute for Crop and Soil Science, 38116 Braunschweig, Germany

*Corresponding author. Tel.: +55 35 3829 1259; fax: + 55 35 3829 1251.

E-mail address: guilherm@dcs.ufla.br (L.R.G. Guilherme).

Highlights

- Lanthanum (La) distribution mapping in root and leaf tissues.
- Low levels of La were translocated from root to shoot.
- La treatment promoted the appearing of binuclear cells.

Abstract

Rare earth elements such as lanthanum (La) have been used as agricultural inputs in some countries in order to enhance yield and improve crop quality. However, little is known about the effect of La on the growth and structure of soybean, which is an important food and feed crop worldwide. In this study, the bioaccumulation and the effects of La on the growth and mitotic index of soybean was evaluated. Soybean plants were exposed to increasing concentrations of La (0, 5, 10, 20, 40, 80, and 160 μM) in nutrient solution for 28 days and plant response to La was evaluated in terms of plant growth, nutritional characteristics, photosynthetic rate, chlorophyll content, mitotic index, modifications in the ultrastructure of roots and leaves, and La mapping in root and shoot tissues. The results showed that the roots of soybean plants can accumulate sixty-fold more La than the shoots. Application of La resulted in increased contents of some essential nutrients (i.e., Ca, P, K, and Mn), while Cu and Fe levels decreased, and S content remained unchanged. The results also demonstrated that low La concentrations (5 and 10 μM) stimulated the photosynthetic rate and total chlorophyll content and promoted a higher incidence of binucleate cells, resulting in a slight increase in roots and shoots. On the other hand, at higher La levels reduced soybean growth was observed, caused by ultrastructural modifications in the cell wall, thylakoids and chloroplasts, and the appearance of c-metaphases.

Keywords: Lanthanum; mitotic index; photosynthetic rate; ultrastructural analysis; hormetic effects.

1. Introduction

Rare earth elements (REEs) are a homogenous group of seventeen chemical elements in the periodic table, with similar physical and chemical properties, including fifteen lanthanide elements plus scandium and yttrium (IUPAC, 2005). Although they receive the designation of rare, these elements are naturally present in the environment, with the exception of promethium (Biroschi et al., 2012). The abundance of some REEs are almost the same as environmentally much more studied elements, such as Cu and Zn; the most scarce REEs, Lu and Tm are actually more abundant in the Earth's crust than Cd and Se (Tyler, 2004). Currently, the REEs have a high commercial value and have been widely used in high-tech industry, in which some major uses include automotive catalytic converters, fluid cracking catalysts in petroleum refining, phosphors in flat panel displays, permanent magnets and rechargeable batteries for hybrid and electric vehicles, generators for wind turbines, space-based satellites, and numerous medical devices (Humphries, 2012; Long et al., 2010). In addition, REEs have been used in agriculture in China for the last 30 years in order to enhance yield and improve crop quality (Liu et al., 2012a; Wang et al. 2012; Zeng et al., 2006). In fact, China was the first country in the world to use commercial REE-fertilizers applied to crops, and it is estimated that the area of REE-fertilizer application accounts for about 5% of the total agricultural land in this country (Hu et al. 2004; Wang et al., 2008). In recent years, agricultural use of REE-fertilizers has extended to countries such as Korea, Japan, Australia, Switzerland, and the Philippines (Redling, 2006; Wang et al., 2008). However, the effects of REEs on plant development remain contradictory and obscure (Liu et al., 2013; Thomas et al., 2014).

Many of the contradictions found relating the effects of REEs on plant growth are due to different vegetative growth stages measured, the different concentrations applied, and also due to the hormesis effect, which is defined as a

phenomenon in which low doses of an otherwise harmful agent can result in stimulatory or beneficial effects (Calabrese and Baldwin 2003). However, the hormesis effect has not been well elucidated (Xia et al., 2013). Faced with this situation, in the description of this phenomenon related with the different doses it is important to know the correct determination of positive and harmful effects of La, as well as the concentration limits between these contrasting situations. Moreover, studies reporting these limits for desirable and harmful plant La concentrations are scarce (Liu et al., 2013). Another variable that may contribute to a better understanding of plant growth is the mitotic index, which is important in order to determine the root growth rate due to cell proliferation, given that this variable is directly correlated to cell division frequency (D'Aquino et al., 2009), and therefore essential for elucidating the effects of La on plant growth and development.

Our study attempts to explain and understand this effect by using yet little-explored endpoints, such as mitotic index and cell cycle abnormalities, along with conventional evaluation of plant growth and development, as well as physiological and elemental characteristics. This research focus on evaluating the bioaccumulation and La effects on growth and mitotic index in soybean plants because: i) it is economically important and grown throughout Brazil; ii) it is widely consumed in the world (Yang et al., 2014); and, iii) it receives large application rates of phosphate fertilizers, especially in tropical countries like Brazil, which may introduce considerable levels of REEs into the soil (Turra et al., 2011).

2. Material and methods

2.1 Plant materials and experimental design

Seeds of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) cv. BRSMG760SRR were sown in a vermiculite substrate, grown in a greenhouse, and watered daily with

double-distilled water. The 14-day-old young seedlings were transplanted to 2-L pots containing Hoagland nutrient solution (Hoagland and Arnon, 1950) with 50% ionic strength. After one week of transplantation, these plants were exposed to the nutrient solution containing La treatments ($\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). The nutrient solution was changed once each week. Throughout the experimental period, the nutrient solution underwent constant aeration, and pH was monitored and adjusted to 6.0 ± 0.2 by addition of 0.1M NaOH or HCl.

In order to avoid precipitation of La with P in the nutritive solution, a La stock solution was prepared in complexed form, as chelate (La-EDTA). Such procedure is necessary to keep La available for root uptake in a free form, i.e., it protects La against precipitation reactions with phosphate ions in the Hoagland solution.

The following seven concentrations of La were used 0, 5, 10, 20, 40, 80, and 160 μM . After 28 days of La treatment, a total of 28 plants (7 La treatments and 4 replicates) were harvested individually, and roots and shoots were washed under deionized running water, and dried in a forced-air drying oven at 60°C until constant mass.

2.2 Analysis of La and nutrient levels

For La analyses, roots and shoots (approximately 0.100 g) were fused with 1.4 g of lithium metaborate in a platinum crucible at 1000°C in a fusion machine (Fluxer BIS, Claisse, Québec, Canada). After cooling, the resulting beads were dissolved in beakers containing approximately 50 mL of a 2.5% solution of tartaric acid and 10% HNO_3 . Each beaker was then transferred to a hot plate at $120 \pm 20^\circ\text{C}$ with magnetic stirring for complete solubilization. Samples were next transferred to 100 mL polypropylene volumetric flasks and the volume completed with 2.5% tartaric acid solution and 10% HNO_3 . A

certified reference material (Aquatic Plant-BCR670®, Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM, Geel, Belgium) was included for quality control. Blank and certified reference samples were analyzed along with every batch of fusion. La content in extracts was determined by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) (Model NexION 300D, Perkin Elmer, Waltham, MA, USA).

For macro and micronutrient analyses, dried tissues (500 mg) were weighed and acid-digested with 4.0 mL of concentrated HNO₃ + 2.0 mL of concentrated HClO₄ (Sigma–Aldrich, Saint Louis, MO, USA) at 120±8°C for 1 h and then at 220±8°C until HClO₄ fumes were observed. Total Ca, Mg, S, K, Cu, Fe, Mn, Fe, and Zn contents in the samples were determined using an atomic absorption spectrophotometer (PerkinElmer, San Jose, CA, USA), and total S and P contents in the sample was determined using a turbidimetry of barium sulfate and using a spectrophotometer to measure a phospho-molybdenum complex colorimetrically at 680 nm, respectively (Malavolta et al., 1997).

2.3 Gas exchange analysis

The gas exchange characteristics were analyzed before harvest, using an infrared gas-exchange analyzer - IRGA (Li-6400, Li-Cor, Lincoln, NE, USA). The stomatal conductance (g_s), transpiration rate (E) and photosynthetic rate (A) were measured as follows: in four replicates per La treatment, we selected three fully expanded leaves at 9 a.m., and the density of the photosynthetically active photon flux was fixed in the device chamber at 1,000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

2.4 Chlorophyll content

For evaluation of chlorophyll content five fully expanded leaves were taken at random. Total and *a* and *b* chlorophyll were extracted from samples and quantified using 200 mg of plant material that was macerated with 10 mL of

80% acetone (v/v). Subsequently, the extracts were filtered through fiberglass, completing the volume to 20 mL with 80% acetone. A spectrophotometer (Epoch spectrophotometer, Biotek, Winooski, VT, USA) was used at two wavelengths (663 and 645 nm) for maximum absorption of chlorophyll *a* and *b*, respectively. Chlorophyll concentrations were calculated using the extinction coefficients and equation given by Arnon (1949).

2.5 Mitotic analysis

The root tips were fixed in Carnoy solution (3:1 v/v, ethanol-glacial acetic acid) and hydrolysed in 1 M of HCl at 60°C for 10 min, followed by squashing in a 1.5% propionic carmine stain in 45% acetic acid (Aksoy and Deveci, 2012). Slides were examined immediately. Approximately 1,000 cells were counted for each of the La treatments. Five replicates were made for each La concentration applied. The analyses were performed under a microscope (Carl Zeiss Axio Imager. Z1, Germany), and images were captured with a camera (Carl Zeiss Axio Cam ICc, Germany) coupled to the microscope using the image analysis software, MTB2004, version 1.0.x (Carl Zeiss, Germany). Abnormalities were evaluated in the mitotic cell cycle. The mitotic index (MI) was estimated by the following equation: $MI = [(number\ of\ dividing\ cells / total\ cells\ observed)]$.

2.6 TEM analysis

Root and leaf samples were fixed and analyzed in a transmission electron microscope (TEM), as described by Alves et al. (2012). Briefly, the samples were fixed for 24 h at 4°C in 2.5% (v/v) glutaraldehyde in 0.1 M phosphate buffer solution (pH 7.3) and postfixed in 1% (w/v) aqueous osmium tetroxide for 3 h. Samples were dehydrated in a 50-100% ethanol series and finally embedded in Spurr resin. Ultrathin sections of 70 nm thickness were cut

using an Ultracut ultramicrotome (GmbH, Reichert-Jung, Heidelberg, Germany) equipped with a diamond knife. The ultrathin sections were then stained with uranyl acetate and lead citrate, and the subcellular distribution of La and the changes of the ultrastructure were observed using TEM (Zeiss EM 109 TEM, Carl Zeiss, Oberkochen, Germany).

2.7 Mapping the distribution of La in the root and leaf tissues by SEM/EDS

To analyze the La cytolocalization in the roots and leaves, samples were prepared for scanning electron microscopy/energy dispersive X-ray spectroscopy - (SEM/EDS) using the protocol proposed by Alves et al. (2012), with slight modifications. Root and leaf fragments were collected from each plant and subsequently immersed in a fixing solution (Karnovsky solution modified with 0.1 M potassium phosphate buffer of pH 7.2), for 24 hours. The samples then were transferred to a cryoprotectant solution (30% glycerol) for 30 min, and cross-sections were prepared in liquid nitrogen (allowing the inside of the leaf blade to be analyzed). The sections were next dehydrated with an acetone series (25, 50, 75 and 90% for 10 minutes each and 3 times at 100% for 10 minutes each) and transferred to a critical point dryer (CPD – 030; Bal-Tec, Fuerstentum, Liechtenstein). The specimens were then mounted onto aluminum stubs using double-sided carbon tape placed on a sheet of aluminum. The samples were coated with a carbon film and then analyzed using a LEO EVO 40XVP SEM (LEO Evo 40 XVP SEM; Carl Zeiss AG, Oberkochen, Germany) with energy dispersive X-ray spectroscopy (EDS) (X-flash-sdd-5010; Bruker, Germany).

2.8 Data analysis

All results were analyzed using analysis of variance (ANOVA) and submitted to regression analyses at a 0.05 significance level of probability, using

the statistical software Sisvar 5.3 (Build 77) (Ferreira, 2011), and the graphs were made in the Sigma Plot Programme (version 12.5, Systat Software, Chicago, IL, USA).

3. Results

3.1 La content recoveries and bioaccumulation in soybean plants

The mean La concentration in the standard reference material was $483 \pm 0.15 \mu\text{g kg}^{-1}$ ($n = 5$), and the value of certified material BCR® 670 - Aquatic Plant (IRMM, Geel, Belgium) is $487 \mu\text{g kg}^{-1}$. Thus, the recoveries in the certified samples (mean recovery = 99.1%) show a reliable analytical data accuracy for La analysis.

The La content in the soybean roots and shoots increased significantly when plants were exposed to increasing concentrations of La (Fig. 1A and B). At the highest La concentration applied we observed 3831 and $63 \mu\text{g La g}^{-1}$ DW in roots and shoots, respectively. Figure 1C shows that La translocation was low from roots to shoots in soybean plants. In general, less than 3% was translocated from roots to shoots.

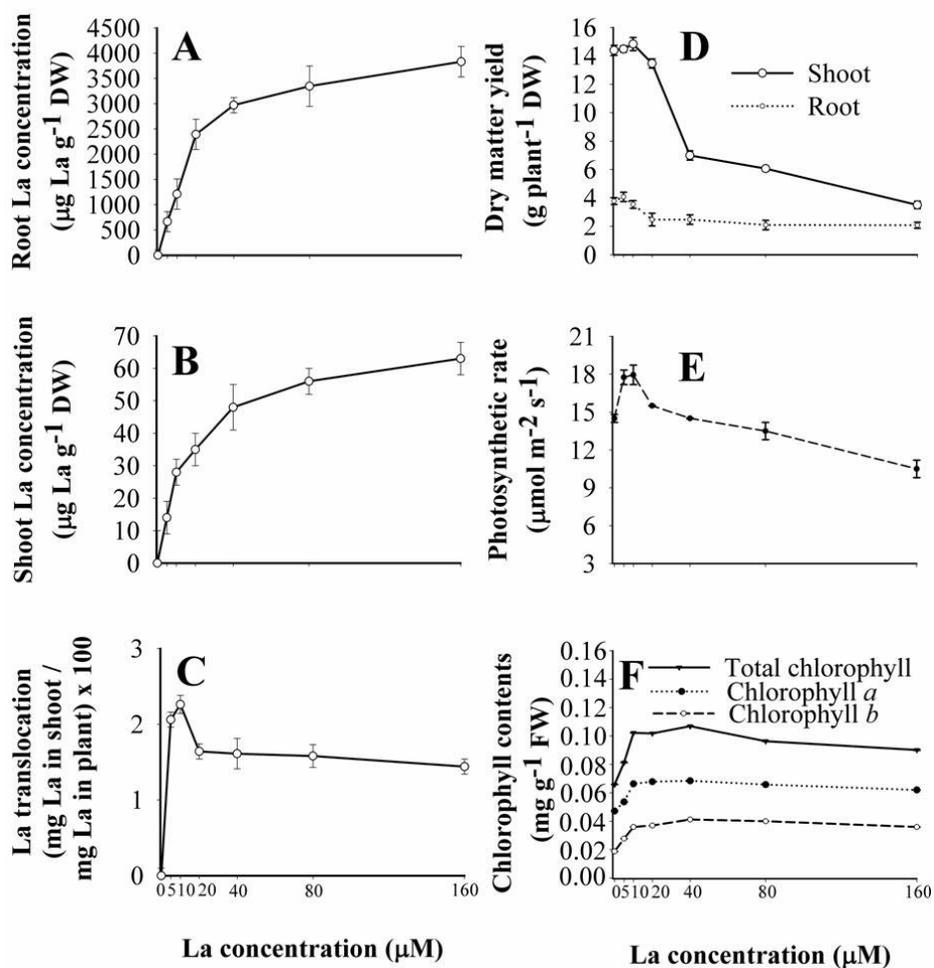


Fig. 1. Concentration of La in root (A) and shoot tissues (B), La translocation from roots to shoot (C), shoot and root dry matter yield (D), photosynthetic rate (E) and chlorophyll contents (F) in soybean plants exposed to increasing concentrations of La. Error bars indicate standard error of the mean ($n = 4$)

3.2 Effect of La on growth of soybean plants

Fig. 1D summarizes the effects of La concentration on soybean plants growth. We found that root biomass had a slight increase at 5 μM of La when compared with non-treated plants, due to the increase on length and volume of

roots. Starting at 20 μM of La a reduction in root volume and thickness was observed. The shoot biomass was unchanged at 5 μM of La in nutrient solution, and had a slight increase of 3% at 10 μM . A decrease in shoot biomass production of soybean plants was observed starting at 20 μM of La.

In our experiment, 20 μM of La in nutritive solution provided a lower number of leaves in soybean plants. Starting at this concentration, the reduction of shoot biomass production could be attributed to both the decrease in leaf number and also the smaller size of the leaves, thus, reducing the weight of the shoot as a whole.

3.3 Effect of La on photosynthetic rate and chlorophyll content

The effects of increasing La concentrations on photosynthesis, i.e., the photosynthetic rate and the chlorophyll content, varied according to the La concentration. An increase of 23% in the photosynthetic rate was observed in the lowest concentrations of La applied (5 and 10 μM) (Fig. 1E). Also, this effect was observed in the total chlorophyll content (Fig. 1F). However, starting at 20 μM of La the chlorophyll content remained unchanged and the photosynthetic rate decreased (Fig. 1E-F). Thus, maintaining the chlorophyll content was not enough to sustain the photosynthetic rate in soybean plants evaluated in this experiment. There was also a high degree of correlation (Pearson $R= 0.91$, $*P < 0.05$) between the decrease of photosynthetic rate and shoot biomass production. These results indicated that a greater photosynthetic rate found for low concentrations of La (5 and 10 μM), along with the increase in chlorophyll content, allowed a greater production of photoassimilates, which might be invested in increased biomass production.

3.4 Effect of La on nutrients levels

The effects of La application on nutrient accumulation in soybean roots and shoots are shown in Table 1. The levels of Mg, Ca, P, K and Mn in roots and shoots were significantly increased by La application in nutritive solution. In contrast, the Cu and Fe accumulation in roots and shoots showed a decrease when plants were exposed to increasing doses of La. No significant differences in S contents were observed between La-treated and non-treated plants at the La concentrations applied.

Table 1 Nutrient accumulation in roots and shoots of soybean exposed to increasing concentrations of La.

Nutrients	Nutrient accumulation in roots for each La concentration (μM)						
	0	5	10	20	40	80	160
Mg(mg g^{-1} DW)	4.00 \pm 0.08 ^f	5.25 \pm 0.15 ^e	6.25 \pm 0.19 ^d	6.50 \pm 0.09 ^d	10.00 \pm 0.02 ^c	18.00 \pm 0.12 ^b	19.00 \pm 0.02 ^a
Ca (mg g^{-1} DW)	9.75 \pm 0.05 ^f	10.75 \pm 0.05 ^e	11.75 \pm 0.17 ^d	12.75 \pm 0.16 ^c	12.25 \pm 0.16 ^c	13.75 \pm 0.33 ^b	17.00 \pm 0.61 ^a
P (mg g^{-1} DW)	5.50 \pm 0.07 ^e	5.50 \pm 0.08 ^e	5.75 \pm 0.19 ^c	7.24 \pm 0.05 ^d	9.50 \pm 0.25 ^c	10.50 \pm 0.09 ^b	13.00 \pm 0.04 ^a
S (mg g^{-1} DW)	2.65 \pm 0.05 ^a	2.65 \pm 0.07 ^a	2.75 \pm 0.02 ^a	2.50 \pm 0.04 ^c	2.50 \pm 0.04 ^c	2.65 \pm 0.03 ^b	2.75 \pm 0.01 ^a
K (mg g^{-1} DW)	27.00 \pm 0.06 ^e	26.90 \pm 0.07 ^e	27.00 \pm 0.08 ^e	27.75 \pm 0.08 ^d	29.50 \pm 0.10 ^c	31.25 \pm 0.10 ^b	36.50 \pm 0.03 ^a
Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$ DW)	7.50 \pm 0.05 ^b	7.75 \pm 0.13 ^a	6.25 \pm 0.34 ^c	3.75 \pm 0.13 ^d	3.75 \pm 0.17 ^d	2.75 \pm 0.08 ^e	1.50 \pm 0.06 ^f
Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$ DW)	77.00 \pm 2.63 ^d	118.25 \pm 3.67 ^c	153.25 \pm 5.63 ^b	150.75 \pm 1.69 ^b	195.00 \pm 1.79 ^a	197.50 \pm 1.37 ^a	194.00 \pm 0.58 ^a
Fe ($\mu\text{g g}^{-1}$ DW)	587.00 \pm 1.00 ^a	531.75 \pm 8.21 ^b	534.50 \pm 9.21 ^b	340.75 \pm 15.15 ^c	288.75 \pm 2.98 ^d	281.25 \pm 7.72 ^d	289.50 \pm 2.02 ^d
Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$ DW)	11.50 \pm 0.28 ^e	12.50 \pm 0.08 ^d	14.00 \pm 0.69 ^c	14.50 \pm 0.26 ^c	16.75 \pm 0.46 ^b	17.50 \pm 0.24 ^a	14.50 \pm 0.06 ^c

Nutrients	Nutrient accumulation in shoots for each La concentration (μM)						
	0	5	10	20	40	80	160
Mg(mg g^{-1} DW)	3.00 \pm 0.02 ^d	3.00 \pm 0.01 ^d	3.00 \pm 0.07 ^d	3.75 \pm 0.02 ^c	3.75 \pm 0.04 ^c	4.75 \pm 0.08 ^b	5.50 \pm 0.05 ^a
Ca (mg g^{-1} DW)	5.50 \pm 0.07 ^d	5.75 \pm 0.03 ^c	5.80 \pm 0.08 ^c	5.90 \pm 0.13 ^c	6.25 \pm 0.03 ^b	6.50 \pm 0.05 ^a	6.50 \pm 0.02 ^a
P (mg g^{-1} DW)	3.25 \pm 0.03 ^g	3.75 \pm 0.02 ^f	4.50 \pm 0.08 ^e	5.00 \pm 0.08 ^d	9.25 \pm 0.15 ^c	10.00 \pm 0.19 ^b	11.50 \pm 0.03 ^a
S (mg g^{-1} DW)	2.25 \pm 0.04 ^b	2.25 \pm 0.02 ^b	2.25 \pm 0.05 ^b	2.00 \pm 0.02 ^d	2.00 \pm 0.02 ^d	2.25 \pm 0.03 ^c	2.75 \pm 0.01 ^a
K (mg g^{-1} DW)	21.75 \pm 0.21 ^c	22.75 \pm 0.18 ^c	26.00 \pm 0.08 ^a	26.50 \pm 0.26 ^a	27.75 \pm 0.16 ^a	25.50 \pm 0.52 ^a	27.75 \pm 0.83 ^a
Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$ DW)	2.25 \pm 0.05 ^b	2.50 \pm 0.06 ^a	1.50 \pm 0.05 ^c	1.00 \pm 0.02 ^d	0.75 \pm 0.02 ^e	0.50 \pm 0.03 ^f	0.00 \pm 0.02 ^g
Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$ DW)	55.50 \pm 0.86 ^d	65.00 \pm 0.86 ^c	64.50 \pm 1.60 ^c	64.25 \pm 0.57 ^c	64.75 \pm 0.40 ^c	81.00 \pm 1.33 ^b	118.50 \pm 1.92 ^a
Fe ($\mu\text{g g}^{-1}$ DW)	109.50 \pm 1.89 ^e	122.75 \pm 1.71 ^b	141.75 \pm 6.15 ^a	107.50 \pm 1.09 ^c	94.25 \pm 0.57 ^d	70.00 \pm 2.74 ^e	79.00 \pm 8.54 ^d
Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$ DW)	8.25 \pm 0.08 ^d	9.75 \pm 0.09 ^b	11.00 \pm 0.41 ^a	9.00 \pm 0.12 ^c	8.25 \pm 0.10 ^d	8.75 \pm 0.21 ^c	8.00 \pm 0.03 ^d

Different letters in the rows indicate significant differences ($p < 0.05$) according to the Scott-Knott's test. (DW: dry weight; \pm : standard error of the mean)

3.5 TEM analysis and mapping the distribution of La in soybean tissues by SEM/EDS

TEM images of ultrastructural modifications in soybean root and leaf cells with La deposition in the cell wall and deformation in the cell structure are shown in Figure 2. Cell wall integrity and absence of La in roots and leaves was observed in the control treatment (Fig. 2A and D). In contrast, when soybean plants were exposed to 160 μ M of La, La depositions were found in root and leaf cell walls (Fig. 2B, C, E, and F). This fact probably favored the deformation of this structure, both in the roots and in the leaves. Moreover, a La deposition in all cell types, including the mechanical protection cells, support cells, and conducting cells in both the roots and the leaves of soybean was observed (Fig. 3). The most expressed La deposition was in the cell wall and also in the crystals dispersed in the root cortex and in the mesophyll (Fig. 3 B-C and E-F). The amount of La in isolated crystals quantified by EDS analysis was 14 and 3.5% for the root cortex and the mesophyll, respectively (Fig. 3G-H and Table 2).

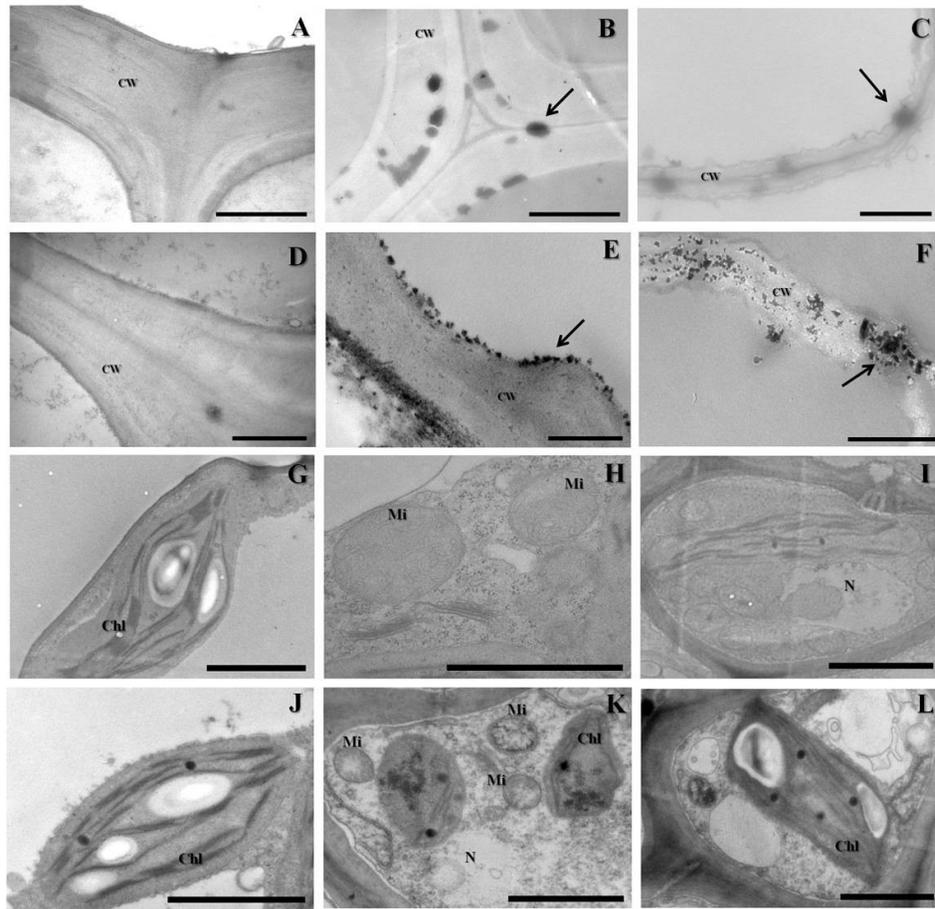


Fig. 2. Subcellular distribution of La in soybean root and leaf, and effect of La on the cell wall. A and D: Root and leaf cell of control treatment, respectively – showing no La deposition on the CW and the regular CW format; B and C, E and F: Root and leaf cell exposed to 160 μ M of La, respectively – showing La accumulation in the CW and the irregular CW format; G-I: normal organelles in the control treatment; J-L: organelles with damaged structures at 160 μ M of La. (CW: Cell Wall; \rightarrow the arrows indicate La accumulation; Chl: chloroplasts; Mi: mitochondria; N: nucleus). Scale bar = 2 μ m

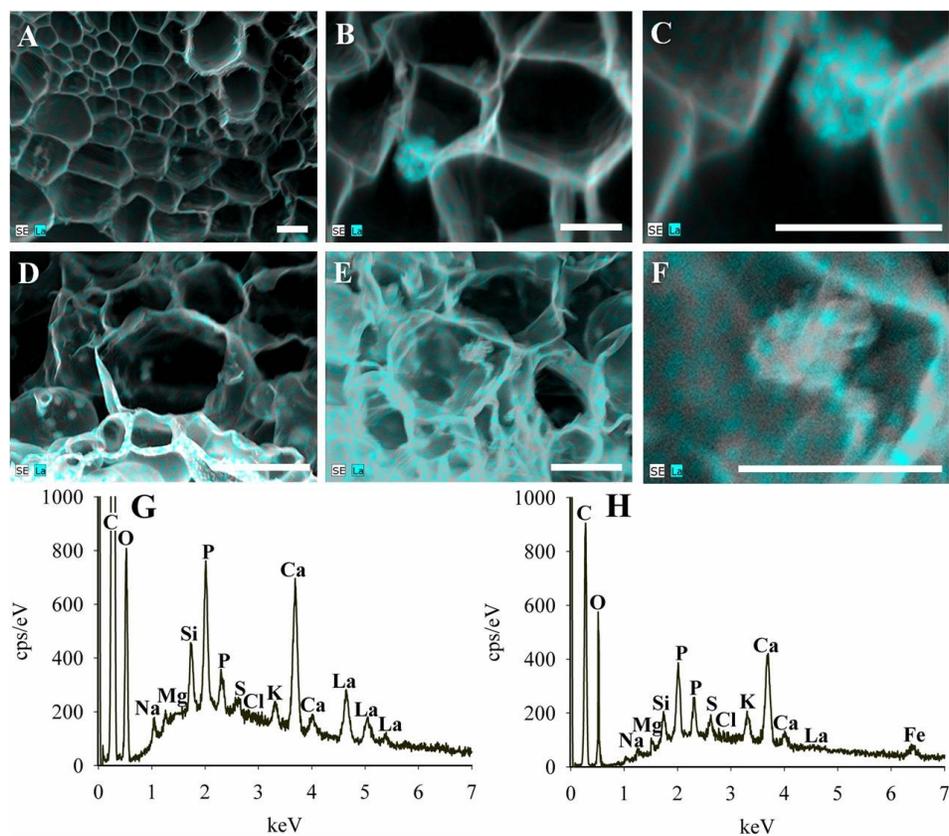


Fig. 3. Lanthanum distribution mapping by SEM/EDS and energy-dispersive X-ray microanalysis in the root and leaf tissues of soybean plants exposed to La. A-C: La deposition on root tissue; D-F: La deposition on leaf tissue; C: detail of La deposition in root cortex crystal; F: detail of La deposition in mesophyll crystal; G and H: Energy-dispersive X-ray microanalysis of crystals in the root cortex and mesophyll, respectively. Scale bar = 20 μm

Table 2 Elemental composition of crystals observed in root cortex and mesophyll of soybean plants exposed to increasing concentrations of La, as estimated by EDS. The value for carbon is omitted because of background signals from carbon tape and carbon coating. (n=15)

Element	% in root cortex crystal	% in mesophyll crystal
Oxygen	43.6	40.4
Lanthanum	14.3	3.5
Calcium	11.5	30.1
Phosphorus	11.0	9.2
Silicon	4.5	0.4
Sodium	3.7	0.0
Sulfur	3.8	4.6
Magnesium	3.6	0.0
Potassium	3.1	6.1
Chlorine	0.9	2.6
Iron	0.0	3.1
Σ	100	100

Ultrastructural modifications were found in chloroplasts and mitochondrias at the highest La concentration applied (Fig. 2J–L). The chloroplasts lost their original format (ellipsoidal shape) and the thylakoids were also modified, presenting a disorganized arrangement, when compared with the control treatment (Fig 2G, J-L). The present study also shows modifications in the globular configuration of mitochondrias. Moreover, the number of mitochondrial cristae and the electron density of mithochondrial matrix were reduced, promoting a larger intermembrane space (Fig. 2H and K). Nuclear membrane damage was also observed (Fig. 2I, K-L).

3.6 Mitotic index

Due to the relevance of evaluating the effects of La on plant growth, along with the scarcity of REE effects on the mitotic index (MI), in the present study we evaluate the MI of roots in response to La treatment. We found that La

treatment promoted significant increase in MI of roots when compared with the control treatment (Fig. 4A). Soybean plants exposed to La concentrations varying from 20 to 160 μM showed a significant presence of c-metaphases (Fig. 4B-C). This fact probably contributed to root growth reduction. Also, exposure to La promoted the appearance of binucleate cells (Fig. 4B and D), indicating that polyploidization events can exist, which may explain the slight root and shoot growth increase at low La concentrations. The highest presence of this mitotic figure was found at 20 μM of La (Fig. 4B). These results indicate that alteration of cell division following La treatment may exert a direct effect on plant growth.

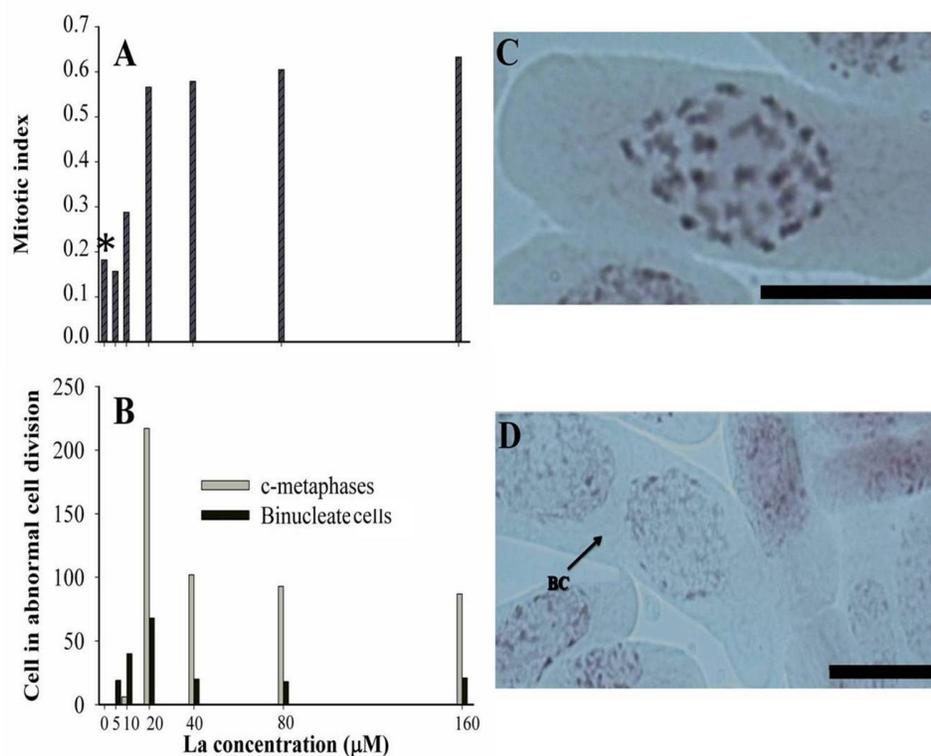


Fig. 4. Mitotic index (A), cells in abnormal cell division (B), c-metaphases (C), and binucleate cells (D) in roots of soybean plants exposed to increasing concentrations of La. (BC: Binucleate cells; *Control treatment). Scale bar = 20 μm

4. Discussion

Soybean is widely consumed in the world, and encompasses several products to feed humans and animals. Moreover, La is added to soils either intentionally or accidentally via many point or diffuse sources (e.g., agricultural inputs). Thus, a better understanding of the capacity of soybean to accumulate La and the effects of this element on growth is key. Moreover, the effects of REEs in agricultural crops are still poorly understood (Thomas et al., 2014). Our results revealed that soybean can absorb significant amounts of La from nutrient

solution, but only 3% is translocated from roots to the shoot system. Although few studies have published data on the translocation of La in soybean plants, similar results were reported for vascular plants, which showed low concentration of REEs in shoots (Hu et al., 2002; Thomas et al., 2014; Tyler, 2004; Wang et al., 2011). In the present study, an increase of 3 and 8% in soybean root and shoot growth, respectively, at low concentrations of La (Fig. 1D) was observed. In contrast negative effects on soybean growth at the highest La concentrations applied were found. These results are a typical biphasic concentration-response relationship, as reported by Ma et al. (2010). These findings confirm data from studies showing that La application at low levels could increase biomass and also the photosynthetic rate (Chen et al., 2001; Liang et al., 2008; Xia et al., 2013). In a previous study (Liu et al., 2012a) observed that 1.0 mM inhibited rice growth, while 0.1 mM of this element showed a stimulatory effect on growth. Huang et al. (2013) observed that La concentration up to 80 μ M improved root growth and biomass production of soybean seedlings.

Overall, the results observed in this study are a typical hormesis effect response (Calabrese and Baldwin, 2003). Liu et al. (2013) observed the hormesis effect of La on nutrient accumulation and plant growth of rice seedlings. This study indicated that La promoted the growth of rice roots at 0.05 mM, but inhibited the growth at 1.0 and 1.5 mM La after 13 days of exposure. Our study showed that at 5 μ M of La, the root biomass was stimulated due to increased length and volume of roots (Fig. 1D). This may be related to the fact that a low La concentration induces a higher incidence of binucleate cells, without however, promoting the emergence of chromosomal abnormalities that block cellular division, as in the c-metaphase. This increase of binucleate cells verified under low La concentrations (Fig. 4B and D) may cause an increase in root tissue due to increased size of the cells (gigas effects) that have doubled their

genome (polyploidy) (Fig. 1D and 4D). On the other hand, the presence of mitotic figures, which represent abnormalities on cell division, is a decisive factor related to root formation and elongation, negatively influencing root biomass. It was also observed that the presence of abnormalities, such as c-metaphases (Fig. 4C), promoted the lower development of meristematic tissue in roots, which is responsible for the formation of this organ. The incidence of c-metaphases in soybean was higher at 20 μM , indicating that La has a negative effect on the mitotic spindle. C-metaphases can lead to stoppage of the cell cycle in the metaphase, because division of sister chromatids or division of the nucleus will not occur (Monteiro et al., 2012). Thus, there is a blockage of the normal cell division sequence of these cells.

D'Aquino et al. (2009) studied the effect of La on mitotic index in *Triticum durum* and observed a reduction of root length and a decrease of mitotic index in root tissues when 10 μM of La was tested. Our study showed that the mitotic index has increased upon increasing La concentration in nutritive solution (Fig. 4A), contradicting the data found by d'Aquino et al. (2009). However, even though the cell division increase, as indicated by increased mitotic index, the occurrence of abnormalities affected root growth adversely. Thus, in the present study, the presence of c-metaphases, which was more pronounced starting at 20 μM (Fig. 4B-C), negatively affected the root biomass, contradicting the higher biomass of roots found at lowest La concentration (5 μM). This indicates the typical hormesis effect of this element on the root biomass. The presence of such abnormalities is related to the smaller root volume, and the formation of thinner roots with shorter length, which caused lower root biomass production.

As previously mentioned, the slight increase in shoot biomass at 10 μM of La (Fig. 1D) is assigned to the hormesis effect. This result is also correlated with the photosynthetic rate increase found at this concentration (Fig. 1E),

enabling greater production of photoassimilates intended for plant growth. At 10 μM the chlorophyll content in soybean plants was also higher (Fig. 1F), and this is another factor that contributed to the photosynthetic rate increase at this concentration.

To investigate whether exposure of soybean plants to La concentration influenced the nutrient balance, the macronutrient and micronutrient levels were investigated. The content of Fe and Cu for both root and shoot, and the Zn content for the shoot decreased from the concentration of 20 μM (Table 1), at which there was also a decrease in the photosynthetic rate and, consequently, of shoot biomass. Feng et al. (2012) reported that low levels of Cu and Zn in *Amomum villosum* caused decreased light-saturated photosynthetic rate and chlorophyll and soluble protein contents, thus decreasing the biomass. Liu et al. (2012b) reported that both Cu and Fe contents decreased at higher La concentrations, also leading to a decrease in photosynthetic activity and rice biomass production. Probably, the higher La concentration applied promoted a lower Fe and Cu translocation to shoots, damaging the photosynthetic process. This decrease in Fe content affects the heme and chlorophyll biosynthesis, whereas this nutrient controls the formation rate of aminolevulinic acid, a common precursor of these metabolic pathways (Cakmak et al., 2010). The reduction in Cu content is related with the plastocyanin concentration and, thus, the PS I activity and the lower quinone synthesis rate, which results in lower PS II activity and electron transport between the two photosystems (Cakmak et al., 2010). Moreover, Zn is also an enzyme cofactor required in the metabolic pathways involved in the photosynthetic process (Hänsch and Mendel, 2009).

In the present study, the shoot biomass reduction could be attributed to both the decrease in leaf number and also the smaller size of the leaves. However, the chlorophyll content has been maintained (Fig. 1F), which contributed for attenuating the decrease in the photosynthetic rate. On the other

hand, the Mg content in roots and the shoots increased in response to La treatment (Table 1). Since Mg is the central atom of the chlorophyll molecule, the greater amount of this element may have contributed to the maintenance of the photosynthetic pigment content at higher La concentrations. Furthermore, as P levels also increased in shoots (Table 1) it may have contributed to the maintenance of the chlorophyll content at higher concentrations of La. Phosphorus is required for formation of ATP, i.e., the energy required for metabolic processes such as chlorophyll biosynthesis. Our results (Fig. 1F) contradict data presented by Xu et al. (2012), who reported a decrease in the content of chlorophyll *a* and *b* in *Hydrocharis dubia*, when exposed to 160 μM of La (Xu et al., 2012).

Our data showed also that La application in nutrient solution substantially increased the levels of K and Mn, both in roots and shoots of soybean plants (Table 1). These results reflect a synergistic instead of antagonistic relationship between these elements, agreeing with studies of Liu et al. (2013), who showed that La application could promote the accumulation of K and Mn in plants (Liu et al., 2013). The increased levels of these elements probably contribute to a metabolic process maintenance, since they are involved in the osmotic control process, as in the case of K, which allows the opening of the stomata responsible for CO_2 assimilation, thus contributing to the photosynthetic process, and as an enzyme cofactor, such as Mn.

As mentioned before, the results presented here reveal that roots accumulated sixty-fold more La than shoots (Fig. 1A-C), and the crystals present in the roots showed 14% La in their constitution, whereas those in the mesophyll contained only 3.5% La (Table 2). The low La translocation from roots to shoots probably is due to the soybean roots retaining a greater amount of this element in the tissues, via thickening of the apoplastic barriers. Also, much more La accumulates in the root as crystals, which are metabolically inactive. Therefore,

soybean plants tolerate a greater retention of this element is in this organ. Moreover, the fact that the roots have higher levels of La when compared to the shoots (Fig. 1A-B) is due to the fact that the root is the organ that is in direct contact with this element available in the nutrient solution. Our results are consistent with other results that considered roots as a barrier for the translocation of some rare earth elements (Gao et al., 2003; Hu et al., 2002; Liang et al., 2008).

Transmission electronic microscopy showed electron opaque deposits in the cell wall, which caused a dark appearance in this ultrastructure. Our results are in agreement with those of Xu et al. (2012), who observed electron opaque formation in *Hydrocharis dubia*. Furthermore, at 160 μM of La an irregular distribution of the cell wall was found. Similar is reported by Liu et al. (2013) for rice plants. Although the La deposition occurred in all cell types in soybean roots and leaves, the more intense deposition was found in cell walls, and especially in crystals dispersed in the root cortex and mesophyll (Fig. 2 and 3). There were also ultrastructural changes in chloroplasts and mitochondrias that lost their original format, which may be due to La causing membrane damage. Probably, the lipid peroxidation promoted by La directly affected the membranes of organelles. Wang et al. (2007) found that La induced oxidative stress by decreasing the activities of antioxidant enzymes, such as superoxide dismutase and catalase, as well as by stimulating reactive oxygen species production, resulting in lipid peroxidation in *Hydrilla verticillata*.

In our experiment, La treatment resulted in an increased level of Ca for both roots and shoots (Table 1). This is consistent with the results of Xie et al (2002), who found an increase of Ca in root and grain of rice at low La concentration. On the other hand, our data disagree with that of Xu et al. (2012), who reported that La application decreased the Ca uptake in *Hydrocharis dubia*. Due to the fact that La and Ca are chemically and physically similar, with

similar ionic radii (0.110 and 0.099 nm, respectively) (Hu et al., 2004; Xie et al., 2002), the mode of action of these elements is similar in plants, leading to competition and replacement of Ca by La, since these elements might operate at the same sites. In general, this replacement will promote modifications and structural disorders such as those found in soybean cell walls at a high concentration of La (Fig. 2C, E-F). However, if Ca is replaced structurally by La, it can promote the cell wall disruption and loss of structure of the middle lamella (Fig. 2C, E-F). This fact is caused by the change in orientation of the microfibrils, since their function in the plant cell wall is to covalently bind the pectins, giving rise to calcium pectate, which is responsible for structuring the cell wall. The results of energy-dispersive X-ray microanalysis indicate that La can be absorbed into plant cells and bound to the cell walls and protoplasm, chloroplast, mitochondrion, and cytoplasm membranes, replacing Ca in the case of cell walls and in calcium oxalate crystals. Therefore, the more intense La deposition found in the crystals in this study indicates that this is one way of immobilizing this element, causing it to become metabolically inactive, protecting and maintaining the metabolic processes. In this case, these crystals would be acting as a relatively simple model system for biomineralisation processes, working as sinks for these elements and taking an important biological role in their regulation.

5. Conclusions

Considering the results of this study, it could be concluded that, depending on the La concentration in the nutritive solution, it led to biphasic responses, such as hormesis effects: at low concentration (5 μM and 10 μM) a slight increase of roots and shoots were observed together with the stimulation of photosynthetic rate and in total chlorophyll content as well as a higher incidence of binuclear cells; whereas at higher levels it reduced growth, caused

ultrastructural modifications in cell wall and thylakoids and the chloroplasts lost their original format. Furthermore, we found the occurrence of c-metaphases. This study also proved that roots of soybean plant can accumulate sixty-fold more La than shoots. For both roots and shoots, exposure to increasing concentrations of La resulted in increased contents of some essential nutrients (i.e., Ca, P, K, and Mn), while the contents of Cu and Fe decreased, and S content remained unchanged. This study provides important information in terms of the effects in the plant and the potential use of La for soybean growth. More studies are needed to find additional information on prospective beneficial effects of La on growth of higher plants, and it is suggested that future research focus more carefully on La concentration, mainly using doses of La lower than 10 μ M.

Acknowledgments

This work was financially supported by Vale Institute of Technology in cooperation with the Federal University of Lavras (Grant N° 020/2012) and by the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) and the Minas Gerais State Research Foundation (FAPEMIG), which supported the AgroMetals Research Network.

References

- Aksoy, O., Deveci, A., 2012. The investigation of the cytotoxic effects of some pesticides on soybean (*Glycine max* L.). *Cytologia*. 77, 475–483.
- Alves, E., Lucas, G.C., Pozza, E.A., Alves, M.C., 2012. Scanning Electron Microscopy for fungal sample examination, in: Gupta, V.K., Tuohy, M. (Org.). *Laboratory Protocol in Fungal Biology - Current Methods in Fungi Biology*. 1ed., New York, Springer, pp. 133–150.
- Arnon, D.I., 1949. Cooper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*. 24, 1–15.

- Brioschi, L., Steinmann, M., Lucot, E., Pierret, M.C., Stille, P., Prunier, J., Badot, P.M., 2012. Transfer of rare earth elements (REE) from natural soil to plant systems: implications for the environmental availability of anthropogenic REE. *Plant and Soil*. 366, 143–163.
- Cakmak, I., Pfeiffer, W.H., McClafferty, B., 2010. Biofortification of durum wheat with zinc and iron. *Cereal Chemistry*. 87, 10–20.
- Calabrese, E.J., Baldwin, L.A., 2003. The hormetic dose-response model is more common than the threshold model in toxicology. *Toxicological Sciences*. 71, 246–250.
- Chen, W.J., Tao, Y., Gu, Y.H., Zhao, G.W., 2001. Effect of lanthanide chloride on photosynthesis and dry matter accumulation in Tobacco seedlings. *Biological Trace Element Research*. 79, 169–176.
- d’Aquino, L., Pinto, M.C., Nardi, L., Morgana, M., Tommasi, F., 2009. Effect of some light rare earth elements on seed germination, seedling growth and antioxidant metabolism in *Triticum durum*. *Chemosphere*. 75, 900–905.
- Feng, Y.L., Lei, Y.B., Li, Z., 2012. Micronutrient deficiencies accelerate leaf senescence in *Amomum villosum*. *Botanical Studies*. 53, 345–352.
- Ferreira, D.F., 2011. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*. 35, 1039–1042.
- Gao, Y., Zeng, F., Yi, A., Ping, S., Jing, L., 2003. Research of the entry of rare earth elements Eu^{3+} and La^{3+} into plant cell. *Biological Trace Element Research*. 91, 253–265.
- Hänsch, R., Mendel, R.R., 2009. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Current Opinion in Plant Biology*. 12, 259–266.
- Hoagland, D.R., Arnon, D.I., 1950. The water-culture method for growing plants without soil, circular 347. California Agricultural Experimental Station, California.
- Hu, X., Ding, Z., Chen, Y., Wang, X., Dai, L., 2002. Bioaccumulation of lanthanum and cerium and their effects on the growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Chemosphere*. 48, 621–629.

Hu, Z., Richter, H., Sparovek, G., Schnug, E., 2004. Physiological and biochemical effects of rare earth elements on plants and their agricultural significance: A Review. *Journal of Plant Nutrition*. 27, 183–220.

Huang, G.R., Wang, L.H., Zhou, Q., 2013. Combined effects of lanthanum(III) and elevated ultraviolet-B radiation on root growth and ion absorption in soybean seedlings. *Environmental Science and Pollution Research*. 21, 3621–3633.

Humphries, M. 2012. Rare Earth Elements: The Global Supply Chain. Congressional Research Service Report for Congress. Washington.

IUPAC. 2005. Nomenclature of Inorganic Chemistry, IUPAC Recommendations 2005 (the “Red Book”). Prepared for publication by Connelly, N., Damhus, T., Harshorn R. M., RSC Publishing, Cambridge, UK.

Liang, T., Ding, S., Song, W., Chong, Z., Zhang, C., Li, H., 2008. A review of fractionations of rare earth elements in plants. *Journal of Rare Earths*. 26, 7–15.

Liu, D., Wang, X., Lin, Y., Chen, Z., Xu, H., Wang, L., 2012a. The effects of cerium on the growth and some antioxidant metabolisms in rice seedlings. *Environmental Science and Pollution Research*. 19, 3282–3291.

Liu, D., Lin, Y., Wang, X., 2012b. Effects of lanthanum on growth, element uptake, and oxidative stress in rice seedlings. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 175, 907–911.

Liu, D., Wang, X., Zhang, X., Gao, Z., 2013. Effects of lanthanum on growth and accumulation in roots of rice seedlings. *Plant, Soil and Environment*. 59, 196–200.

Long, K.R., Van Gosen, B.S., Foley, N.K., Cordier, D., 2010. The principal rare earth elements deposits of the United States – a summary of domestic deposits and a global perspective. *Plant Soil U.S. Geological Survey Scientific Investigations Report*. 5220, 1–96.

Ma, Y., Kuang, L., He, X., Bai, W., Ding, Y., Zhang, Z., Zhao, Y., Chai, Z., 2010. Effects of rare earth oxide nanoparticles on root elongation of plants. *Chemosphere*. 78, 273–279.

Malavolta, E, Vitti, G.C., Oliveira, S.A., 1997. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações, second ed. Potafos, Piracicaba.

Monteiro, C., Santos, C., Pinho, S., Oliveira, H., Pedrosa, T., Dias, M.C., 2012. Cadmium-induced cyto- and genotoxicity are organ-dependent in Lettuce. *Chemical Research in Toxicology*. 25, 1423–1434.

Redling, K. **Rare earth elements in agriculture**: with emphasis on animal husbandry. 2006. 326 p. Dissertation (PhD) –Universität München, Munich, 2006.

Thomas, P.J., Carpenter, D., Boutin, C., Allison, J.E., 2014. Rare earth elements (REEs): Effects on germination and growth of selected crop and native plant species. *Chemosphere*. 96, 57–66.

Tyler, G., 2004. Rare earth elements in soil and plant systems – A review. *Plant and Soil*. 267, 191–206.

Turra, C., Fernandes, E.A.N., Bacchi, M.A., 2011. Evaluation on rare earth elements of Brazilian agricultural supplies. *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology*. 3, 86–92.

Wang, X., Shi, G.X., Xu, Q.S., Xu, B.J., Zhao, J., 2007. Lanthanum- and cerium-induced oxidative stress in a submerged *Hydrilla verticillata* plants. *Russian Journal of Plant Physiology*. 54, 693–697.

Wang, Z., Zhang, X., Mu, Y. 2008. Effects of rare-earth fertilizers on the emission of nitrous oxide from agricultural soils in China. *Atmospheric Environment*. 42, 3882–3887.

Wang, C., Lu, X., Tian, Y., Cheng, T., Hu, L., Chen, F., Jiang, C., Wang, X., 2011. Lanthanum resulted in unbalance of nutrient elements and disturbance of cell proliferation cycles in *Vicia faba* L. seedlings. *Biological Trace Element Research*. 143, 1174–1181.

Wang, C., Luo, X., Tian, Y., Xie, Y., Wang, S., Li, Y., Tian, L., Wang, X. 2012. Biphasic effects of lanthanum on *Vicia faba* L. seedlings under cadmium stress, implicating finite antioxidation and potential ecological risk. *Chemosphere*. 86, 530–537.

Xia, C.F., Zhao, J., Jin, J.C., Yuan, L., Chen, X.Y., Peng, W., Jiang, F.L., Qin, C.Q., Dai, J., Liu, Y., 2013. Ce(III)-induced rice mitochondrial permeability transition investigated by spectroscopic and microscopic studies. *Biological Trace Element Research*. 152, 284–291.

Xie, Z.B., Zhu, J.G., Chu, H.Y., Zhang, Y.L., Zeng, Q., Ma, H.L., Cao, Z.H., 2002. Effect of lanthanum on rice production, nutrient uptake, and distribution. *Journal of Plant Nutrition*. 25, 2315–2331.

Xu, Q., Fu, Y., Min, H., Cai, S., Sha, S., Cheng, G., 2012. Laboratory assessment of uptake and toxicity of lanthanum (La) in the leaves of *Hydrocharis dubia* (Bl.) Backer. *Environmental Science and Pollution Research*. 19, 3950–3958.

Yang, Q., Li, Y., Wang, L., Zhou, Q., Huang, X., 2014. Effect of lanthanum(III) on the production of ethylene and reactive oxygen species in soybean seedlings exposed to the enhanced ultraviolet-B radiation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 104, 152–159.

Zeng, Q., Zhu, J.G., Cheng, H.L., Xie, Z.B.; Chu, H.Y., 2006. Phytotoxicity of lanthanum in rice in haplic acrisols and cambisols. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 64, 226–233.

ARTIGO 2

Bioacumulação de samário, gadolínio e neodímio e seus efeitos no crescimento e nutrição em soja (*Glicine max* (L.) Merrill)

A ser submetido no periódico Plant and Soil

ARTIGO FORMATADO DE ACORDO COM NORMAS DO PERIÓDICO PLANT AND SOIL

Bioacumulação de samário, gadolínio e neodímio e seus efeitos no crescimento e nutrição em soja (*Glicine max* (L.) Merrill)

L.C. Coelho ^{a*}, C. Oliveira ^a, S. J. Ramos ^b, V. Faquin^a, Luiz R. G. Guilherme^a

^a*Departamento de Ciência do Solo, Universidade Federal de Lavras, CP 3037, Campus UFLA, Lavras 37200-000, Brasil*

^b*Instituto Vale de Tecnologia– Mineração. 3580 Avenida Ligação, Prédio 4, Nova Lima 34000-000, Brasil*

*Contato da autora: Tel.: +55 35 3829 1251; fax: + 55 35 3829 1251.

E-mail: liviacoelho_6@hotmail.com (L.C.Coelho).

Resumo

Introdução A soja é uma cultura economicamente importante, amplamente consumida no mundo e uma das culturas que mais recebem aplicação de fertilizantes fosfatados, os quais podem conter níveis consideráveis de ETRs. Os objetivos desse estudo foram avaliar em plantas de soja, a bioacumulação e os efeitos do samário (Sm), gadolínio (Gd) e neodímio (Nd) no crescimento e as alterações nutricionais decorrentes do uso desses elementos.

Material e métodos. O estudo envolveu a exposição de plantas de soja, em solução nutritiva a concentrações de Sm, Gd (0; 3,5; 7; 14 e 28 $\mu\text{M L}^{-1}$) e Nd (0, 5, 10, 20 e 40 $\mu\text{M L}^{-1}$).

Resultados Os resultados do experimento demonstraram que a aplicação de Sm, Gd e Nd em solução nutritiva nas doses estudadas, não proporcionaram ganhos de biomassa nas plantas de soja. Maiores teores e acúmulos de ETRs foram observados nas raízes, assim como descrito em literatura para outros elementos terras raras. A aplicação de elementos terras raras (Sm, Gd e Nd) afeta a nutrição de plantas de soja, de forma diferenciada para cada elemento, destacando-se o aumento nos teores e acúmulos de P em toda a planta.

Conclusão Os ganhos em taxa fotossintética e acúmulo de alguns nutrientes não resultaram em um aumento líquido de biomassa, uma vez que o efeito tóxico do Sm, Gd e Nd estão interferindo de forma determinante na construção de biomassa pelas plantas, devido ao estresse promovido por estes elementos. A aplicação de forma isolada de Sm, Gd e Nd em solução nutritiva, apresenta aspectos distintos em função do elemento e da dose estudada.

Palavras-chave: *Glycine max.* Elementos terras raras. Crescimento. Fisiologia. Nutrição.

Introdução

Considerados como recursos críticos para a alta tecnologia, os elementos terras raras ou ETRs, desempenham um papel essencial nos avanços tecnológicos mundiais. Esse é o nome dado a 17 elementos químicos da tabela periódica que engloba os 15 elementos lantanídeos (lantânio-La, a lutécio-Lu) e mais os elementos ítrio (Y) e escândio (Sc), que são assim denominados por apresentarem propriedades físico-químicas e de ocorrência semelhantes (INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY – IUPAC, 2005). Esses atributos conferem aos produtos tecnológicos gerados características desejáveis como leveza, resistência, eficiência energética, entre outros. Assim, os ETRs são mais conhecidos pelos seus produtos, bem como possibilitam novas tecnologias e os agregam elevado valor comercial.

Além das diversas aplicações tecnológicas, os ETRs destacam-se na agricultura chinesa, onde fertilizantes contendo esses elementos são estudados e aplicados desde a década de 80 (WANG; ZHANG; MU, 2008), com relatos diversos de ganhos em produtividade e características desejáveis ao produto colhido (XIANGSHENG et al., 2006). O uso desses elementos na agricultura trata-se, portanto, de uma realidade, ainda que pouco difundida mundialmente.

Na China é estimado que 5% das áreas cultivadas recebam fertilizantes contendo ETRs (HU et al., 2004; WANG; ZHANG; MU, 2008). No Brasil, não são encontrados registros de utilização de ETRs na agricultura, o que não quer dizer que eles não sejam aplicados. Em recente estudo, Turra, Fernandes e Bacchi (2011) relatam que a os ETRs são aplicados juntamente com fertilizantes fosfatados, o que pode aumentar o conteúdo destes nos solos em longo prazo e causar efeitos aos humanos e meio ambiente. No país, as culturas que mais utilizam fertilizantes fosfatados são soja, milho e cana de açúcar (RUIZ-HERRERA et al., 2012).

Todavia, enquanto o benefício do uso é facilmente demonstrado e notado na indústria de alta tecnologia, na agricultura, os resultados sobre sua influência nas plantas permanecem contraditórios e inconsistentes (VON TUCHER; SCHMIDHALTER, 2005). Apesar dos relatos de ganhos em produção, estudos fisiológicos recentes mostram que elementos terras raras podem causar danos apoplásticos e simplásticos. No apoplasto, os íons trivalentes de ETRs, podem reagir com ligantes de cargas negativas da membrana plasmática e parede celular (RUIZ-HERRERA et al., 2012). Simplasticamente, elementos terras raras podem provocar alterações nutricionais e prejudicar a multiplicação celular (OLIVEIRA et al., 2015).

Progressos no entendimento das interações entre esse grupo homogêneo de elementos químicos e as plantas tem ocorrido nos últimos anos (HU et al., 2004), mas, ainda não são suficientes para explicar os mecanismos e processos fisiológicos relacionados com ETRs e plantas.

Os fatos expostos tem aumentado o interesse em conhecer os efeitos dos ETRs e seus possíveis impactos ao meio ambiente. A descrição dos fenômenos relacionados com a aplicação de concentrações de ETRs é importante para se conhecer e determinar as concentrações de ETRs que podem causar efeitos positivos e negativos às plantas, bem como os valores limites entre essas concentrações contrastantes. Estudos envolvendo o efeito de ETRs em plantas são escassos, ainda mais se tratando dos elementos samário (Sm), gadolínio (Gd) e neodímio (Nd).

Esse trabalho é inovador no sentido que trata de elementos até agora pouco explorados: Sm, Gd e Nd. Variáveis da pesquisa básica, como biomassa, teores e acúmulos de nutrientes e ETRs, bem como indicadores fisiológicos, como a taxa fotossintética, taxa transpiratória e condutância estomática, são de extrema valia para a compreensão dos efeitos desses elementos no crescimento e desenvolvimento de plantas.

A soja é uma cultura economicamente importante e amplamente consumida no mundo, e uma das culturas que mais recebem aplicação de fertilizantes fosfatados, especialmente em países tropicais, como o Brasil. Assim, dada a importância dos elementos terras raras, associados à cultura da soja, é de extrema importância o conhecimento dos efeitos do Nd, Sm e Gd no crescimento de plantas e nas características fisiológicas da soja. Nesse contexto, os objetivos do presente estudo foram avaliar: (i) o crescimento da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) em solução nutritiva, contendo diferentes concentrações de Sm, Nd e Gd; (ii) a bioacumulação dos ETRs nas raízes e parte aérea; (iii) alterações nutricionais decorrentes da aplicação desses elementos. O trabalho proporcionará melhor compreensão sobre os possíveis mecanismos pelos quais a soja apresenta a presença de ETRs e verificar o potencial benéfico ou tóxico desses elementos.

Material e métodos

Material vegetal de delineamento experimental

Sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) cv. BRSMG760SRR foram semeadas em vermiculita, em casa de vegetação e regadas diariamente com água duplamente destilada. As mudas com 14 dias foram transplantadas para vasos de 2L, contendo solução nutritiva de Hoagland (HOAGLAND; ARNON, 1950), com 50% de força iônica. Após uma semana do transplante, as plantas foram expostas à solução nutritiva contendo os tratamentos.

Para evitar a precipitação de ETRs com P na solução nutritiva, foi preparada uma solução estoque de ETR na forma complexada, como quelato (ETR-EDTA). Tal procedimento é necessário para manter o ETR na forma disponível para absorção pelas raízes, bem como evitar reações de precipitação com os íons fosfato. Diatloff, Asher e Smith (1993) descrevem o comportamento

do ETR lantânio em solução, em função da variação de pH. Nesse trabalho, na faixa de pH entre 5 e 6, mais de 80% do elemento encontra-se precipitado na forma de LaPO_4 .

Para preparar a solução ETR-EDTA, foi utilizado o EDTA dissódico dihidratado ($\text{Na}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ Sigma–Aldrich, St. Louis, MO, USA), e o sal do ETR correspondente, os quais foram misturados na proporção molar de 1:1 (ETR-EDTA). O Na_2EDTA foi previamente dissolvido com NaOH, a fim de evitar a precipitação dos ETRs com o Na_2EDTA . Para a preparação da solução, foram utilizados os sais de ETR puros para análise: nitrato de neodímio hexahidratado ($\text{Nd}(\text{NO}_3)_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$); nitrato de samário hexahidratado ($\text{Sm}(\text{NO}_3)_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$) e nitrato de gadolínio hexahidratado ($\text{Gd}(\text{NO}_3)_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (Sigma–Aldrich, St. Louis, MO, USA).

A solução nutritiva foi trocada semanalmente e submetida à aeração constante. Durante todo o período experimental, o pH da solução foi monitorado e ajustado para $6,0 \pm 0,2$ por adição de NaOH 0,1 M ou HCl 0,1 M.

As plantas de soja foram submetidas a cinco concentrações dos ETRs supracitados na solução de cultivo. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições e cinco concentrações de cada ETR. Para os elementos Gd e Sm, foram utilizados 0; 3,5; 7; 14 e 28 $\mu\text{M L}^{-1}$. Para o elemento Nd foram utilizadas as concentrações 0, 5, 10, 20 e 40 $\mu\text{M L}^{-1}$. Cada unidade experimental foi composta de uma planta por vaso de 2 L.

Após 28 dias de tratamento, o material vegetal foi colhido, separado em parte aérea e raiz, lavado com água deionizada e seco em estufa com circulação forçada de ar à temperatura de 60°C, até atingir massa constante para determinação da massa seca. Posteriormente, as amostras foram moídas em moinho tipo “Wiley”, equipado com peneira de malha 20 mesh, para determinação das concentrações de macro, micronutrientes e ETRs.

Análise dos teores de Sm, Gd e Nd e nutrientes

Para análise dos de ETR Sm, Gd e Nd, raízes e parte aérea, aproximadamente 0,100 g de tecido vegetal seco foi fundido com 1,4 g metaborato de lítio em cadinho de platina a 1000°C, em máquina de fusão (Fluxer BIS, Claisse, Québec, Canadá). Após resfriamento, os grânulos resultantes foram dissolvidos em bequeres, com aproximadamente 50 mL de uma solução 2,5% de ácido tartárico e 10% de HNO₃. Cada bequer foi então transferido para uma chapa quente a 120 ± 20°C, com agitação magnética durante a completa solubilização. As amostras foram em seguida transferidas para frascos de polipropileno de 100 mL e o volume foi completado com uma solução de ácido tartárico 2,5% e 10% de HNO₃. Os teores dos ETRs foram determinados por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) (Modelo NexION 300D, Perkin Elmer, Waltham, MA, EUA).

Para análises de macro e micronutrientes, 500 mg de tecido seco foi submetido a digestão nitroperclórica. Foram determinados os teores totais de P por colorimetria; S por turbidimetria e Ca, Mg, K, Cu, Fe, Mn e Zn, por espectrofotometria de absorção atômica (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997).

Para o cálculo dos acúmulos, foram multiplicados os teores encontrados pela biomassa produzida.

O potencial das plantas em extrair os ETRs da solução nutritiva foi avaliado pelo coeficiente de fitoextração (t) por meio da equação:

$$t = \frac{ETR \text{ total na planta}}{ETR \text{ total na solução}}$$

Os cálculos foram feitos considerando-se o conteúdo de ETRs na parte aérea, somando ao das raízes em todas as concentrações aplicadas. O ETR total

na solução foi calculado em função do número de trocas de solução e a capacidade de cada recipiente. Quanto maior esse fator, maior a absorção do elemento (HENRY, 2000).

O índice de produção relativa (PR%), que traduz a influência do ETR na variação de produção de matéria seca total da planta (MSR+MSPA), foi calculado pela equação:

$$PR \% = \frac{\text{Biomassa sob a concentração do ETR}}{\text{Biomassa na ausência do ETR}} \times 100$$

Através do índice de translocação (IT) é possível avaliar a capacidade das espécies em translocar os ETRs da raiz para a parte aérea, conforme Paiva et al. (2002), que é calculado pela expressão:

$$IT \% = \frac{\text{Bioacumulação do elemento na parte aérea}}{\text{Bioacumulação total do elemento}} \times 100$$

Análise de trocas gasosas e SPAD

As análises de trocas gasosas foram realizadas antes da coleta, usando analisador de trocas gasosas - IRGA (Li-6400, Li-Cor, Lincoln, NE, USA). A condutância estomática (g_s), taxa transpiratória (E) e taxa fotossintética (A), foram mensuradas em quatro repetições por tratamento com ETR. Foram selecionadas três folhas completamente expandidas, às 9 horas da manhã e a densidade do fluxo de fótons fotossinteticamente ativos, foi fixada na câmara do dispositivo a $1000 \mu\text{mol de m}^{-2} \text{s}^{-1}$. O teor relativo de clorofila (SPAD) foi obtido utilizando-se o medidor portátil de clorofila SPAD 502 Plus (Konica Minolta, Japão). Para esta avaliação foram analisadas três regiões (basal, mediana, apical) de três folhas por planta. Em cada ponto analisado foram feitas três medições.

Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância. As médias foram avaliadas pelo teste Scott e Knott a 5% de probabilidade, e as regressões foram ajustadas às variáveis dependentes, em função das concentrações de ETRs aplicadas. Os critérios para escolha dos modelos de regressão foram aqueles que mostraram maior coeficiente de determinação, significância dos coeficientes de regressão até 5% de probabilidade, pelo teste t e significado biológico do modelo. As análises estatísticas foram feitas com o programa computacional SISVAR (FERREIRA, 2003).

Resultados

Teores e bioacumulação de Sm, Gd e Nd

Os teores de Sm, Gd e Nd nas raízes e parte aérea aumentaram com o aumento das concentrações desses elementos na solução nutritiva (Tabela 1, 2 e 3). Os teores abaixo do limite de detecção foram considerados iguais à zero. O limite de detecção de Sm foi $12 \mu\text{g g}^{-1}$, Gd $10 \mu\text{g g}^{-1}$ e Nd $16 \mu\text{g g}^{-1}$.

Tabela 1 Teor e acúmulo de Sm na raiz e parte aérea de soja submetida a concentrações de Sm

		Teor de Sm ($\mu\text{g g}^{-1}$)					
Concentração de Sm aplicada $\mu\text{M L}^{-1}$	0	3,5	7	14	28	cv %	
Raiz	0 e	1259,1 d	2076,1 c	3568,1 b	4693,8 a	9,5	
Parte aérea	0	0	0	0	15,1	-	
		Acúmulo de Sm ($\mu\text{g planta}^{-1}$)					
Concentração de Sm aplicada $\mu\text{M L}^{-1}$	0	3,5	7	14	28	cv %	
Raiz	0 e	1687,7 d	2792,5 c	4129,1 b	4943,3 a	13,4	
Parte aérea	0	0	0	0	59,5	-	

Diferentes letras na linha indicam diferenças ($p < 0,05$) de acordo com o teste Scott-Knott. Valores iguais a 0: abaixo do limite de detecção ($12 \mu\text{g g}^{-1}$)

Na parte aérea, os teores de Sm e Nd foram detectados apenas na maior concentração estudada (Sm e Nd 40 $\mu\text{M L}^{-1}$), nos tratamentos com Gd, não foram detectados na concentração 0 e 3,5 $\mu\text{M L}^{-1}$ de Gd. Nas raízes, onde foram aplicados os tratamentos contendo ETRs, os elementos foram encontrados em todas as concentrações estudadas.

Tabela 2 Teor e acúmulo de Gd na raiz e parte aérea de soja submetida a concentrações de Gd

		Teor de Gd ($\mu\text{g g}^{-1}$)					
Concentração de Gd aplicado $\mu\text{M L}^{-1}$	0	3,5	7	14	28	cv %	
Raiz	0 e	1134,9 d	1628,9 c	3337,9 b	4675,6 a	8,4	
Parte aérea	0 c	0 c	12,43 b	12,29 b	20,75 a	7,6	
		Acúmulo de Gd ($\mu\text{g planta}^{-1}$)					
Concentração de Gd aplicado $\mu\text{M L}^{-1}$	0	3,5	7	14	28	cv %	
Raiz	0 d	1293,1 c	1644,5 c	3465,4 b	4490,9 a	16,0	
Parte aérea	0 c	0 c	65,04 b	59,27 b	111,09 a	12,1	

Diferentes letras na linha indicam diferenças ($p < 0,05$) de acordo com o teste Scott-Knott. Valores iguais a 0: abaixo do limite de detecção ($10 \mu\text{g g}^{-1}$)

Os acúmulos de ETRs foram maiores nas maiores concentrações estudadas. As plantas de soja acumularam mais ETRs nas raízes que na parte aérea, que foram até 90 vezes o valor encontrado na parte aérea (Nd). Os maiores acúmulos de Sm, Gd e Nd foram, respectivamente 4943,3 $\mu\text{g Sm planta}^{-1}$; 4490,9 $\mu\text{g Gd planta}^{-1}$; 6096,6 $\mu\text{g Nd planta}^{-1}$.

Tabela 3 Teor e acúmulo de Nd na raiz e parte aérea de soja submetida a concentrações de Nd

		Teor de Nd ($\mu\text{g g}^{-1}$)					
Concentração de Nd aplicado $\mu\text{M L}^{-1}$	0	5	10	20	40	cv %	
Raiz	0 e	1505,7 d	2362,0 c	4482,6 b	5404,9 a	6,9	
Parte aérea	0	0	0	0	17,3	-	
		Acúmulo de Nd ($\mu\text{g planta}^{-1}$)					
Concentração de Nd aplicado $\mu\text{M L}^{-1}$	0	5	10	20	40	cv %	
Raiz	0 c	2233,2 b	3084,6 b	5727,6 a	6096,6 a	16,6	
Parte aérea	0	0	0	0	68,3	-	

Diferentes letras na linha indicam diferenças ($p < 0,05$) de acordo com o teste Scott-Knott. Valores iguais a 0: abaixo do limite de detecção ($16 \mu\text{g g}^{-1}$)

Coefficiente de fitoextração (t) e Índice de translocação

Quanto maior o valor do coeficiente de fitoextração, maior será a absorção do elemento da solução nutritiva para as plantas e maior a capacidade dessas em extrair o elemento do sistema. Para esse experimento, foram observados os valores de t apresentados na Figura 1. Observa-se que os maiores coeficientes de fitoextração (0,54; 0,52 e 0,39) foram encontrados nas menores concentrações estudadas, para todos os ETRs.

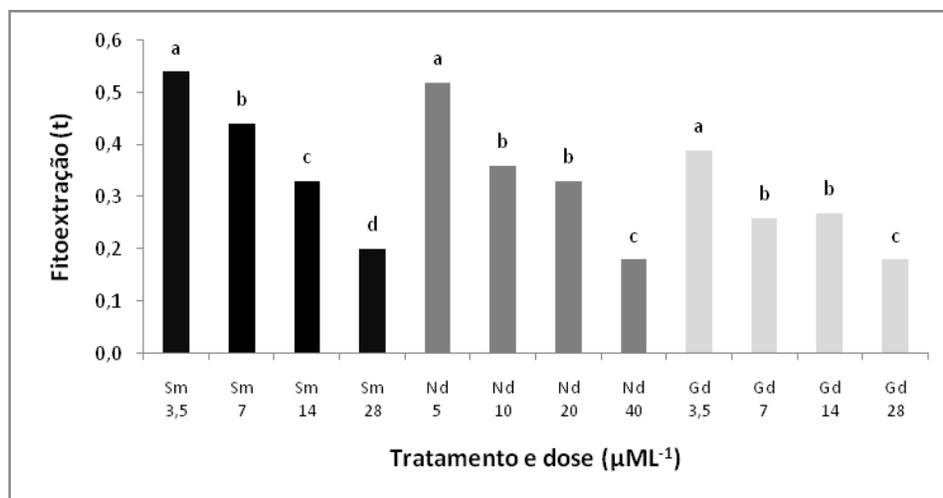


Figura 1 Coeficiente de fitoextração (t) de plantas de soja submetidas a concentrações dos ETRs Sm, Nd e Gd, por 28 dias. Diferentes letras nas colunas indicam diferenças ($p < 0.05$) de acordo com o teste Scott-Knott

Para o cálculo do índice de translocação (IT), é necessário o conhecimento dos acúmulos na parte aérea das plantas. Como os ETRs foram pouco detectados na parte aérea dos tratamentos estudados, esse índice foi passível de ser calculado apenas em alguns tratamentos.

Produção de biomassa e produção relativa

Na Figura 2 são apresentados os efeitos das concentrações de Sm, Nd e Gd aplicadas no crescimento de plantas de soja. Não foram encontrados efeitos positivos da utilização dos ETRs estudados em solução nutritiva para a produção de massa seca de parte aérea. Os elementos Sm e Nd diminuíram linearmente a produção de massa seca de parte aérea, com a aplicação de concentrações crescentes desses elementos, ajustados em uma equação linear ($y = -0,120x + 7,154$, $R^2 = 0,958$) para Sm e ($y = -0,080x + 7,044$, $R^2 = 0,964$) para Nd.

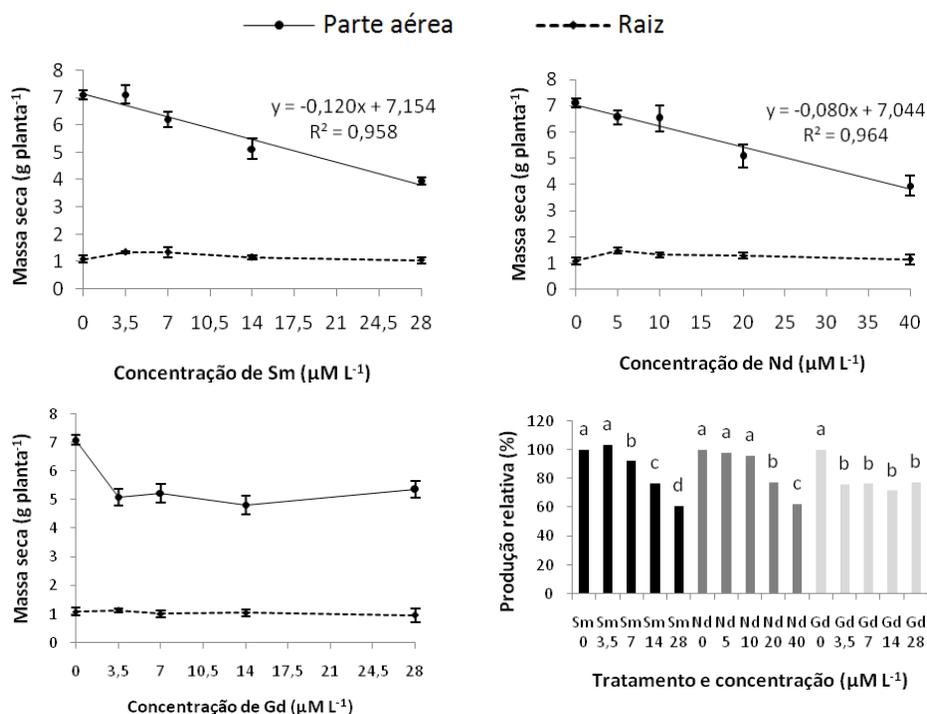


Figura 2 Produção de massa seca das raízes e parte aérea e produção relativa de plantas de soja submetidas a concentrações dos ETRs Sm, Nd e Gd, por 28 dias

Apesar de encontradas diferenças estatísticas entre os tratamentos estudados, não foi possível considerar um ajuste de regressão para o elemento Gd, que reduziu a produção de massa seca de parte aérea em todos os tratamentos aplicados. Visualmente, as plantas tratadas com Gd não apresentaram características morfológicas que as diferenciavam do tratamento sem aplicação do elemento, apenas a redução do crescimento foi observada. As plantas tratadas com Nd e Sm mostravam folhas com tamanho reduzido em relação ao tratamento que não recebeu os elementos.

Efeito dos ETRs no teor e acúmulo de nutrientes

Nas Tabelas 4, 5 e 6, estão expressos os teores e nas Tabelas 7, 8 e 9 os acúmulos de macro e micronutrientes das plantas de soja, quando tratadas com Sm, Gd e Nd.

Tabela 4 Teor de nutrientes nas raízes e parte aérea de soja, submetida a concentrações de Sm

Nutrientes	Teor de nutrientes nas raízes para cada concentração de Sm ($\mu\text{M L}^{-1}$)					
	0	3,5	7	14	28	cv %
Mg (mg g^{-1})	7,29 b	15,34 a	15,50 a	12,91 a	14,94 a	15,14
Ca (mg g^{-1})	5,75 b	5,77 b	6,68 a	7,02 a	6,94 a	9,84
P (mg g^{-1})	11,40 b	14,60 a	13,51 a	14,60 a	13,95 a	9,19
S (mg g^{-1})	1,82 b	2,70 a	2,62 a	2,53 a	2,66 a	13,14
K (mg g^{-1})	18,88 b	37,80 a	37,20 a	38,60 a	36,51 a	12,70
Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$)	7,52 a	5,40 b	3,90 c	3,07 d	2,19 e	11,02
Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	135,59 a	148,35 a	152,69 a	144,61 a	132,20 a	11,05
Fe ($\mu\text{g g}^{-1}$)	530,47 a	500,14 a	623,91 a	641,62 a	592,99 a	10,02
Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	21,91 a	19,70 a	23,49 a	23,48 a	27,38 a	9,22

Nutrientes	Teor de nutrientes na parte aérea para cada concentração de Sm ($\mu\text{M L}^{-1}$)					
	0	3,5	7	14	28	cv %
Mg (mg g^{-1})	3,13 b	4,14 a	3,99 a	4,40 a	3,83 a	9,95
Ca (mg g^{-1})	19,71 a	23,18 a	19,12 a	21,07 a	17,75 a	13,78
P (mg g^{-1})	5,37 c	6,54 c	6,62 c	8,76 b	10,68 a	12,74
S (mg g^{-1})	2,30 b	2,94 a	3,06 a	2,89 a	3,09 a	11,56
K (mg g^{-1})	29,40 c	35,60 b	40,50 a	39,35 a	39,15 a	7,18
Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$)	1,88 a	1,70 b	1,10 c	0,90 d	0,39 e	7,68
Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	59,80 b	89,12 a	84,73 a	80,13 a	77,00 a	8,65
Fe ($\mu\text{g g}^{-1}$)	59,80 d	181,07 a	145,13 b	132,67 b	116,17 c	7,25
Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	11,64 b	23,06 a	19,74 a	20,70 a	19,77 a	11,92

Diferentes letras na linha indicam diferenças ($p < 0,05$) de acordo com o teste Scott-Knott

A utilização dos ETRs aumentou os teores de P e S em todas as concentrações estudadas, tanto na parte aérea quanto nas raízes. Efeito inverso ocorreu com o Cu, que teve seus teores reduzidos, tanto na parte aérea quanto na raiz para todos os elementos estudados (Tabelas 4,5 e 6).

Tabela 5 Teor de nutrientes nas raízes e parte aérea de soja, submetida a concentrações de Gd

Nutrientes	Teor de nutrientes nas raízes para cada concentração de Gd ($\mu\text{M L}^{-1}$)					
	0	3,5	7	14	28	cv %
Mg (mg g^{-1})	7,29 b	11,76 b	10,96 b	12,26 b	17,69 a	15,40
Ca (mg g^{-1})	6,75 a	6,66 a	5,17a	5,20 a	6,36a	13,90
P (mg g^{-1})	11,4 b	14,90a	15,45a	15,17a	14,71a	8,36
S (mg g^{-1})	1,82b	2,65 a	2,36 a	2,60 a	2,28 a	12,61
K (mg g^{-1})	18,88 b	41,2 a	40,95 a	41,85a	36,6 a	9,18
Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$)	7,52 a	5,38b	4,66 b	5,21 b	3,38 c	11,21
Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	108,09 a	106,29 a	95,79 b	85,48 b	86,60 b	6,55
Fe ($\mu\text{g g}^{-1}$)	655,47 a	626,06 b	541,22 c	467,20 d	408,44 e	3,40
Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	19,40 a	20,75 a	17,59 a	16,84 a	19,03 a	14,11

Nutrientes	Teor de nutrientes na parte aérea para cada concentração de Gd ($\mu\text{M L}^{-1}$)					
	0	3,5	7	14	28	cv %
Mg (mg g^{-1})	3,12 b	3,13 b	3,23 b	3,72 a	3,78 a	6,02
Ca (mg g^{-1})	13,46 d	15,91 c	15,55 c	17,38 b	19,54 a	4,93
P (mg g^{-1})	5,34 c	5,90 c	5,87 c	7,76 b	8,96 a	9,87
S (mg g^{-1})	2,30 b	2,96 a	3,00 a	3,04 a	3,00 a	5,60
K (mg g^{-1})	30,90 a	29,7 a	29,6 a	33,15 a	29,50 a	9,39
Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$)	2,37 a	1,93 b	1,16 c	0,78 d	0,35 e	8,44
Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	59,80 b	80,18 a	86,38 a	91,82a	71,40 b	10,51
Fe ($\mu\text{g g}^{-1}$)	125,64 b	161,07 a	163,05 a	173,94 a	129,00 b	10,47
Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	11,64 d	17,11 c	28,53 a	22,03 b	20,19 b	12,06

Diferentes letras na linha indicam diferença significativa ($p < 0,05$) de acordo com o teste Scott-Knott

A utilização do Sm e Nd aumentou os teores de Mg em parte aérea e raiz; efeito semelhante foi observado na maior concentração estudada de Gd, na parte aérea e raiz. O Ca teve suas concentrações elevadas na raiz, quando foi

utilizado o Sm e na parte aérea, quando foi utilizado o Gd. Nas outras partes e para o elemento Nd, o teor manteve-se semelhante ao do tratamento controle. O teor de K nas raízes aumentou na utilização dos elementos em estudo, entretanto, o teor de K na parte aérea foi afetado apenas com a utilização de Sm.

Tabela 6 Teor de nutrientes nas raízes e parte aérea de soja, submetida a concentrações de Nd

Nutrientes	Teor de nutrientes nas raízes para cada concentração de Nd ($\mu\text{M L}^{-1}$)					
	0	5	10	20	40	cv %
Mg (mg g^{-1})	7,29 c	7,66 c	13,07 b	12,71 b	16,62 a	7,22
Ca (mg g^{-1})	5,85 a	5,78 a	5,55 a	5,50 a	5,24 a	7,86
P (mg g^{-1})	11,40 b	14,72 a	14,67 a	14,95 a	14,95 a	9,49
S (mg g^{-1})	1,82 b	2,42 a	2,58 a	2,32 a	2,05a	8,98
K (mg g^{-1})	18,88 c	31,65 a	39,15 a	26,40 b	35,10 a	12,53
Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$)	6,22 a	3,87 b	4,40 b	4,20 b	4,37 b	10,75
Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	110,59 a	104,97 a	107,67 a	80,91 b	60,62 c	4,12
Fe ($\mu\text{g g}^{-1}$)	655,47 a	548,67b	503,89 c	458,13 d	426,61 e	3,17
Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	21,66 a	17,22 b	16,84 b	17,76 b	19,21 b	7,02
Nutrientes	Teor de nutrientes na parte aérea para cada concentração de Nd ($\mu\text{M L}^{-1}$)					
	0	5	10	20	40	cv %
Mg (mg g^{-1})	3,12 c	3,57 b	3,74 b	3,87b	4,51 a	5,64
Ca (mg g^{-1})	19,71a	18,26 a	17,85 a	19,10 a	20,23a	7,36
P (mg g^{-1})	5,37d	6,35 d	7,58 c	9,00 b	11,58 a	11,57
S (mg g^{-1})	2,30 b	2,84 a	2,95 a	2,85 a	3,00 a	9,89
K (mg g^{-1})	30,9 a	31,65 a	29,15 a	31,35 a	31,80 a	11,29
Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$)	1,62 a	1,02 b	0,77 c	0,72 c	0,33 d	9,17
Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	62,3 c	71,94 b	81,29 a	86,96 a	78,70 a	6,92
Fe ($\mu\text{g g}^{-1}$)	130,64a	143,50 a	139,68 a	146,66 a	135,66 a	10,92
Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	11,63 b	19,21 a	18,13 a	17,01 a	15,23 a	11,36

Diferentes letras na linha indicam diferença significativa ($p < 0,05$) de acordo com o teste Scott-Knott

Observou-se ao analisar os acúmulos (Tabelas 7, 8 e 9), que respostas variadas também foram encontradas em função do elemento e da concentração aplicada. O acúmulo reflete um valor multiplicativo da massa seca produzida

pelo teor em determinada parte vegetal. Com isso, maiores variações foram observadas.

Tabela 7 Acúmulo de nutrientes nas raízes e parte aérea de soja, submetida a concentrações de Sm

Nutrientes	Acúmulo de nutrientes nas raízes para cada concentração de Sm ($\mu\text{M L}^{-1}$)					cv %
	0	3,5	7	14	28	
Mg (mg)	7,9 d	20,6 a	20,9 a	13,7 c	15,8 b	16,84
Ca (mg)	6,2 b	7,8 a	9,0 a	8,2 a	6,3 b	17,80
P (mg)	12,5 b	19,6 a	18,0 a	16,9 a	13,7 b	14,69
S (mg)	2,0 b	3,6 a	3,5 a	2,9 a	2,3 b	15,3
K (mg)	20,5 c	50,6 a	49,6 a	44,8 a	37,5 b	15,49
Cu (μg)	7,4 a	7,9 a	5,3 b	7,3 a	4,3 b	18,87
Mn (μg)	146,8 b	200,2 a	204,2 a	168,0 a	107,4 b	20,30
Fe (μg)	560,1 a	677,3 a	823,5 a	742,7 a	625,3 a	19,74
Zn (μg)	23,9 a	26,4 a	30,2 a	27,19 a	29,0 a	23,11

Nutrientes	Acúmulo de nutrientes na parte aérea para cada concentração de Sm ($\mu\text{M L}^{-1}$)					cv%
	0	3,5	7	14	28	
Mg (mg)	22,2 b	29,5 a	24,7 b	22,5 b	15,1 c	10,88
Ca (mg)	139,5 a	164,8 a	118,5 b	107,3 b	70,1 c	14,00
P (mg)	38,1 a	46,4 a	40,8 a	44,6 a	42,2 a	9,82
S (mg)	16,3 b	20,8 a	18,9 a	14,7 b	12,2 c	10,64
K (mg)	218,9 b	281,7 a	251,1 a	198,5 b	121,8 c	10,99
Cu (μg)	7,0 b	13,1 a	5,9 b	4,2 b	1,3 c	25,30
Mn (μg)	423,9 c	634,0 a	525,0 b	409,5 c	303,2 d	12,17
Fe (μg)	423,9 d	1324,3 a	931,3 b	680,9 c	457,8 d	16,33
Zn (μg)	82,5 c	164,0 a	122,4 b	105,3 c	73,9 c	18,42

Diferentes letras na linha indicam diferença significativa ($p < 0,05$) de acordo com o teste Scott-Knott

Os acúmulos de Ca, P, S, K, Cu, Mn na parte aérea e raiz, e de Mg na raiz diminuíram com as maiores concentrações de Sm aplicadas. Todos os nutrientes avaliados aumentaram seus acúmulos ou foram semelhantes ao controle na menor concentração estudada desse elemento ($3,5 \mu\text{M L}^{-1}$).

Tabela 8 Acúmulo de nutrientes nas raízes e parte aérea de soja, submetida a concentrações de Gd

Nutrientes	Acúmulo de nutrientes nas raízes para cada concentração de Gd ($\mu\text{M L}^{-1}$)					cv %
	0	3,5	7	14	28	
Mg (mg)	7,9 a	13,4 a	11,0 a	12,6 a	17,2 a	28,38
Ca (mg)	6,2 a	7,6 a	5,2 a	5,4 a	6,2 a	20,16
P (mg)	12,5 a	17,0 a	15,6 a	15,8 a	14,3 a	19,66
S (mg)	2,0 b	3,0 a	2,4 b	2,7 a	2,1 b	16,25
K (mg)	20,5 b	46,9 a	41,3 a	43,6 a	36,6 a	20,26
Cu (μg)	7,4 a	6,7 a	5,6 a	5,4 a	3,3 b	24,57
Mn (μg)	161,3 a	141,2 a	100,5 a	77,7 b	86,0 b	34,46
Fe (μg)	560,1 b	712,2 a	543,1 b	521,1 b	437,2 b	15,6
Zn (μg)	23,9 a	23,6 a	17,7 a	18,4 a	19,9 a	25,85

Nutrientes	Acúmulo de nutrientes na parte aérea para cada concentração de Gd ($\mu\text{M L}^{-1}$)					cv %
	0	3,5	7	14	28	
Mg (mg)	22,2 a	15,9 b	17,0 a	17,9 a	20,2 a	9,30
Ca (mg)	139,5 a	80,9 b	81,6 b	66,5 b	104,9 a	24,15
P (mg)	38,1 b	30,1 c	30,8 c	37,3 b	47,8 a	12,08
S (mg)	16,3 a	15,1 a	15,7 a	14,7 a	16,1 a	8,51
K (mg)	218,9 a	151,1 b	155,3 b	159,7 b	123,1 b	16,38
Cu (μg)	7,0 b	8,3 b	12,4 a	3,8 c	1,9 c	30,66
Mn (μg)	423,9 a	409,5 a	451,9 a	442,0 a	381,9 a	11,59
Fe (μg)	891,2 a	821,4 a	912,0 a	788,3 a	690,7 a	14,75
Zn (μg)	82,5 c	87,1 c	149,3 a	105,4 b	107,5 b	12,43

Diferentes letras na linha indicam diferença significativa ($p < 0,05$) de acordo com o teste Scott-Knott

Nas raízes os acúmulos de Mg, P, Ca e Zn não foram alterados em relação ao controle com a utilização de concentrações de Gd. Por outro lado, na parte aérea dessas plantas pode-se observar aumento nos acúmulos de P e Zn, quando as plantas foram submetidas a esse elemento.

Tabela 9 Acúmulo de nutrientes nas raízes e parte aérea de soja, submetida a concentrações de Nd

Nutrientes	Acúmulo de nutrientes nas raízes para cada concentração de Nd ($\mu\text{M L}^{-1}$)					cv %
	0	5	10	20	40	
Mg (mg)	7,9 b	44,3 b	17,0 a	16,2 a	18,9 a	16,24
Ca (mg)	6,2 a	7,8 a	7,3 a	6,7 a	5,2 a	19,47
P (mg)	12,5 b	21,6 a	19,1 a	19,1 a	17,0 a	15,21
S (mg)	2,0 b	3,5 a	3,4 a	3,0 a	2,3 b	12,45
K (mg)	20,5 c	46,6 a	51,1 a	33,8 b	39,9 a	18,74
Cu (μg)	7,4 a	6,4 a	5,7 a	5,8 a	5,2 a	28,12
Mn (μg)	161,3 a	158,9 a	146,3 a	111,7 b	74,6 b	31,5
Fe (μg)	560,1 a	731,3 a	638,8 a	586,5 a	518,3 a	16,86
Zn (μg)	23,9 a	29,2 a	24,4 a	22,7 a	20,4 a	26,85

Nutrientes	Acúmulo de nutrientes na parte aérea para cada concentração de Nd ($\mu\text{M L}^{-1}$)					cv%
	0	5	10	20	40	
Mg (mg)	22,2 a	23,4 a	24,4 a	19,6 b	17,9 b	8,77
Ca (mg)	139,5 a	119,56 b	116,4 b	96,7 c	80,1 d	9,30
P (mg)	38,1 a	41,6 a	45,4 a	49,2 a	45,9 a	13,02
S (mg)	16,3 a	18,7 a	19,2 a	12,7 b	11,9 b	13,10
K (mg)	218,9 a	207,9 a	162,7 b	159,3 b	125,9 c	13,02
Cu (μg)	7,7 b	11,7 a	5,0 c	3,9 c	1,3 d	21,96
Mn (μg)	423,9 b	487,1 a	546,4 a	392,3 b	300,9 c	14,98
Fe (μg)	891,2 a	1020,7 a	1065,9 a	787,3 a	609,6 a	25,6
Zn (μg)	82,5 b	137,9 a	86,9 b	122,6 a	52,8 c	18,05

Diferentes letras na linha indicam diferença significativa ($p < 0,05$) de acordo com o teste Scott-Knott

Com relação ao Nd, os acúmulos de Ca, Cu, Fe e Zn não foram alterados nas raízes, e nem de P e Fe na parte aérea. Nesse tratamento observou-se redução nos acúmulos de Mn nas raízes e parte aérea, redução dos acúmulos de Zn, Cu, K, S, Mg e Ca em relação ao controle, no maior tratamento utilizado.

Efeito do Sm, Gd e Nd na taxa fotossintética, índice SPAD, condutância estomática e taxa transpiratória

A aplicação de Sm, Nd e Gd afetaram a taxa fotossintética (A) e transpiratória (E), conforme observado na Figura 3. A taxa fotossintética apresentou resposta

quadrática com valor máximo em 27,4 para o elemento Sm. Já os elementos Gd e Nd apresentaram resposta linear positiva com as suas aplicações (Gd) $y = 0,112x + 23,46$ $R^2 = 0,872$ e (Nd) $y = 0,068x + 23,95$ $R^2 = 0,916$. Situação semelhante foi observada para as taxas transpiratórias, que apresentaram também resposta quadrática com a aplicação de Sm e respostas lineares com a aplicação de Gd e Nd.

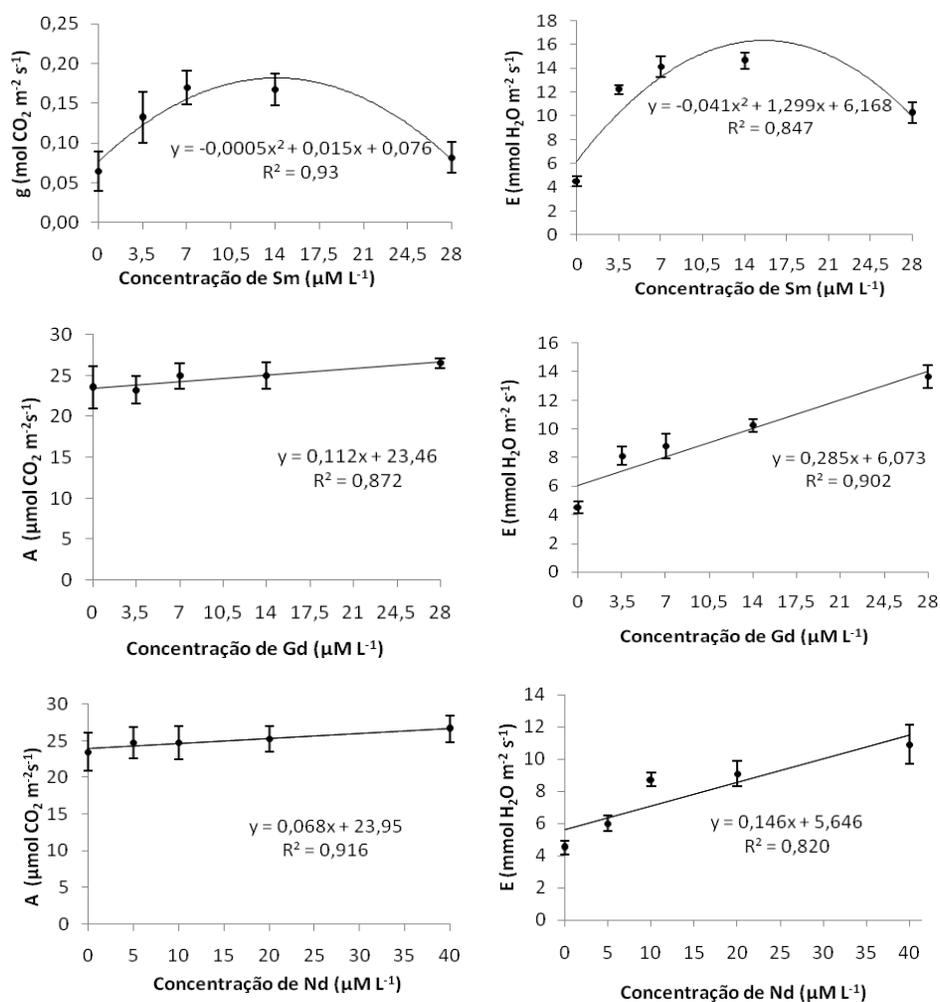


Figura 3 Taxa fotossintética (*A*) e taxa transpiratória (*E*) de plantas de soja submetidas a concentrações dos ETRs Sm, Nd e Gd, por 28 dias

A condutância estomática (Figura 4) apresentou resposta quadrática com a aplicação de Sm e linear com a aplicação de Gd e Nd. O índice SPAD (Figura 4) mostrou-se estatisticamente igual nos tratamentos com Gd e Nd, e apresentou resposta quadrática com a aplicação de concentrações de Sm, com valor mínimo em 30 unidades SPAD.

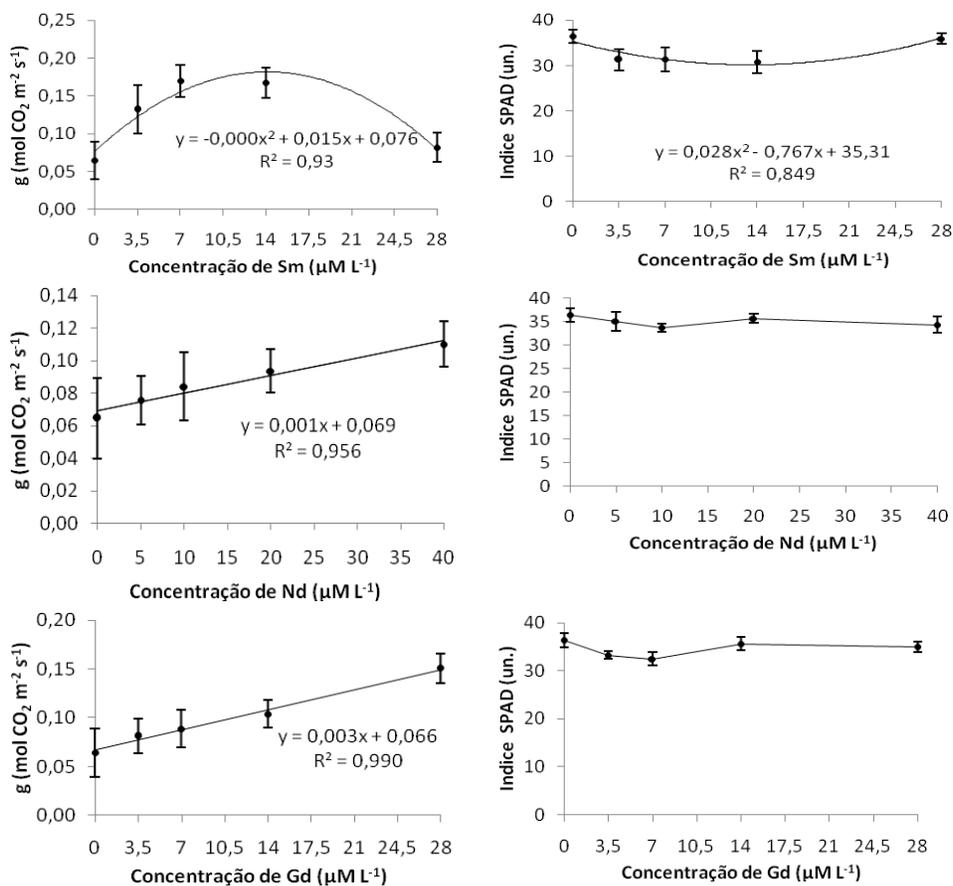


Figura 4 Condutância estomática (g) e índice SPAD de plantas de soja submetidas a concentrações dos ETRs Sm, Nd e Gd, por 28 dias.

Discussão

As plantas podem absorver da solução do solo todos os elementos químicos na forma disponível, sendo eles essenciais ou não. Os ETRs são adicionados aos solos, intencionalmente ou involuntariamente através de muitas fontes pontuais ou difusas, como por exemplo, insumos agrícolas. Nesse contexto, a soja é uma das culturas que mais recebem fertilizantes fosfatados, carreadores de ETRs (OLIVEIRA et al., 2015; TURRA; FERNANDES; BACCHI, 2011) e, por isso, uma melhor compreensão da capacidade de soja em crescer na presença desses

elementos no solo é fundamental. Existem muitas evidências de que as plantas não podem evitar, mas somente restringir a absorção de elementos, quando crescem em solos com aporte elevado destes, acumulando-os em seus tecidos (PAIVA et al., 2002). Observou-se nas plantas de soja, elevada concentração radicular dos ETRs Sm, Gd e Nd, quando expostas a concentrações desses elementos, sendo em alguns casos imperceptíveis na parte aérea. O transporte de ETRs no xilema está associado com o fluxo geral de nutrientes, contudo, maiores teores desses elementos são encontrados no sistema radicular (HU et al., 2002; THOMAS et al., 2014; TYLER, 2004; WANG et al., 2011). Nesse estudo, foram encontrados teores radiculares de Sm, Gd e Nd de $4693,8 \mu\text{g g}^{-1}$; $4675,6 \mu\text{g g}^{-1}$ e $5404,9 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente, na maior concentração estudada de cada elemento. Verifica-se que as plantas acumularam maiores teores desses elementos no sistema radicular, e quando detectados na parte aérea, variaram apenas de 1,3% a 4,3% do total absorvido. Para avaliar a capacidade das plantas de extrair o Sm, Nd e Gd do sistema, foi utilizado o coeficiente de fitoextração (t), e quanto maior for esse valor, maior a absorção do elemento do solo ou da solução nutritiva pelas plantas. O valor de t variou de 0,18 a 0,54, que corresponde respectivamente à absorção de 18% e 54% do ETR total aplicado em solução. Conforme mostrado na Figura 1, o coeficiente de fitoextração foi menor nas maiores concentrações de Sm, Gd e Nd aplicadas. Como o coeficiente de fitoextração representa o valor total de ETR na planta em relação ao valor total de ETR aplicado na solução nutritiva, nas menores concentrações dos ETRs estudados, mesmo absorvendo e acumulando menores valores de ETRs, proporcionalmente, o valor de t é maior pela menor concentração de ETR na solução e ao efeito depressivo na biomassa seca ser reduzido (Gd) ou ausente (Sm e Nd).

Quanto maior a concentração desses elementos na solução nutritiva, maiores são os danos sobre seus sistemas metabólicos. Isso significa que quanto

maior a concentração na solução com Sm, Nd e Gd, maior foi a redução na produção de biomassa. Dentre seus efeitos nas plantas, foram constatados estímulos na síntese de clorofila (GUO; LAI; YAN, 1993) e crescimento de raiz e parte aérea em trigo, pepino, soja e milho (WU et al., 1985). No entanto, os efeitos relatados na literatura nem sempre são positivos, existindo opiniões conflitantes sobre os benefícios desses elementos no solo e plantas (TURRA; FERNANDES; BACCHI, 2011). Observa-se que os maiores coeficientes de fitoextração (0,54 Sm, 0,52 Nd e 0,39 Gd) foram encontrados nas menores concentrações aplicadas, onde também foram observados os menores acúmulos.

Recentemente, tem se verificado certa preocupação com a aplicação generalizada de terras raras e sua dispersão e bio-acumulação no ambiente, em particular na produção agrícola, com sua respectiva transferência através da cadeia alimentar para o corpo humano (XU et al., 2002). Com esses resultados, pode-se inferir que a transferência do sistema solo para o sistema planta, se dá inversamente à concentração aplicada. Hu et al. (2002) relataram que a absorção de ETRs do solo é, geralmente, muito maior que a taxa de translocação das raízes para a parte aérea. Nesse sentido, Zhimang et al. (2001) demonstraram que, em trigo, a sua acumulação na raiz foi maior que na parte aérea. Foy (1978) relatou que as plantas tendem a limitar a translocação de ETRs para a parte aérea, a fim de minimizar seus efeitos tóxicos causados pelas altas concentrações. Como os ETRs pouco foram detectados na parte aérea dos tratamentos estudados, esse índice foi passível de ser calculado apenas em alguns tratamentos. Para o elemento Sm, o índice de translocação médio no maior tratamento estudado $28 \mu\text{M L}^{-1}$ foi 1,2%, no maior tratamento estudado com Nd, $40 \mu\text{M L}^{-1}$, o índice de translocação médio foi 1,1%. Para esses dois elementos só foi possível calcular o *IT* nesses dois tratamentos. Já o elemento Gd foi mais translocado para a parte aérea no estudo, com *IT* de 4% na dose $7 \mu\text{M L}^{-1}$, 1,7 % na dose $14 \mu\text{M L}^{-1}$ e 2,6 % na dose $28 \mu\text{M L}^{-1}$.

Ao avaliar a produção de biomassa seca, podemos concluir que a aplicação isolada de Sm, Gd e Nd não mostrou-se positiva em nenhuma das concentrações estudadas. Estudos têm demonstrado efeitos negativos (DIATLOFF; SMITH; ASHER, 1995a; HU et al., 2002; KATAOKA et al., 2002; LIU; YANG, 1997; VAN STEVENINCK; VAN STEVENINCK; CHESCOE, 1976), e positivos (FASHUI, 2002; HU et al., 2004; REDLING, 2006; XIANGSEHNG et al., 2006), após a aplicação de ETRs, sem contudo haver explicações claras sobre os efeitos tóxicos ou benéficos, (RUÍZ-HERRERA, 2012). Essa situação é ainda mais agravada quando se fala sobre Sm, Nd e Gd, elementos pouco estudados. Em ampla pesquisa, não foram encontrados estudos da utilização isolada de Sm em plantas.

Ruíz-Herrera (2012) mostrou que ETRs do tipo cátions trivalentes como o La^{3+} e Gd^{3+} , podem reagir com ligantes carregados negativamente no apoplasto, na membrana plasmática ou parede celular, podendo ser utilizados na inibição de canais de Ca e conseqüentemente comprometer funções fisiológicas do Ca na célula, causando efeitos tóxicos. A absorção de Yb e La em arroz e ervilha compromete a permeabilidade da membrana plasmática, podendo causar o efluxo de nutrientes e metabólitos essenciais para o desenvolvimento das plantas (ISHIKAWA; WAGATSUMA; IKARASHI, 1996).

Vale ressaltar que uma redução de biomassa nem sempre implica em redução de produtividade agrícola. Plantas com elevado crescimento vegetativo podem não produzir grãos satisfatoriamente do ponto de vista comercial. Na produção relativa de biomassa seca, pode-se observar que nas menores concentrações estudadas, esse índice não variou estatisticamente para os elementos Sm e Nd com relação ao tratamento controle, mostrando para a menor concentração de Sm estudada, um certo estímulo na concentração 3,5 (3,4%), apesar de estatisticamente igual ao tratamento controle. Esse resultado é um típico do efeito bifásico da concentração, conforme descrito por Ma et al.

(2010). Em baixas concentrações, a aplicação de Sm pode aumentar a biomassa, decorrente do aumento da taxa fotossintética (Figura 3). À medida que a concentração de Sm no meio aumenta, aumenta também seus efeitos deletérios, explicando o efeito quadrático da taxa transpiratória. A intensidade luminosa, a temperatura, a concentração de CO₂ e a umidade do solo são fatores que afetam a atividade fotossintética dos vegetais (MARENCO; LOPES, 2009).

Com aplicação dos elementos Nd e Gd, a taxa fotossintética aumentou paralelamente ao aumento da taxa transpiratória, o que não refletiu em ganhos em produção de massa seca. Esse estudo mostra que a aplicação de ETRs podem aumentar a taxa fotossintética, conforme já mostrado por outros autores (CHEN et al., 2001; LIANG et al., 2008; LIU et al., 2012; XIA et al., 2013).

As plantas, ao absorverem CO₂, inevitavelmente perdem água pelas folhas. Essa perda de água ocorre principalmente através dos estômatos, que apresentam mecanismos para controlar o seu grau de abertura. Esse controle é atribuído à condutância estomática foliar (MCDERMIT, 1990), que apresentou comportamento análogo à taxa fotossintética, para os elementos estudados. Entender como ocorrem as influências do ambiente sobre o controle estomático, tem sido foco central de estudos com fisiologia por causa da relação entre abertura estomática e aquisição de carbono pela planta (ADDINGTON et al., 2004).

O teor de clorofila das folhas pode ser analisado indiretamente pelo SPAD, Soil Plant Analysis Development (MINOLTA, 1989), um medidor portátil de clorofila que usa a diferença de densidade ótica de dois comprimentos de onda. Nesse sentido, o índice SPAD apresentou resposta quadrática com a aplicação do elemento Sm, com valor mínimo de 30, na concentração 14 $\mu\text{M L}^{-1}$ e não apresentou diferença estatística significativa com aplicação de Nd e Gd.

A absorção e a translocação de ETRs nas plantas pode diminuir ou aumentar a absorção de nutrientes, afetando a disponibilidade e distribuição dos

mesmos nas plantas (DIATLOFF; SMITH; ASHER, 1995b; LIU; LIN; WANG, 2012), por competição direta na absorção de íons e interferindo na permeabilidade das membranas plasmáticas (ZENG et al., 1999). Para investigar se a exposição de plantas de soja às concentrações de Sm, Nd e Gd influenciaram o balanço de nutrientes, os teores de macro e micronutrientes foram analisados. É relatada na literatura, a relação dos ETRs com a estabilidade e funcionalidade da membrana plasmática, o que afeta as interações iônica nas células (HU, 2004).

A aplicação de ETRs aumentou os teores P e S em todas as concentrações estudadas, tanto na parte aérea quanto nas raízes. A função principal do P é a transferência de energia e estrutural nos ácidos nucléicos. O S é componente estrutural dos aminoácidos sulfurados, como a cisteína e metionina (EPSTEIN, 1975). O aumento dos teores desses elementos pode estar relacionado ao aumento da taxa fotossintética, que ocorreu mesmo na redução da produção de biomassa.

Efeito inverso ao observado para P e S ocorre com o Cu, que teve seus teores reduzidos, tanto na parte aérea quanto na raiz, para todos os elementos estudados. O Cu participa de vários processos vitais para a planta, como fotossíntese, respiração, regulação hormonal, fixação de nitrogênio e metabolismo de compostos secundários (MALAVOLTA, 2006). O decréscimo do transporte fotossintético de elétrons, como consequência especialmente dos menores teores da plastocianina, uma proteína contendo Cu, diminui a taxa de fixação de CO₂, de tal modo, que o teor de amido e de carboidratos solúveis (especialmente sacarose) é diminuído. Este é o principal fator que causa a redução da produção de matéria seca em plantas que sofrem deficiência de Cu durante o crescimento vegetativo (KIRKBY; RÖMHELD, 2007).

Aumentos nos teores de Mg na parte aérea e raiz, foram observados. O Mg é elemento que compõe a estrutura da molécula de clorofila

(MALAVOLTA, 2006) e seu aumento pode ser um indicativo do aumento da taxa fotossintética, bem como da manutenção do índice SPAD. A aplicação de Sm aumentou as concentrações de Ca nas raízes e a presença do Gd, aumentou a concentração de Ca na parte aérea. O Ca tem a função estabilizadora da parede celular, no sistema de membrana das células e na lamela média, fazendo a ligação entre os radicais das pectinas (EPSTEIN, 1975). A similaridade do raio iônico do Ca com os terras raras possibilita ligações nos mesmos sítios do Ca (BROWN et al., 1990; WANG; TU; WANG, 1998), esperando-se que exista competição entre esses elementos (BROWN, 1990). Shan et al. (2003) estudando a compartimentalização dos elementos, observaram que os elementos La, Ce, Pr e Nd distribuíam-se em folhas de samambaia, 88, 81,89 e 88% respectivamente na parede celular. Todavia, não foi observada essa interação negativa entre os elementos e o Ca, havendo certo estímulo na absorção do elemento nos casos supracitados. Efeitos não significativos (DIATLOFF; SMITH; ASHER, 1995b) ou negativos (GUO et al., 2007) são relatados em literatura.

A aplicação de Sm, Nd e Gd aumentou o teor de K nas raízes. Esse nutriente é ativador enzimático, atua na síntese de ATP, de carboidratos, na migração de fotoassimilados, na respiração, síntese de proteínas e aumenta a utilização da água (MALAVOLTA, 2006). Segundo autores, o La aumenta a estabilidade da membrana, reduzindo danos em plântulas de trigo sob estresse osmótico (ZENG, 1999). Esse efeito pode estar associado, entre outros fatores, à elevação de teores de K nos tecidos vegetais. Esses resultados podem também refletir um efeito sinérgico da aplicação de ETRs e K, concordando com estudos de Liu et al. (2013), que evidenciaram efeitos da aplicação de La na acumulação de K em plantas. Esses autores também evidenciaram o efeito sinérgico do La com Mn, o que também foi observado na parte aérea das plantas estudadas nesse trabalho, seja com Sm, Nd ou Gd. Já nas raízes, os

teores de Mn reduziram ou mostraram-se iguais ao controle. Os teores de Zn aumentaram na parte aérea com a utilização de Sm, Nd e Gd. O Zn é um ativador de várias enzimas (MALAVOLTA, 2006), o aumento nesses teores pode estar relacionado ao aumento da taxa fotossintética. O nutriente Fe teve seu comportamento variável em função do elemento e da concentração aplicada. O Fe é um dos componentes estruturais dos citocromos e das ferredoxinas, na respiração e na fotossíntese (EPSTEIN, 1975). Liu, Lin e Wang (2012) reportaram diminuição dos teores de Fe e Cu em altas concentrações de La, levando a diminuição da atividade fotossintética e produção de biomassa.

Ao se avaliar os acúmulos dos nutrientes observa-se que a soja apresenta-se diferenciada quanto à presença de determinados elementos terras raras. O acúmulo reflete um valor multiplicativo da massa seca produzida pelo teor do nutriente em determinada parte vegetal. Com isso, maiores variações são observadas.

A diminuição de acúmulos de Ca, P, S, K, Cu, Mn na parte aérea e raiz, e de Mg na raiz nas maiores concentrações de Sm estudadas, são consequência da baixa produção de massa seca nessas doses.

Nas raízes, os acúmulos de Mg, P, Ca e Zn não foram alterados em relação ao controle com a utilização de concentrações de Gd. Por outro lado, na parte aérea dessas plantas pode-se observar aumento nos acúmulos de P e Zn, quando as plantas foram submetidas a esse elemento.

Ao se tratar as plantas de soja com Nd, os acúmulos de Ca, Cu, Fe e Zn não foram alterados nas raízes, e nem de P e Fe na parte aérea. Nesse tratamento observou-se redução nos acúmulos de Mn nas raízes e parte aérea, redução dos acúmulos de Zn, Cu, K, S, Mg e Ca em relação ao controle, no maior tratamento utilizado.

Apesar dos ganhos em taxa fotossintética e no acúmulo de alguns nutrientes, essas variáveis não resultaram em um aumento líquido de biomassa,

uma vez que o efeito tóxico do Sm, Gd e Nd nas concentrações estudadas estão interferindo de forma determinante na construção de biomassa nas plantas, devido a estresses promovidos por estes elementos. Os efeitos negativos dos ETRs devem-se à elevada disponibilidade desses elementos em solução nutritiva, que em condições agrícolas podem não causar riscos, quando esses são adicionados ao solo. A elevada reatividade com o fósforo, em pH ideal de cultivo (5,5-6) (DIATLOFF; ASHER; SMITH, 1993), bem como em solução nutritiva, mostra que a solubilidade desses elementos é reduzida no solo cultivável, minimizando a possibilidade de toxidez.

Conclusões

A aplicação de Sm, Gd e Nd em solução nutritiva nas concentrações estudadas, não proporcionaram ganhos de biomassa significativos nas plantas de soja. Com o aumento das suas concentrações, maiores teores e acúmulos de ETRs são observados nas raízes. O coeficiente de fitoextração do Sm, Nd e Gd da solução nutritiva para as plantas é maior, quanto menor a concentração aplicada. A aplicação dos elementos terras raras estudados afetam o balanço nutricional nas plantas de soja, destacando-se o aumento nos teores e acúmulos de P em toda a planta. Os ganhos em taxa fotossintética e acúmulo de alguns nutrientes não resultaram em um aumento líquido de biomassa, uma vez que o efeito tóxico do Sm, Gd e Nd nas concentrações estudadas estão interferindo de forma determinante na construção de biomassa nas plantas, devido ao possível estresse promovido por estes elementos.

Agradecimentos

Os autores agradecem aos financiadores desse trabalho: Instituto de Tecnologia Vale, em cooperação com a Universidade Federal de Lavras, CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais).

REFERÊNCIAS

ADDINGTON, R. N. et al. Stomatal sensitivity to vapor pressure deficit and its relationship to hydraulic conductance in *Pinus palustris*. **Tree Physiology**, Oxford, v. 24, n. 5, p. 561-569, 2004.

BROWN, P. H. et al. Rare earth elements in biological systems. In: GESCHNEIDER, K. A.; HEYRING, L. (Ed.). **Handbook on the physics and chemistry of rare earths**. New York: Elsevier, 1990. v. 13, p. 423-453,

CHEN, W. J. et al. Effect of lanthanide chloride on photosynthesis and dry matter accumulation in Tobacco seedlings. **Biological Trace Element Research**, Clifton, v. 79, p. 169-176, 2001.

DIATLOFF, E.; ASHER, C. J.; SMITH, F. W. Use of GEOCHEM-PC to predict rare earth element (REE) species in nutrient solutions. **Plant and Soil**, The Hague, v. 155/156, p. 251-254, 1993.

DIATLOFF, E.; SMITH, F. W.; ASHER, C. J. Rare earth elements and plant growth: I. Effects of lanthanum and cerium on root elongation of corn and mungbean. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.18, p. 1963-1976, 1995a.

DIATLOFF, E.; SMITH, F. W.; ASHER, C. J. Rare earth elements and plant growth: II. Responses of corn and mungbean to low concentrations of lanthanum in dilute, continuously flowing nutrient solutions. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 18, p. 1977-1989, 1995b.

EPSTEIN, E. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. Rio de Janeiro: LTC, 1975. 341 p.

FASHUI, H. Study on the mechanism of cerium nitrate effects on germination of aged rice seed. **Biological Trace Element Research**, Clifton, v. 87, p. 191-200, 2002.

FERREIRA, D. F. **SISVAR software**: versão 4.6. Lavras: UFLA, 2003.

FOY, C. D.; CHANEY, R. L.; WHITE, M. C. The physiology of metal toxicity in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 29, p. 511-566, 1978.

GUO, B.; LAI, Y.; YAN, Q. Applications of rare earths in animal husbandry. **Zhongguo Xitu Xuebao**, Beijing, v. 11, p. 183-185, 1993.

GUO, X. et al. Distribution and translocation of ^{141}Ce (III) in horseradish. **Annals of Botany**, London, v. 100, p. 1459-465, 2007.

HENRY, J. R. **An overview of the phytoremediation of lead and mercury**. Washington: US Environmental Protection Agency, 2000. 51 p.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water-culture method for growing plants without soil**. California: California Agricultural Experimental Station, 1950. 32 p. (Circular, 347).

HU, X. et al. Bioaccumulation of lanthanum and cerium and their effects on the growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. **Chemosphere**, Oxford, v. 48, p. 621- 629, 2002.

HU, Z. et al. Physiological and biochemical effects of rare earth elements on plants and their agricultural significance: a review. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 27, p. 183-220, 2004.

INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY. **Nomenclature of inorganic chemistry: Iupac recommendations**. Davis, 2005. 366 p.

ISHIKAWA, S.; WAGATSUMA, T.; IKARASHI, T. Comparative toxicity of Al^{3+} , Yb^{3+} and La^{3+} to root-tip cells differing in tolerance to high Al^{3+} in terms of ionic potentials of dehydrated trivalent cations. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 42, p. 613-625, 1996.

KATAOKA, T. et al. Several lanthanides activate malate efflux from roots of aluminium-tolerant wheat. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 25, p. 453-460, 2002.

KIRKBY, E. A.; RÖMHELD, V. Micronutrientes na fisiologia de plantas: funções, absorção e mobilidade. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, v. 118, p. 1-24, 2007.

LIANG, T. et al. A review of fractionations of rare earth elements in plants. **Journal of Rare Earths**, Beijing, v. 26, p. 7-15, 2008.

LIU, D. et al. Effects of lanthanum on growth and accumulation in roots of rice seedlings. **Plant, Soil and Environment**, Praha, v. 59, p. 196-200, 2013.

LIU, D. et al. The effects of cerium on the growth and some antioxidant metabolisms in rice seedlings. **Environmental Science and Pollution Research**, Cham, v. 19, p. 3282-3291, 2012.

LIU, D.; LIN, Y.; WANG, X. Effects of lanthanum on growth, element uptake, and oxidative stress in rice seedlings. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Tharandt, v. 175, p. 907-911, 2012.

LIU, D. L.; YANG, Y. S. Effects of La on seedling diathesi, content of protein and CaM of wheat. **Chinese Rare Earths**, Beijing, v. 18, p. 61-63, 1997.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Ceres, 2006. 638 p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Potafos, 1997. 319 p.

MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. **Fisiologia vegetal: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral**. Viçosa, MG: UFV, 2009. 486 p.

MA, Y. et al. Effects of rare earth oxide nanoparticles on root elongation of plants. **Chemosphere**, Oxford, v. 78, p. 273-279, 2010.

MCDERMITT, D. K. Sources of error in the estimation of stomatal conductance and transpiration from porometer data. **HortScience**, Alexandria, v. 25, p. 1538-1548, 1990.

MINOLTA, C. **Manual for chlorophyll meter SPAD-502**. Osaka: Minolta Radiometric Instruments Divisions, 1989. 22 p.

OLIVEIRA, C. et al. Bioaccumulation and effects of lanthanum on growth and mitotic index in soybean plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 122, p. 136-144, 2015.

PAIVA, H. D. et al. Índice de translocação de nutrientes em mudas de cedro (*Cedrela fissilis* Vell) e de ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* Mart. Standl.) submetidas a doses crescentes de cádmio, níquel e chumbo. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 26, p. 467-473, 2002.

RUÍZ-HERRERA, L. F. Rare earth elements lanthanum and gadolinium induce phosphate-deficiency responses in *Arabidopsis thaliana* seedlings. **Plant and Soil**, The Hague, v. 353, p. 231-247, 2012.

SHAN, X. Q. et al. Labile rhizosphere soil solution fraction for prediction of bioavailability of heavy metals and rare earth elements to plants. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 375, p. 400-407, 2003.

THOMAS, P. J. et al. Rare earth elements (REEs): effects on germination and growth of selected crop and native plant species. **Chemosphere**, Oxford, v. 96, p. 57-66, 2014.

TURRA, C.; FERNANDES, E. A. N.; BACCHI, M. A. Evaluation on rare earth elements of Brazilian agricultural supplies. **Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology**, Tanta, v. 3, p. 86-92, 2011.

TYLER, G. Rare earth elements in soil and plant systems: a review. **Plant and Soil**, The Hague, v. 267, p. 191-206, 2004.

VAN STEVENINCK, R. F. M.; VAN STEVENINCK, M. E.; CHESCOE, D. Intracellular binding of lanthanum in root tips of barley (*Hordeum vulgare*). **Protoplasma**, Wien, v. 90, p. 89-97, 1976.

VON TUCHER, S.; SCHMIDHALTER, U. Lanthanum uptake from soil and nutrient solution and its effects on plant growth. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Tharandt, v. 168, p. 574-580, 2005.

WANG, C. et al. Lanthanum resulted in unbalance of nutrient elements and disturbance of cell proliferation cycles in *Vicia faba* L. seedlings. **Biological Trace Element Research**, Clifton, v. 143, p. 1174-1181, 2011.

WANG, W. L.; TU, C. Q.; WANG, H. Research advance on interaction between metal ion of REEs and enzyme molecule. **Chinese Rare Earths**, Beijing, v. 19, p. 57-65, 1998.

WANG, Z.; ZHANG, X.; MU, Y. Effects of rare-earth fertilizers on the emission of nitrous oxide from agricultural soils in China. **Atmospheric Environment**, Oxford, v. 42, p. 3882-3887, 2008.

WU, Z. et al. The effect of rare earth elements on nodulation and nitrogen fixation of Soybean plants. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON RARE EARTH DEVELOPMENT AND APPLICATIONS, 2., 1985, Beijing. **Proceedings...** Beijing: Science, 1985. p. 1515.

XIA, C. F. et al. Ce(III)-induced rice mitochondrial permeability transition investigated by spectroscopic and microscopic studies. **Biological Trace Element Research**, Clifton, v. 152, p. 284-291, 2013.

XIANGSHENG, L. et al. Application of rare earth phosphate fertilizer in Western Area of China. **Journal of Rare Earths**, Beijing, v. 24, p. 423-426, 2006.

XU, X. et al. Distribution of rare earths and heavy metals in field-grown maize after application of rare earth-containing fertilizer. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 293, p. 97-105, 2002.

ZENG, F. et al. The effects of La(III) on the peroxidation of membrane lipids in wheat seedling leaves under osmotic stress. **Biological Trace Element Research**, Clifton, v. 69, p. 141-150, 1999.

ZHIMANG, G. et al. Effects of fulvic acid on the bioavailability of rare earth elements and GOT enzyme activity in wheat (*Triticum aestivum*). **Chemosphere**, Oxford, v. 44, p. 545-551, 2001.