



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO-UEMA

CENTRO DE ESTUDOS SUPERIORES DE BALSAS – CESBA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E AMBIENTE

RAYANE REIS SOUSA

**CRESCIMENTO, TOLERÂNCIA E POTENCIAL FITORREMEIADOR DE
Canavalia ensiformis L. EM SOLO CONTAMINADO POR COBRE E ZINCO**

BALSAS
2021

RAYANE REIS SOUSA

**CRESCIMENTO, TOLERÂNCIA E POTENCIAL FITORREMEIADOR DE
Canavalia Ensiformis L. EM SOLO CONTAMINADO POR COBRE E ZINCO**

Dissertação de Mestrado apresentada no Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente – PPGAA/CESBA/UEMA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agricultura e Ambiente.

Linha de Pesquisa: Restauração e conservação de ecossistemas

Orientador: Prof^o Dr. Tiago Massi Ferraz

Coorientador: Prof^o Dr. Jorge Diniz de Oliveira

BALSAS

2021

Sousa, Rayane Reis.

Crescimento, tolerância e potencial fitorremediador de *Canavalia ensiformis* L. em solo contaminado por cobre e zinco / Rayane Reis Sousa. – Balsas, MA, 2021.

100 f

Dissertação (Mestrado) – Curso de Agricultura e Ambiente, Centro de Estudos Superiores de Balsas, Universidade Estadual do Maranhão, 2021.

Orientador: Prof. Dr. Tiago Massi Ferraz.

RAYANE REIS SOUSA

**CRESCIMENTO, TOLERÂNCIA E POTENCIAL FITORREMEIADOR DE
Canavalia Ensiformis L. EM SOLO CONTAMINADO POR COBRE E ZINCO**

Dissertação de Mestrado apresentada no Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente – PPGAA/CESBA/UEMA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agricultura e Ambiente.

Linha de Pesquisa: Restauração e conservação de ecossistemas

Orientador: Prof^o Dr. Tiago Massi Ferraz

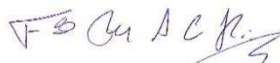
Coorientador: Prof^o Dr. Jorge Diniz de Oliveira

Aprovado em: 27/10/2021

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Tiago Massi Ferraz
Orientador – UEMA



Prof. Dr. Francisco Eduardo A. Catunda-Junior
Examinador interno – UEMASUL



Prof. Dr. Fabrício de Oliveira Reis
Examinador externo-UEMA



Prof. Dr^a Ivaneide de Oliveira Nascimento
Examinador externo – UEMASUL

A Deus, o Senhor da minha vida. *“Porque dele, e por meio Dele, e para Ele são todas as coisas. A Ele, pois, a glória eternamente. Amém!”*

Romanos 11:36

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, meu Senhor, por minha vida. Por estar comigo me amparando, me dando força a cada momento. Por todos os momentos de dificuldades que eu O senti comigo, me fazendo uma pessoa mais forte. Por cada acordar, por cada aprendizado, pelo seu amor incondicional.

Agradeço! Ao meu noivo Diego, por sempre me incentivar e segurar minha mão. Por ter me dado colo e me acalmado sempre que precisei, e também ter chamado minha atenção todas as vezes que precisou, por não ter deixado faltar amor nos meus dias durante todos esses anos.

Aos meu pais Raimundo e Maria Célia, por terem me ensinado o caminho dos estudos, por toda preocupação, cuidado e amor, por terem me dado toda a base para que eu conseguisse ter chegado aqui. A minha irmã Raymara, por ser tão presente em minha vida, dividindo comigo todas as minhas dores e alegrias, desde a nossa existência.

Agradeço! Ao meu orientador Tiago Massi, por todo ensinamento e crescimento obtido nesse mestrado. Ao meu coorientador Jorge Diniz, pela oportunidade de desenvolvimento da pesquisa no laboratório de Química Ambiental, na Uemasul e a Prof^a Ivaneide por ter disponibilizado os materiais e me auxiliado no Laboratório de Microbiologia e aos alunos Wanderson e Kelle por toda ajuda.

Aos meus amigos do mestrado, Valéria, Marciane, Vitor, Mydilany, Juliana, Célio, Henrique, Carol, Raabe, Joelson, Alisson por terem me proporcionado momento de descontração e lazer. Ao grupo de bolsistas do Professor Diniz, em especial ao Nildo Duarte, pela amizade, pelo companheirismo e por toda ajuda na caminhada.

Aos meus amigos, Fredson Leal e Larissa, e minhas primas Jéssica e Adriane, pela amizade tão especial. Aos Pós-doutorandos Thiago Mendes e Swanni por toda atenção, ajuda e ensinamento e a doutoranda Izadora por toda atenção, pela colaboração com o deslocamento dos aparelhos de análises fisiológicas.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) pelo apoio financeiro durante o curso e ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente (PPGAA) pela oportunidade de crescimento pessoal e profissional, por todo apoio e ajuda e ao laboratório Terra Brasileira de Balsas-MA.

RESUMO

A fitorremediação é uma proposta inovadora como metodologia alternativa para a remoção de poluentes orgânicos, sendo o sucesso da técnica condicionado à seleção criteriosa de plantas com características favoráveis. Espécies de leguminosas exibem particularidades favoráveis para crescerem rapidamente em solos degradados, o que é uma qualidade importante quando se considera o potencial para fitorremediação destes contaminantes. Para alcançar o objetivo foram realizadas pesquisas bibliográficas e experimentais, organizados em três capítulos. Desta forma, este estudo teve como objetivo avaliar a resposta fisiológica, determinar a tolerância e o potencial fitorremediador de *C. ensiformis* L. em doses crescentes de cobre e zinco no solo. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em delineamento inteiramente casualizado para ambos os metais. O solo foi tratado com cinco doses (0, 10, 20, 40 e 80 mg kg⁻¹), com quatro repetições, a espécie utilizada foi a *C. ensiformis*. O primeiro capítulo é uma revisão bibliográfica sobre os metais potencialmente tóxicos, cobre, zinco, fitorremediação e *C. ensiformis*. O segundo capítulo teve como objetivo avaliar as respostas fisiológicas de *C. ensiformis* cultivadas em solo com doses crescentes de cobre e zinco. As variáveis analisadas foram: intensidade de verde, índice fotossintético (PI) e contagem do número de nódulos. Além disso, foram analisadas as variáveis de fluorescência da clorofila *a*: fluorescência inicial (F₀), fluorescência máxima (F_m), fluorescência variável (F_v) e eficiência quântica máxima do PSII (F_v/F_m). Os resultados foram submetidos a ANOVA e teste de regressão (p<0,05). Em relação à fluorescência da clorofila *a*, verificou-se que os indivíduos apresentaram taxas fora do normal, indicando condição de estresse, houve diminuição na relação F_v/F_m e na intensidade de verde na dose 80 mg kg⁻¹. Os índices fotossintéticos revelaram que as plantas de *C. ensiformis* são sensíveis a contaminação de Zn e Cu. As maiores doses dos metais provocaram uma menor quantidade de nódulos. Portanto, pode-se concluir que os metais cobre e zinco em níveis elevados ocasionam dano ao metabolismo fisiológico em plantas de *C. ensiformis*. O terceiro capítulo teve como objetivo avaliar o potencial fitorremediador da espécie *C. ensiformis* cultivadas em solo com doses crescentes de cobre e zinco. As variáveis analisadas foram a morfométrica de crescimento: altura, diâmetro do caule e número de folhas, biomassa seca e teores de cobre e zinco da parte aérea e raiz, os índices e fatores de translocação, bioacumulação e tolerância. As plantas de *C. ensiformis* durante o período experimental foram tolerantes aos tratamentos utilizados, no entanto, doses de cobre e zinco no solo acima de 20 mg kg⁻¹, diminuíram o crescimento dessas plantas. Os teores de zinco e cobre foram superiores na parte aérea. O fator de translocação foi superior a 1 para Zn mostrando que para este metal a planta foi fitoextratora. Portanto, pode-se afirmar que *C. ensiformis* é uma alternativa econômica e ecológica para a remediação de metais.

Palavras-chave: Fitorremediação. Feijão-de-porco. Solos-Descontaminação.

ABSTRACT

Phytoremediation is an innovative proposal as an alternative methodology for the removal of organic pollutants, and the success of the technique depends on the careful selection of plants with favorable characteristics. Legume species exhibit favorable characteristics for growing rapidly in degraded soils, which is an important quality when considering the potential for phytoremediation of these contaminants. To reach the objective, bibliographical and experimental researches were carried out, organized in four chapters. Thus, this study aimed to evaluate the physiological response, determine the tolerance and phytoremediation potential of *C. ensiformis* L. in increasing doses of copper and zinc in the soil. The experiment was carried out in a greenhouse, in a completely randomized design for both metals. The soil was treated with four doses, in addition to the control of copper and zinc equivalent to (0, 10, 20, 40 and 80 mg kg⁻¹), with four replications, the species used was *C. ensiformis*. The first chapter is a literature review on potentially toxic metals, copper, zinc, phytoremediation and *C. ensiformis*. The second chapter aimed to evaluate the physiological responses of *C. ensiformis* cultivated in soil with increasing doses of copper and zinc. The variables analyzed were: green intensity, photosynthetic index (PI) and count of the number of nodules. In addition, chlorophyll a fluorescence variables were analyzed: initial fluorescence (F₀), maximum fluorescence (F_m), variable fluorescence (F_v) and maximum FSII quantum efficiency (F_v/F_m). The results were submitted to ANOVA and regression test (p<0.05). Regarding the chlorophyll a fluorescence, it was found that the individuals presented rates outside normal, indicating a stress condition, there was a decrease in the F_v/F_m ratio and in the intensity of green at the dose 80 mg kg⁻¹. Photosynthetic indices revealed that *C. ensiformis* plants are sensitive to Zn and Cu contamination. Higher doses of metals caused fewer nodules. Therefore, it can be concluded that copper and zinc metals at high levels cause damage to physiological metabolism in *C. ensiformis* plants. The third chapter aimed to evaluate the phytoremediation potential of the species *C. ensiformis* cultivated in soil with increasing doses of copper and zinc. The variables analyzed were the growth morphometric: height, stem diameter and number of leaves, dry biomass and copper and zinc contents of shoot and root, translocation indexes and factors, bioaccumulation and tolerance. The plants of *C. ensiformis* during the experimental period were tolerant to the treatments used, however, doses of copper and zinc in the soil above 20 mg kg⁻¹ reduced their growth. Zinc and copper contents were higher in shoots. The FT was greater than 1 for Zn showing that for this metal the plant was phytoextractor. Therefore, it can be stated that *C. ensiformis* is an economic and ecological alternative for metal remediation.

Key words: Phytoremediation. *Canavalia ensiformis*. Soil remediation.

LISTA DE SIGLAS

ABNT: Associação Brasileira de Normas Técnicas

AM: Manhã

ATP: Adenosina trifosfato

Cu: Cobre

CuSO₄: Sulfato de Cobre

CV (%): Coeficiente de Variação

DIC: Delineamento inteiramente casualizado

F₀: Fluorescência inicial

FAAS: Espectrometria de absorção atômica em chama

FB: Fator de Bioacumulação

F_m: Fluorescência máxima

FMA: Fungos Micorrízicos arbusculares

FSII: Fotossistema II

FT: Fator de Translocação

F_v/F_m: Rendimento quântico máximo do fotossistema II

F_v: Fluorescência variável

H₂O: Água

H₂SO₄: Ácido Sulfúrico

HCL: Ácido clorídrico

IT: Índice de Tolerância

IV: Intensidade de Verde

KCL: Cloreto de Potássio

M.O.: Matéria orgânica

MPT: Metais potenciamente tóxicos

NADPH: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

NF: Número de folhas

PA: Parte aérea

pH: Potencial Hidrogeniônico

PI: Índice fotossintético

PM: Tarde

Qa: Quinona *a*

RSU: Resíduos sólidos urbanos

SPAD: Soil Plant Analysis Development

SR: Sistema radicular

TFSA: Terra Fina Seca ao Ar

Zn: Zinco

ZnCl₂: Cloreto de Zinco

SÚMARIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1. Metais potencialmente tóxicos (MPT)	14
2.1.1 Cobre	15
2.1.2 Cobre no solo.....	16
2.1.3 Cobre na planta.....	16
2.1.4 Zinco.....	17
2.1.5 Zinco no solo	18
2.1.6 Zinco na Planta	18
2.2 Fitorremediação.....	19
2.2.1 Plantas fitorremediadoras	21
2.2.2 O uso de leguminosas como fitorremediadoras.....	23
2.3 Métodos instrumentais de análise	25
2.3.1 Espectroscopia de absorção atômica	25
2.3.2 Fatores de bioacumulação (FB) e translocação (FT) e Índice de tolerância (IT)	27
2.3.3 Intensidade de verde	28
2.3.4 Eficiência fotoquímica.....	29
REFERÊNCIAS	31
CAPÍTULO II.....	43
RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE <i>Canavalia ensiformis</i> L. AOS METAIS COBRE E ZINCO	43
1 INTRODUÇÃO	45
2. MATERIAL E MÉTODOS	47
2.1 Material Vegetal e Condições de cultivo.....	47
2.1.1 Dados climáticos.....	48
2.2 Delineamento Experimental	49
2.3 Análises do tecido vegetal e solo	49
2.3.1 Determinação de pH em H ₂ O e KCl.....	51
2.3.2 Determinação da percentagem de matéria orgânica	51

2.3.3 Determinação da capacidade de troca catiônica	51
2.4 Variáveis Fisiológicas	52
2.4.1 Intensidade de Verde	52
2.4.2 Rendimento quântico máximo do fotossistema II (Fv/Fm)	52
2.4.3 Índice fotossintético (PI)	52
2.5 Número de nódulos e nodulação.....	53
2.6 Estatística	53
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	64
REFERÊNCIAS	65
CAPÍTULO III	73
POTENCIAL DE FITORREMEDIAÇÃO DA <i>Canavalia Ensiformis</i> L. PARA COBRE E ZINCO	73
1 INTRODUÇÃO	75
2. MATERIAL E MÉTODOS	77
2.1 Material Vegetal e Condições de cultivo.....	77
2.2 Delineamento Experimental	77
2.3 Variáveis.....	78
2.3.1 Medições dos parâmetros biométricos e acúmulo de biomassa	78
2.4 Experimento de fitorremediação.....	78
2.4.1 Extração de metais biodisponíveis no solo antes e após o plantio	78
2.5 Estatística	80
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	81
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	94
REFERÊNCIAS	95

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO GERAL

A fitorremediação é uma prática biológica que se refere ao uso de plantas na descontaminação de solos poluídos, especialmente com metais pesados, reduzindo seus teores aos níveis seguros à saúde humana, além disso, essa técnica pode contribuir na melhoria das características físicas, químicas e biológicas destes solos (FENG, 2017).

Em países desenvolvidos, como os Estados Unidos, Canadá e Alemanha a fitorremediação vêm crescendo cada vez mais, seja por sua grande viabilidade técnica e/ou econômica (BASU, 2018). No Brasil, há uma carência de dados acerca da relação solo-planta nas condições de clima tropical, condições e tipos de solo, práticas de manejo de culturas na captação e acumulação de metais pesados pelas plantas (DOS SANTOS-ARAÚJO et al., 2017).

A redução do conteúdo de clorofila nas folhas e, por conseguinte, da fotossíntese, devido ao excesso de cobre, está relacionada especialmente com a redução do número e volume dos cloroplastos, cujas organelas são responsáveis pela atividade fotossintética nas plantas (MARTINIS et al., 2013).

O excesso de zinco em plantas pode conduzir à toxicidade por esse elemento, desequilíbrios de nutrientes, inibição do crescimento, clorose foliar e fotossíntese diminuída (LI et al., 2013). Ainda há muito que se estudar sobre as respostas fisiológicas das plantas submetidas ao estresse por metais, pois ainda são poucos os trabalhos envolvendo a fitorremediação com essas espécies.

As plantas fitoextratoras com maior tolerância ao estresse motivado por metais pesados tendem a proporcionar maior potencial de acúmulo com o menor ou nenhum dano oxidativo ou prejuízos as suas condições fisiológicas (SARWAR et al., 2017).

À medida que a planta adquire defesas para tolerar substâncias potencialmente tóxicas, pode conjuntamente, criar sistemas de acúmulo tanto nas raízes, quanto nas folhas e caule (CHAVES et al., 2010; CAIRES, 2011). E em distintas circunstâncias, o acúmulo passa a ser regulado pelo acréscimo das dosagens aplicadas. A adubação verde com leguminosas tem sido uma ótima opção para a recuperação da qualidade física do solo, proporcionando menor resistência do solo a penetração e menor densidade do solo (BONINI, 2012).

Pesquisas alcançadas por Andrade; Tavares; Mahler (2010), Vasconcellos; Pagliuso; Sotomaior (2012), evidenciam que existem plantas específicas para a fitoextração, dentre estas a *Canavalia ensiformis*, conhecida popularmente como feijão-de-porco. Conforme Madalão et

al. (2012), esta planta consegue descontaminar o solo devido a sua alta capacidade de absorção e acumulação interna superior na parte aérea.

Os principais resultados das plantas de cobertura são verificados na melhoria da fertilidade do solo, via fixação de N e ciclagem de nutrientes (CICEK et al., 2014), na melhoria da estrutura do solo, minimizando a formação de camadas compactadas, acrescentando carbono e nitrogênio ao solo (WIESMEIER et al., 2015), e no aumento da variedade faunística, fornecendo significativamente para a melhoria das propriedades físicas, químicas e biológicas do solo (ALMAGRO; MARTÍNEZ-MENA, 2014).

O Cobre é um dos contaminantes mais triviais e não biodegradáveis do solo entre os metais pesados (HOUGH, 2010). A contaminação por Cu em solos agrícolas é muito comum e procede do emprego frequente de fertilizantes e pesticidas para acrescer a produção agrícola e diminuir a incidência de pragas e doenças (GONZAGA et al., 2020).

O Zinco é um elemento químico que se acha presente nos diferentes ambientes naturais como água e solo sendo um oligonutriente fundamental a vida, uma vez que participa de distintos processos bioquímicos (BARRETO, 2010). Como recurso natural é empregado na indústria de galvanização, atribuindo proteção contra corrosão de peças de aço e ferro da corrosão. Neste sentido, além de ser disponibilizado via processos naturais, a sua presença na natureza pode advir em desempenho de ações antrópicas como descarte impróprio de grandes quantidades deste elemento.

A hipótese deste trabalho é que a espécie *C. ensiformis* tem potencial fitoextrator em relação ao cobre e zinco. Espera-se, em função de seu mecanismo de tolerância, por meio do controle dos danos oxidativos, que a espécie apresente também ajustes nos processos fotossintéticos, sem perda considerável de biomassa quando exposta à combinação dos metais Zn, Cu em excesso no solo.

Com isso, o objetivo foi avaliar as respostas fisiológicas, determinar a tolerância e o potencial fitorremediador de *C. ensiformis* aos metais cobre e zinco.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Metais potencialmente tóxicos (MPT)

O Brasil enfrenta um alarmante problema ambiental, que é o gerenciamento de resíduos sólidos, sobretudo sua destinação. Nas últimas décadas, a geração destes resíduos foi significativa à taxa de crescimento populacional, chegando, em 2017, a gerar 214,868 toneladas de resíduos por dia, e um total de 78,4 milhões de toneladas totais no ano. O índice de coleta dos sistemas de limpeza urbana concebe 91% do total gerado, entretanto 9%, ou seja, sete milhões de toneladas de resíduos sólidos urbanos (RSU), ainda são postos em lixões e aterros controlados (ABRELPE, 2017).

A ação antrópica no ambiente é o fator principal quando se trata da contaminação do solo por metais potencialmente tóxicos dentre as quais podemos destacar emissões ocasionadas pelo crescimento caótico de áreas industriais, mineração, uso inadequado de fertilizantes químicos e agentes fitossanitários, e a aplicação no solo de resíduos de esgoto (PANDEY et al., 2016; ZHANG et al., 2010).

Quanto as vias de contaminação dos corpos d'água por metais pesados e difusão da poluição no ambiente, observa-se que as duas predominadoras são: arraste direto para rios e lagos por processos erosivos e percolação no perfil do solo (lixiviação), transmitindo as águas subterrâneas (BARROS et al., 2011).

Ao contrário dos poluentes orgânicos, os metais pesados não podem ser degradados, mesmo quando fontes pontuais de poluição são extraídas (BABIN-FENSKE; ANAND, 2011). Os metais pesados são meios com peso específico maior que 5 g cm^{-3} (BERTOLI et al., 2012). Dessa forma, alguns desempenham função pertinente à nutrição mineral das plantas, como, zinco, ferro, cobre e cobalto, sendo relevantes como micronutrientes (SILVA, 2014).

Os resíduos sólidos produzidos pela sociedade contêm alto potencial produtivo de metais pesados, se destacando o Cádmio (Cd), Cobre (Cu), Chumbo (Pb) e Zinco (Zn). Tais resíduos liberam ou podem liberar metais pesados, chegando o nível de poluição e contaminação junto ao meio ambiente (PINTO FILHO et al., 2012).

Waterlot et al. (2013), observaram a disponibilidade ambiental de Cd, Pb, Zn, Cu e Índio (In) em vinte e sete solos urbanos, aferindo sua fitodisponibilidade, por meio de um experimento conduzido em casa de vegetação. Os resultados mostraram transferência de metais

dos solos contaminados para as plantas estudadas e estabeleceu-se que a toxicidade do metal era pertinente com os níveis de contaminação e as propriedades físico-químicas.

2.1.1 Cobre

Elemento químico de símbolo Cu, proveniente do latim “*cuprum*”, número atômico 29 e de massa atômica 63,6 classificado como metal de transição entre os elementos Níquel e Zinco, tendo seu ponto de fusão a 1085 °C (WINTER, 2021).

O Cobre é flexível, reciclável, resistente à corrosão e a altas temperaturas, é empregado na geração e na transmissão de energia, em fiações e em praticamente todos os aparelhamentos eletrônicos, sendo o terceiro metal mais usado no mundo (VALE, 2015). Em pequenas quantidades é um micronutriente para as plantas, entretanto quando presente em alta concentração no solo, em intervalos superiores a 760 mg kg⁻¹ é considerado tóxico (CETESB, 2019) e danoso ao desenvolvimento das plantas.

A atividade de mineração contribui intensamente para a contaminação ambiental por Cu, sendo que este metal adere facilmente à matéria orgânica presente nos solos. Uma vez que alguns compostos de Cu são solúveis, estes podem com facilidade ser encontrados na água, contaminando a mesma (ALLOWAY, 2010).

Fungicidas à base de cobre são empregados desde 1800, quando a calda bordalesa foi descoberta por acaso na região de Médoc na França e sua eficiência evidenciada contra a proliferação de fungos como o míldio e oídio (MARTINS et al., 2014). Ela é uma mistura composta por sulfato de cobre (CuSO₄) e cal (Ca(OH)₂) usadas em culturas convencionais e orgânicas de frutas e hortaliças (BAURAND et al., 2016).

Fertilizantes e pesticidas empregados para aumentar a produção agrícola e controlar pragas e doenças são os subsídios comuns de contaminação do solo por cobre (GONZAGA et al., 2020). Elevadas concentrações de cobre a partir de 100 mg kg⁻¹ no solo afeta as culturas alimentares, modificando a morfofisiologia vegetal (REHMAN et al., 2019; ZHOU et al., 2019; SALEEM et al., 2020).

Abordar o impacto indesejável do Cu no ambiente do solo, imobilização, limpeza do solo, procedimentos de fitorremediação, o uso *in situ* de materiais verdes são repetidamente identificados entre as melhores metodologias disponíveis para remediar e tornar mínimo a contaminação do solo (WANG et al., 2019a, 2019b). A remediação de solos agrícolas contaminados com Cu é de suma seriedade para evitar a contaminação da cadeia alimentar e manter a produtividade das culturas (GONZAGA et al., 2020).

2.1.2 Cobre no solo

O cobre é o terceiro metal mais comum no mundo ficando atrás apenas do ferro e alumínio, sendo consumido em diversas fabricações, da indústria elétrico-eletrônica a máquinas industriais (LME, 2018). No entanto, a produção de rejeitos e resíduos sólidos derivadas da mineração e sua deposição em barragens requerem cuidados com o meio ambiente.

Segundo Kuhn (2011), a contaminação de solos e da água subterrânea pela aplicação de fungicidas cúpricos, como a calda bordalesa, começou a ser amplamente estudada devido à importância da vitivinicultura em vários países do mundo, inclusive no Brasil, e à verificação de que a aplicação de fungicidas cúpricos a longo prazo, pode levar à contaminação dos solos, da água subterrânea e de produtos da uva.

Boa parte da calda aplicada em cultivos como fungicida tem como destino o solo, devido ao escoamento causado pela chuva ou à queda das folhas (VENDRUSCOLO, 2013). Segundo Silva et al. (2011), torna-se imprescindível a elaboração de estudos que apontem à seleção de plantas tolerantes ao cobre.

2.1.3 Cobre na planta

Os sintomas de deficiência incluem a produção de folhas com cor verde escuro, manchas necróticas que surgem primeiro nas pontas das folhas jovens e se estendem em direção à base da folha ao longo das margens, as folhas também podem ficar retorcidas ou malformadas. Sob deficiência, severa abscisão prematura pode ocorrer. Plantas exibem crescimento atrofiado e seu desenvolvimento radicular é inibido (TAIZ et al., 2017).

Em todas as etapas do crescimento das culturas alimentares, altas concentrações de Cu, nas culturas alimentares, comprometem expressivamente a morfologia e fisiologia das plantas (LI et al., 2018; REHMAN et al., 2019; ZHOU et al., 2019; SALEEM et al., 2020). Nas análises de fitoextração de cobre por meio do feijão-bravo, Zancheta et al. (2011), observaram maiores taxas de transporte do metal para a parte aérea (PA), enquanto outras espécies de plantas como, por exemplo, o sorgo, caracterizou-se como menos hábil nesta técnica.

A fitorremediação é um processo que usa plantas para extrair metais pesados do ambiente pela absorção, acumulação ou transformação do metal em sua biomassa vegetal, sendo uma ferramenta que pode ser aproveitada para a remediação de áreas contaminadas com metais pesados (Quadro 1).

Quadro 1 – Utilização de plantas para a remediação de áreas contaminadas com cobre.

Planta	Cu (II) no solo	Cu (II) na fitomassa	Referência
	-----mg kg ⁻¹ -----		
<i>Trifolium repens</i> L.	1000	850	Wang et al., 2008
<i>Elsholtzia splendens</i> N.F.M	1000	3200	Wang et al., 2008
<i>Trifolium repens</i> L.	317	490	Chen et al., 2006
<i>Rumex japonicus</i> H.	1044	185,6	Ke et al., 2007
<i>Brassica juncea</i> L.	150	188	Ma et al., 2009
<i>Withania somnifera</i> D.	12,7	463	Khatun et al., 2008
<i>Oryza sativa</i> L.	23	49,1	Murakami & Ae, 2009
<i>Arachis pintoiv</i> K.G.	207	800	Andreazza et al., 2011b

Fonte:(Adaptado de ANDREAZZA, Robson et al. 2011)

Zancheta et al. (2011), obtiveram resultados que evidenciaram que as plantas respondem de maneira caracterizada à contaminação do solo por Cu. A variação no grau de redução do crescimento de plantas de milho ratificou a ocorrência de diferenças na tolerância ao excesso de Cu, o que tem sido conexo ao nível de atividade das enzimas que atuam nas estruturas fisiológicas das plantas.

Além disso, vários estudos, incluindo trigo e arroz mostraram que altas concentrações de Cu no solo diminuem o crescimento e a produção de biomassa das plantas, por meio da atividade biológica reduzida e imediata perda de fertilidade (MOSTOFA; FUJITA, 2013).

2.1.4 Zinco

Elemento químico de símbolo Zn, número atômico 30 com massa atômica 65,4 e ponto de fusão 419,5°C (WINTER, 2021). Na atmosfera as deposições podem acontecer por via seca e úmida (chuva) (ALLOWAY, 2013), ainda pode estar adjunto a fontes antrópicas resultantes de atividade industrial e esgoto doméstico.

O zinco possui grande estima ao desenvolvimento econômico, além de ser essencial em vários metabolismos enzimáticos em seres vivos. Entretanto, em altas concentrações pode provocar perturbações gástricas em humanos e se o consumo for prolongado pode gerar anemia e aumentar os riscos cardíacos (RIBEIRO et al., 2013).

Segundo Chaney (2012), possivelmente, a primeira contaminação do solo por Zn, foi por antigas metalúrgicas do mediterrâneo 20 d.C., e mais tarde no século XIII, por metalúrgicas

indianas. Hoje em dia, sua contaminação pode ocorrer, por meio de resíduos industriais de galvanoplastia, não tratados de forma apropriada (RIBEIRO et al., 2013).

2.1.5 Zinco no solo

Esse metal é estimado eficaz em pequenas quantidades, entretanto é nocivo quando presente nos limites acima aos toleráveis pelas espécies vegetais. Tiecher et al. (2016), mediram se o aumento da concentração de Zn em solos do sul do Brasil pode acumular toxicidade às plantas de milho, e a viabilidade da espécie para fitorremediação de solos contaminados com Cu e Zn, obtendo sinais de fitotoxidez e comprometimento do desenvolvimento da espécie estudada causado pelo Zn.

Magalhães et al. (2011), relataram o potencial de duas espécies de eucalipto (*Eucalyptus urophylla* e *Eucalyptus saligna*) para a fitoestabilização de solo contaminado com Zn, coletado em área próxima ao pátio de minério do porto de Itaguaí-RJ e ao local da disposição de resíduos perigosos da Cia Mercantil e Industrial Ingá em Itaguaí-RJ. O solo foi tratado com dois agentes inertizantes: escória de aciaria (alcalino) nas doses de 4 e 6 % e carepa de laminação (óxido de ferro) com dose de 1%.

Párraga-aguado et al. (2013), examinando a influência dos parâmetros do solo na disponibilidade do metal em uma floresta mediterrânica afetada por contaminação de mineração usando a espécie *Pinus halepensis*, notaram que as acículas das plantas presentes nas áreas menos impactadas proporcionaram menores concentrações de Mn e Zn em relação as analisadas em áreas de rejeitos, recomendando essa espécie como adequada a ser empregada na fitorremediação dos mesmos.

2.1.6 Zinco na Planta

O Zn é absorvido pelas plantas predominantemente na forma de Zn^{2+} , é conduzido na planta das raízes para a parte aérea via xilema, entretanto alguns nutrientes podem exibir interações com o Zn, afetando a assimilação do mesmo pelas plantas (YONEYAMA; ISHIKAWA; FUJIMAKI, 2015).

Para os vegetais o Zn é um micronutriente indispensável em baixas concentrações, mas quando presente em altas concentrações pode ter efeitos tóxicos, acarretando danos por estresse oxidativo e interferindo em múltiplos processos fisiológicos, danificando assim o crescimento e desenvolvimento da planta (ROMEO et al., 2014).

O alto teor de Zn no solo impede muitas funções metabólicas dos vegetais, procedendo em crescimento retardado e causa senescência. A toxicidade por Zn também causa clorose nas folhas mais jovens, o que pode estender-se para as folhas mais velhas após exposição prolongada (NAGAJYOTI; LEE; SREEKANTH, 2010; OVEČKA; TAKÁČ, 2014).

O crescimento e a estrutura do vegetal também podem ser afetados negativamente pela toxicidade do Zn. Todeschini et al. (2011), evidenciaram que o Zn em *Populus alba* L. transformou de maneira drástica a morfologia das folhas e causou a formação de cristais de oxalato de cálcio. Vijayarengan & Mahalakshmi (2013), mostraram que a toxicidade desse metal reduziu o comprimento da raiz e da parte aérea, assim como a área foliar em *Solanum lycopersicum* L.

A espécie *Noccaea caerulescens* tem uma alta aptidão de acúmulo de Zn. Foi detectado mais de 2,5% de Zn na parte aérea seca, após duas semanas de crescimento, sem que a planta exibisse sintomas de toxicidade (DINH et al., 2015). Doichinova; Velizarova (2013), examinaram em condições de estufa, o potencial fitorremediador de mudas de Carvalho vermelho (*Quercus rubra*) e Pinho austríaco (*Pinus nigra*), em substratos contaminados com metais Zn e Cu, medindo as concentrações do poluente tanto nas plantas quanto nos substratos ao final do período de estudo, constatou que a bioacumulação e translocação de metais para a parte aérea das plantas dependia intensamente de características essenciais à estrutura da espécie.

Ray; George (2010), examinaram os solos e diversas espécies nativas de plantas em duas rodovias no sul da Índia: Main Central Road e Kottayam-Kumilly. Os autores pesquisaram a concentração de Zn em 19 espécies ao longo destas rodovias, e três espécies se destacaram, a *Cleome rutidosperma* DC. *Peperomia pellucida* (L.) Kunth e *Vernonia cinerea* (L.) acumularam 468,20; 321,40 e 220,66 mg kg⁻¹ na parte aérea, respectivamente. Estas espécies acumularam quantidades de Zn elevados ao limite de tolerância da maioria das espécies de plantas avaliadas. Vale notar que em todas estas espécies, o teor de Zn, na parte aérea, foi igual ao encontrado nos solos de onde foram coletados.

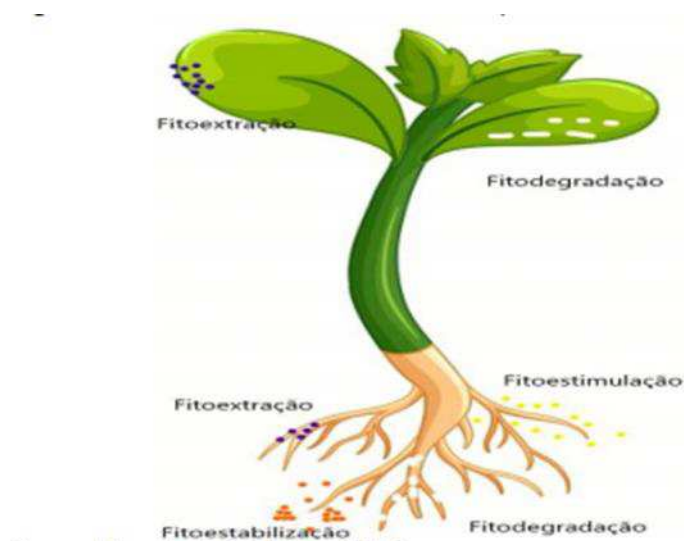
2. 2 Fitorremediação

A fitorremediação está configurada da seguinte forma: fitodegradação, fitotransformação, fitoestimulação, fitoestabilização, fitoextração, rizofiltração, fitoacumulação, fitovolatização e rizodegradação. Sendo que cada procedimento listado apresenta consigo características que restringe ou corrobora para seu uso dependendo das

particularidades onde anseia remediar levando em consideração ao contaminante presente na área (PINHEIRO, 2017).

A Figura 1, demonstra de maneira mais visível como as distintas metodologias da fitorremediação atua de acordo com a situação exposta:

Figura 1-Diferentes técnicas de fitorremediação e locais de onde podem agir.



Fonte: Adaptado de Medeiros (2015).

De acordo com Preussler (2014), a fitorremediação emprega a potencialidade da relação existente entre o solo e a planta para desintoxicar uma determinada área, incumbindo o ato de degradar e neutralizar agentes tóxicos presentes, visando a filtragem dos elementos percolados. A fitoextração é um procedimento ou técnica em constante desenvolvimento para tratamento de solos partindo da descontaminação deste solo, em que incide em atuar onde há presença de metais pesados (LEITE et al., 2019).

Para Santos et al. (2011), as vantagens da fitorremediação residem em: custo inferior as metodologias tradicionais, facilidade em monitorar as plantas em relação a micro-organismos, etc. Já suas desvantagens sobrevêm da possibilidade das plantas empregadas se tornarem plantas daninhas, e da influência do clima e das condições edáficas no crescimento das plantas na área, entre outras. Ainda de acordo com tais autores, é preciso um maior estudo em relação à utilização da técnica mediante e uma ação conjunta de profissionais e com isso habituar-se o melhor procedimento para remediação (remediação) e recuperação de cada tipo de solo.

Fitorremediação é uma tecnologia verde, determinada como o uso de plantas para remover, conter ou tornar potenciais contaminantes inofensivos, como metais, metalóides,

oligoelementos, compostos orgânicos e inorgânicos no solo ou na água (SHARMA; PANDEY, 2014).

Segundo a CETESB (2019), uma área pode ser considerada contaminada quando for confirmada contaminação por qualquer substância, em que seus valores estejam acima dos valores limites de concentração, seja causado pela deposição, acúmulo, acidente ou até mesmo por presença natural do elemento, possuindo assim a necessidade de prevenir ou intervir na área afetada.

Os vegetais se adaptam a ambientes extremamente diferentes, de forma que muitas espécies têm a capacidade de interagir simbioticamente com outros organismos. Essa interação é decisiva para a adaptação em ambientes como solos salinos, ácidos, pobres e ricos em nutrientes ou demasiadamente contaminados com metais (CHIOCHETTA, 2013).

Na fitorremediação os vegetais podem agir de forma direta ou indireta na diminuição ou remoção dos contaminantes. Na remediação direta, os compostos são absorvidos e acumulados ou metabolizados nos tecidos, por meio da mineralização desses compostos. Na forma indireta, os vegetais removem contaminantes das águas subterrâneas, diminuindo assim a fonte de contaminação ou quando a presença de plantas propicia meio adequado ao aumento da atividade microbiana, que degrada o contaminante. Existem vários mecanismos na fitorremediação, dependendo do tipo de contaminante, a planta pode empregar distintos meios para sua remoção (MAGALHÃES et al., 2011).

Dentre os procedimentos de extração de metais pesados do solo, como a retirada da camada de solo contaminada e o bombeamento e tratamento da água, a fitorremediação tem sido a mais empregada, porque a revegetação com plantas fitoextratoras mobiliza os contaminantes do solo, pela transferência de metais pesados para a parte aérea da planta, sem que tenha grandes investimentos financeiros e requerimento de mão de obra (SANTOS, 2015).

2.2.1 Plantas fitorremediadoras

A fitorremediação pode favorecer a estabilização do solo, a produção de biomassa/biocombustível e o sequestro de carbono, uma vez que muitas espécies de plantas mostram uma excelente aptidão de produzir biomassa e acumular vários poluentes ambientais (AFZAL et al., 2014). Em geral, as plantas tratam terras contaminadas sem devastar o solo superficial, conservando ou reformando a utilidade e fertilidade do solo (ALI et al., 2013).

Tantos artifícios, fazem dos vegetais fantásticos cooperadores da minimização da erosão e a lixiviação dos metais pesados, resguardando o lençol freático e águas superficiais (CAIRES

et al., 2011). Para atingir o resultado prometido com o procedimento de fitorremediação é importante o uso de plantas que tenham características de absorção, elevado nível de crescimento, entre outras.

É imprescindível para o sucesso da metodologia a correlação ideal entre solo, planta e o poluente devido as características distintas que cada circunstância pode dispor para remoção ou imobilização do agente poluidor (COUTINHO et al., 2015).

Boechat (2014) expõe, a partir de uma célula bacteriana Gram-negativa, a ação de ATPases que são grupos de proteínas complexas no transporte de metais pesados para o lado de fora da membrana celular bacteriana e com função de conduzir a resistência aos metais pesados. Essas proteínas transportadoras evitam o excesso e acumulação de íons metálicos tóxicos e altamente reativos, como o Pb^{2+} , Cu^{+} , Prata (Ag^{+}), Zn^{2+} e Cd^{2+} .

Souza; Silva; Ferreira (2011), destacam como mecanismos que tornam as plantas adaptadas ao estresse por metais pesados: a compartimentalização, o controle de pH na rizosfera, exsudação de ácidos orgânicos e quelação. Deve-se acrescentar que uma planta pode ter várias estruturas de tolerância.

Segundo Almeida (2012), hoje em dia se utiliza o termo hiperacumuladora de metais para mencionar plantas que acumulam $>10.000 \text{ mg.kg}^{-1}$ de Mn e Zn, $>1.000 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cobalto (Co), Cu, Pb, Níquel (Ni), Arsênio (As) e Selênio (Se) e $>100 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cádmio (Cd). A hiperacumulação é um fenômeno importante, e a base evolutiva de sua seleção tem sido uma improbabilidade desde seu descobrimento.

Esta particularidade encontra-se adjunta a um mecanismo bioquímico como: produção intercelular de compostos ligantes tais como aminoácidos e seus derivados, ácidos orgânicos e fitoquelatinas; alterações nas formas de compartimentalização; alterações no metabolismo celular; e alterações na estrutura da membrana. Sendo que os ligantes mais avaliados são as fitoquelatinas e as metalotioninas (ALMEIDA, 2012).

Jagtap et al. (2014), por sua vez, conferiram três espécies vegetais e suas habilidades de remediar solos contaminados com óleo diesel e potencial para converter sua biomassa em bioetanol, para isso empregaram *Pinus densiflora*, *Populus tomentiglandulosa*, e *Thuja orientalis* cultivadas numa área de solo contaminado com 6000 mg kg^{-1} de óleo diesel.

O solo contaminado com diesel resultou na redução da biomassa vegetal para a maior parte das plantas verificadas. No entanto, em *P. densiflora* a biomassa foi maior, também indicando potencial da espécie em tolerar elevados teores de contaminante (JAGTAP et al., 2014).

2.2.2 O uso de leguminosas como fitorremediadoras

As plantas da família Fabaceae (Leguminosae) têm duas fontes de nitrogênio, o mineral, disponível nos solos ou pela adição de fertilizantes nitrogenados e o nitrogênio fixado biologicamente, por meio da relação simbiótica com bactérias dos gêneros *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Allorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium* e *Mesorhizobium*, genericamente designadas de rizóbio. Desta forma, o crescimento e a produção das leguminosas são, em parte, efeitos da interação entre os cultivares das plantas, as estirpes de rizóbios e as condições ambientais em que a simbiose se desenvolve e que podem afetar a assimilação, distribuição e emprego do carbono e nitrogênio pelas plantas. O nitrogênio disponível para as sementes determina a produção e depende de uma fixação de nitrogênio (FBN) que se espacia até o enchimento dos grãos (NEVES; RUMJANEK, 1997).

Altas temperaturas, em regiões tropicais sem representado um dos principais fatores limitantes à FBN (HUNGRIA; VARGAS, 2000). Outros fatores limitantes foram descritos e agrupados em: características intrínsecas da espécie hospedeira; fatores edáficos; fatores climáticos e fatores relativos à população nativa de rizóbio (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Dentre os fatores edáficos e climatológicos, a acidez e a toxicidade de alumínio e manganês são comuns nos solos tropicais e podem afetar negativamente as simbioses de rizóbio com leguminosas (CARVALHO, 1978; MUNNS; FRANCO, 1981), porém, este efeito muda, de acordo com a espécie vegetal e com a estirpe envolvida na simbiose.

Dentro desse aspecto, o emprego de leguminosas na fitorremediação, assim como na técnica para manutenção ou elevação de matéria orgânica do solo, vêm despertando muito interesse, pois além de adsorverem o nitrogênio atmosférico, têm alta capacidade de produção de biomassa, cooperando para o aumento na fertilidade do solo, reformando a estrutura de microbiota associada a rizosfera, precavendo zonas de aeração, além de impedir a lixiviação de contaminantes pela aderência do contaminado nas estruturas radiculares (PAIVA, 2020).

Várias plantas podem ser empregadas na fitorremediação de solos contaminados com substâncias inorgânicas, destacando-se aquelas espécies da família das leguminosas (QUEIROZ et al., 2014) que são adequadas por serem plantas conhecidas como adubo verde, as quais podem ser aproveitadas em solos agrícolas.

As plantas desta família também têm a capacidade de formar simbiose com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), fungos comuns no solo com grande importância para a nutrição mineral da planta e para o aumento da tolerância a diversos estresses ambientais (ANDRADE et al., 2010).

O uso destes tipos de plantas na agricultura ajuda na retenção de água do solo, de tal modo como aumenta a disponibilidade de nitrogênio (N) no solo por serem estas capazes de se associar simbioticamente com bactérias fixadoras de N₂ experimentadas como rizóbios (MANDAL; BHATTACHARYA, 2012).

A técnica de fitoextração ocorre pela absorção dos contaminantes por meio das raízes e a acumulação/translocação destes contaminantes nas folhas e/ou caules das plantas. É a relação de produtos inorgânicos em tecidos de plantas, tais como os metais pesados (Cd, Cu, Cromo (Cr), Ni, Zn, Pb, Co, Manganês (Mn) e Mercúrio (Hg) (VAMERALI et al., 2010). Determinadas espécies de plantas que podem ser empregadas neste procedimento são: sorgo (*Sorghum bicolor*), milheto (*Pennisetum glaucum*), crotalária (*Crotalaria juncea*) e feijão-deporco (*Canavalia ensiformis*) (MEERS; TACK, 2010).

Dentre as plantas hábeis para fitoextração de As está a *Brassica juncea* que tem boa capacidade de produção de biomassa (NIAZI et al., 2017), e para fitoextração de Pb e Zn estão a *Coincya monensis* e a *Agrostis durieui* que são hiperacumuladoras (FERNÁNDEZ et al., 2017).

2.2.2.1 *Canavalia ensiformis* (L.)

As plantas da família das leguminosas (*Fabaceae*) estão entre as mais frequentes para fitorremediação por oferecerem benefícios em relação a outras plantas que podem ser usadas na fitorremediação de solos contaminados com metais e metaloides (QUEIROZ et al., 2014; BARBOSA et al., 2015).

Pesquisas efetivadas por Vasconcellos; Pagliuso; Sotomaior (2012), confirmam que existem plantas específicas para a fitoextração, dentre estas a *C. ensiformis*, conhecida popularmente como feijão-de-porco. Zancheta (2011), medindo o potencial fitoextrator de Cu por plantas de sorgo (*Sorghum bicolor*), milheto (*Pennisetum glaucum*), crotalária (*Crotalaria juncea*) e feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*), verificou que o teor e acúmulo de Cu nas plantas foram adequados à adição do metal na solução nutritiva, entretanto, foram muito mais elevados no sistema radicular do que na parte aérea.

À medida que a planta adquire defesas para permitir substâncias potencialmente tóxicas, pode conjuntamente, criar sistemas de acúmulo tanto nas raízes, quanto nas folhas e caule (CHAVES et al., 2010, CAIRES, 2011). E em várias situações, o acúmulo passa a ser adequado ao aumento das dosagens aplicadas.

Por sua vez, Zancheta et al. (2011), concluíram que o feijão de porco expôs, na sua pesquisa, maior concentração, acúmulo e transporte de Cu para a parte aérea, sendo uma espécie com potencial para ser empregada em programas de fitorremediação de Cu.

Belo et al. (2011), ao medir a eficiência de espécies *Helianthus annuus*, *Canavalia ensiformis*, *Dolichos lab lab* e *Arachis hypogaea* na remediação em Argissolo Vermelho-Amarelo contaminado com o herbicida sulfentrazone, concluíram que todas as espécies cultivadas são tolerantes ao sulfentrazone e proporcionam potencial de remediação de solo contaminado, todavia os autores destacaram que a espécie *Helianthus annuus* apresenta melhor capacidade de remediação de solo contaminado com esse herbicida (BELO et al., 2011).

Dentre as plantas avaliadas por Assunção (2012), o feijão-de-porco exibiu sintomas de fitotoxicidade durante a fase de crescimento. Concentrou os maiores teores de multimetálicos no caule ($267,08 \text{ mg kg}^{-1}$ de Pb; $21,05 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cd e $270,2 \text{ mg kg}^{-1}$ de Zn). Essa leguminosa apresentou o maior valor (33,92) de fator de translocação = FT para Pb. Exibiu, ainda, o maior valor (1,02) de fator de bioacumulação = FB para cádmio. Assunção (2012) mostrou que entre cinco espécies herbáceas estudadas (feijão-de-porco, grama batatais, mamona, pinhão manso e vetiver), o feijão-de-porco apresentou a maior produção de biomassa.

A capacidade da *C. ensiformis* em fixar o nitrogênio atmosférico em simbiose com os rizóbios beneficia o crescimento de outras culturas companheiras, aumentando seu valor nutricional (PADOVAN et al., 2016; HERNÁNDEZ-FORTE et al., 2017). A biofertilização da canavalia com rizóbios obtidos dos nódulos desta planta e adaptada às condições ácidas do solo, favorece seu estabelecimento no campo.

Com relação aos benefícios da espécie para o controle de plantas daninhas e nematóides, Magalhães; Franco (1962), analisaram que plantas de tiririca, quando submetidas ao tratamento com extrato de nódulos de raízes de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*), comprovaram inibição do brotamento dos tubérculos e folhas cloróticas. Anaya (1999), examinou que folhas de feijão-de-porco, quando adicionadas ao solo, reduzem em mais de 50% o índice de incidência de nematóides de raízes em tomateiros.

2.3 Métodos instrumentais de análise

2.3.1 Espectroscopia de absorção atômica

Ao longo da história da Química, emergiram-se distintas metodologias para caracterizar, quantificar e identificar elementos e compostos numa alíquota. Apesar de apontarem resultados,

pesquisadores ressaltaram que os procedimentos clássicos, como volumetria e gravimetria, não ofereciam resultados com uma alta confiabilidade, visto que por serem processos de alto manuseio humano a acumulação de erros ficaria inerente aos dados alcançados, sobretudo quando as amostras eram de pequena massa.

Além disso, com o avanço da Ciência no século XX, examinar o comportamento de amostras aplicando uma fonte elétrica e emissões, foram fatores que cooperaram para o desenvolvimento de métodos instrumentais, como é o caso da espectroscopia de absorção atômica (CASS; BARREIRO, 2011; SILVA, 2014). A teoria base da espectroscopia de absorção atômica tem embasamentos na absorção de radiação eletromagnética, decorrida de uma fonte de radiação, de átomos gasosos livres no estado fundamental (SOOKG et al., 2008).

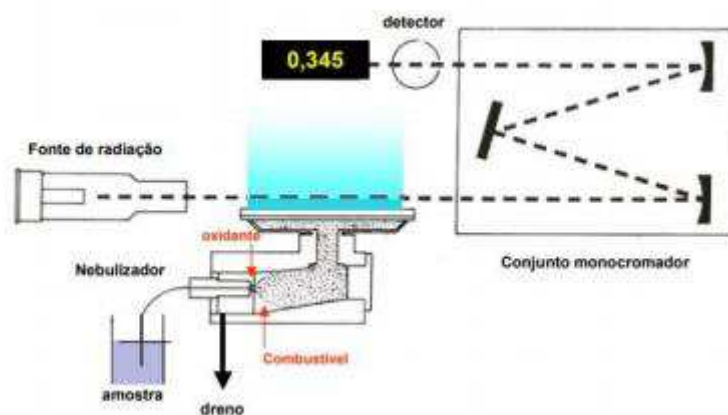
Metodologia criada por Walsh na Austrália e por Alkemade e Milatz na Holanda em 1955, mas o primeiro espectrômetro de absorção atômica comercial só foi ingressado no comércio quatro anos após a criação da técnica, em 1959. A espectroscopia de absorção atômica por chama pode ser empregada para definir quantitativamente cerca de 60 a 70 elementos metálicos e não metálicos, entretanto é um método de característica monoelementar, só é presumível se analisar um elemento por vez (KRUG et al., 2004).

Primeiramente a amostra líquida é succionada até o nebulizador, onde será transformada em um aerossol. Neste momento as gotículas serão escolhidas de acordo com seu tamanho; as maiores serão rejeitadas através do dreno e as menores se juntarão com a mistura de gás combustível/oxidante, sendo estas cerca de 5 a 10%.

Ao chegarem à chama o solvente será evaporado, constituindo um aerossol seco, e então o analito se volatilizará e começará o processo de atomização por meio da energia térmica sucedida da chama. Será então incidido sobre os átomos uma radiação eletromagnética, advinda de uma fonte de radiação no mesmo comprimento de onda em que o elemento em análise absorve.

A radiação eletromagnética não absorvida pelo analito seguirá até o monocromador, que separará apenas a linha espectral vinda da fonte de radiação, apontando para o detector apenas o comprimento de onda desejado, que emitirá o sinal de absorbância. A Figura 2 esquematiza o processo descrito (KRUG et al., 2004).

Figura 2-Esquematização do espectro de absorção atômica com chama.



Fonte: KRUG, F. J., NÓBREGA, J. A., OLIVEIRA, P. V.; **Espectroscopia de Absorção Atômica**; apostila UFJF, 2004.

Nesta técnica é essencial que haja um elevado número de átomos gasosos livres no estado fundamental para que se eleve ao máximo o sinal.

2.3.2 Fatores de bioacumulação (FB) e translocação (FT) e Índice de tolerância (IT)

Conforme Boechat (2014), espécies vegetais que apresentam fator de bioacumulação e fator de translocação maior que um, são potenciais para serem utilizadas como fitoextratoras de metais pesados. Também, de acordo com Souza et al. (2013), quando a relação entre a concentração do elemento na parte aérea e a raiz apresentar valor maior que um, indica que o contaminante é acumulado em sua maioria na parte aérea da planta, o que significa que a planta é hiperacumuladora e pode ser utilizada na fitorremediação.

O FB mede a capacidade da planta em absorver o metal do solo e de bioacumulá-lo na biomassa da parte aérea ou da raiz e as plantas são classificadas em acumuladoras ($FB > 1$), indicadoras ($FB = 1$) e exclusoras ($FB < 1$). Já o FT se refere à capacidade da planta em transportar o metal da raiz à parte aérea e as plantas são classificadas em eficientes ($FT > 1$) e ineficientes ($FT < 1$) (TIWARI et al., 2011).

O índice de tolerância pode ser considerado um parâmetro que indica a capacidade de resposta das plantas ao estresse promovido por substratos contaminados. Para Guterres et al. (2019), esse parâmetro pode ajudar na seleção de plantas para projetos de recuperação de áreas contaminadas.

2.3.3 Intensidade de verde

As clorofilas são os pigmentos biológicos fotossintéticos mais abundosos na Terra (KLUGE et al., 2015). A análise do teor de clorofila nas folhas é um procedimento frequentemente adotado na agricultura para monitorar o desenvolvimento vegetal, fornecendo dados importantes sobre o estado fisiológico, teores de nitrogênio nas folhas e o potencial fotossintético das plantas (RICCARDI et al., 2014; YANG et al., 2015).

A medição direta de clorofila utilizando produtos químicos para a extração é um método destrutivo, complexo e lento, o que induziu ao desenvolvimento de leitores ópticos móveis, fornecendo instrumentos não destrutivos para a estimativa indireta dos níveis de clorofila nas plantas (CORTAZAR et al., 2015).

O uso do clorofilômetro SPAD-502 (Minolta®, Japão) já foi descrito para distintas culturas para medir a intensidade de verde, como em *Eucalyptus dunnii* Maiden (DRANSKI et al., 2016), *Lycopersicon esculentum* Mill. (NOGUEIRA et al., 2018), entre outras. Frequentemente, o teor de clorofila nas folhas é utilizado para estimar o potencial fotossintético das plantas, por causa de sua ligação direta com a absorção e transferência de energia luminosa (CROFT et al., 2017; LUO et al., 2019).

Em todas as fases do desenvolvimento, altas concentrações de Cu, nas culturas alimentares, comprometem expressivamente a morfologia e fisiologia das plantas (LI et al., 2018; REHMAN et al., 2019; ZHOU et al., 2019; SALEEM et al., 2020).

O nível de radiação no momento da medição também intervém na leitura do clorofilômetro. Os cloroplastos alteram sua orientação nas células em resposta ao nível de radiação incidente. Em baixa radiação, os cloroplastos orientam-se ao longo das paredes celulares superiores e inferiores, perpendicularmente ao sentido de incidência da luz, enquanto em alta radiação eles estão determinados, sobretudo, ao longo das paredes verticais das células, paralelamente ao sentido de incidência da luz (TAIZ et al., 2017).

Chaves et al. (2010), avaliando implicações do excesso de Cu e Zn no desenvolvimento inicial de *Jatropha curcas* L., concluíram que essa espécie é tolerante até doses de 75 mg kg⁻¹, e após esse valor teve redução significativa da biomassa. Já Hiraki (2016), medindo o potencial de fitorremediação de *Jatropha curcas* L. perante diferentes concentrações de níquel (Ni), observou que mesmo nas doses de 100 mg kg⁻¹ não possuíram alterações de massa fresca, massa seca e na intensidade de verde, mesmo aos 210 dias após transplante (DAT). Demonstrando que o teor de clorofila, e, tão pouco a assimilação fotossintética de carbono foram afetadas em seu estudo.

Em trabalhos com distintas espécies, como feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* (L.) DC.), milho (*Zea mays* L.) e aveia preta (*Avena strigosa* Schreb.), cultivados em solos com altos teores de Cu e Zn, foram analisados decréscimos nos teores de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenóides (SANTANA et al., 2015; TIECHER et al., 2016a; 2016b).

Segundo Pinto (2016), o arroz no Neossolo (V=50%) com Cu, apresentou 14,2 unidades SPAD. Essa variação na intensidade de verde na cultura do arroz foi causada pelos efeitos iniciais da toxidez do Cu, visto que essa medida foi realizada nos primeiros estádios vegetativos. Videiras submetidas a altas concentrações de Cu também exibiram redução acentuada de pigmentos fotossintéticos (CAMBROLLÉ et al., 2013b; ROSA et al., 2014).

2.3.4 Eficiência fotoquímica

O uso de parâmetros de fluorescência tem sido difundido sobretudo no estudo de fotossíntese por ser um método que, além de não destrutivo, permite avaliar qualitativa e quantitativamente a absorção e o aproveitamento da energia luminosa através do fotossistema II e as possíveis relações com a capacidade fotossintética (FERRAZ et al., 2014).

O índice fotossintético (“*Photosynthetic index*”, PI), é estimado o mais sensível aos efeitos dos estresses do que a relação F_v/F_m devido à combinação de 3 passos da atividade fotossintética dos centros de reações do FSII: a densidade dos centros de reação ativos com base na quantidade de moléculas de clorofilas, ou seja, a eficiência na absorção de luz (RC/ABS); a probabilidade de captura da energia luminosa, i.e., a capacidade de reduzir Q_a (F_v/F_0); esta relação está relacionada com a atividade do complexo de liberação do oxigênio no lado doador do FSII (KALAJI et al., 2017); e a taxa de transporte de elétrons (ET/TR-ET); representa a conversão da energia luminosa para o transporte de elétrons no FSII, ou seja, a contribuição das reações bioquímicas. A avaliação desses componentes permite examinar a atividade dos fotossistemas II e I (STRASSER et al., 2000; COUTO et al., 2014).

Fisiologicamente, o excesso de Cu e Zn gera aumento na síntese de proteínas e enzimas envolvidas na defesa aos danos oxidativos (YANG et al., 2011), alteração no transporte de elétrons da fotossíntese e fotoinibição (CAMBROLLÉ et al., 2015). Além disso, o estresse por Cu e Zn pode danificar a estrutura das raízes (AMBROSINI et al., 2015; BOCHICCHIO et al., 2015), o que pode diminuir a absorção de água e nutrientes minerais do solo e, do mesmo modo, diminuir o crescimento das plantas (AMBROSINI et al., 2016).

Ainda, a fotossíntese das plantas expostas a contaminação por metais pesados é afetada, uma vez que, estes elementos podem enfraquecer os níveis de clorofila e carotenóides, pela

inativação das enzimas responsáveis pela biossíntese destes pigmentos. Vários autores confirmaram a sensibilidade do aparato fotossintético aos metais pesados (KURSCHEIDT, 2013; PIO et al., 2013; PEREIRA, 2014). Conquanto, consequências danosas a cadeia transportadora de elétrons são descritas, de tal modo como inativação das enzimas do ciclo de Calvin e decréscimo na condutância estomática (SOUZA et al., 2013).

Em concentrações elevadas, o cobre pode reduzir expressivamente fluorescência da clorofila *a*. Nair et al. (2014) pesquisando a toxicidade das nanopartículas de óxido de cobre em plântulas de feijão (*Vigna radiata* L.) confirmam em seus resultados, o teor baixo da fluorescência da clorofila *a*.

Concentrações alterando de 40 mg kg⁻¹ para solo arenoso e 100 mg kg⁻¹ para solo argiloso de cobre, são consideradas como excessivas. Plantas desenvolvendo nestas condições podem exibir necrose das folhas, desfolhamento precoce e redução no crescimento do sistema radicular. Esta condição pode alterar os processos fotossintéticos e respiratórios, atividade enzimática, síntese de DNA, integridade da membrana, afetando de maneira drástica o crescimento e produtividade, causando danos às folhas e raízes e alterações ultraestruturais e anatômicas, induzindo à formação de espécies reativas de oxigênio (MENDONÇA, 2020).

A toxicidade de Zn inibe a funcionalidade e eficiência do sistema fotossintético em distintas espécies de plantas. Vassilev et al. (2011), em *Phaseolus vulgaris* L., Mirshekali et al. (2012), em *Sorghum bicolor* L. e Lalelou, Shafagh-Kolvanagh; Fateh (2013), em *Cucurbita pepo* L. mostraram que a concentração excessiva de Zn²⁺ diminuiu o conteúdo de pigmentos fotossintéticos como clorofila *a* e clorofila *b* ao inibir a absorção e translocação de Ferro (Fe) e Magnésio (Mg) ao cloroplasto. O alto nível de Zn²⁺ pode originar um declínio na fluorescência inicial e máxima da clorofila, procedendo na diminuição da atividade do fotossistema II (TSONEV; LIDON, 2012).

Em condições de estresse, as plantas podem proporcionar também redução acentuada na eficiência quântica máxima do FSII (Fv/Fm). O decréscimo deste parâmetro já foi ressaltado em diferentes estudos com videiras e plantas de cobertura (CAMBROLLÉ et al., 2013a; SANTANA et al., 2015; TIECHER et al., 2016a; 2016b) e se distingue como um estado de fotoinibição crônica.

REFERÊNCIAS

- ABRELPE - Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais. **Panorama dos Resíduos Sólidos no Brasil**. São Paulo, 2017.
- AFZAL, N.; DEVARAJAN, M.; IBRAHIM, K. Growth of polycrystalline indium aluminum nitride thin films on silicon (111) substrates. **Materials science in semiconductor processing**, v. 27, p. 975-984, 2014.
- ALI, H. H., TANVEER, A., NADEEM, M. A., JAVAID, M. M., KASHIF, M. S., CHADHAR, A. R. Efeitos alelopáticos de *Rhynchosia capitata* na germinação e crescimento das mudas de mungbean. **Planta Daninha**, v. 31, n. 3, p. 501-509, 2013.
- ALLOWAY, B. J. Bioavailability of elements in soil. In: **Essentials of medical geology**. Springer, Dordrecht, p. 351-373, 2013.
- ALLOWAY, B.J. **Heavy Metals in Soils – Trace metals and metalloids in soils and their bioavailability**. New York: Springer. p. 11-493. 2010.
- ALMAGRO, M.; MARTÍNEZ-MENA, M. Litter decomposition rates of green manure as affected by soil erosion, transport and deposition processes, and the implications for the soil carbon balance of a rainfed olive grove under a dry Mediterranean climate. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 196, n. 10, p. 167-177, 2014.
- ALMEIDA, R. F de. Plantas acumuladoras de metais pesados no solo – uma revisão. **Revista de Biotecnologia & Ciência**. v. 2, nº 1, p.28-46. 2012.
- AMBROSINI, V. G.; ROSA, D. J.; BASSO, A.; BORGHEZAN, M.; PESCADOR, R.; MIOTTO, A.; MELO, G. W. B. de; SOARES, C. R. F. S.; COMIN, J. J.; BRUNETTO, G. Liming as an ameliorator of copper toxicity in black oat (*Avena strigosa Schreb.*). **Journal of Plant Nutrition**. 2016.
- AMBROSINI, V. G.; ROSA, D. J.; PRADO, J. P. C.; BORGHEZAN, M.; MELO, G. W. B. de; SOARES, C. R. F. de S.; COMIN, J. J.; SIMÃO, D. G.; BRUNETTO, G. Reduction of copper phytotoxicity by liming: a study of the root anatomy of young vines (*Vitis labrusca L.*). **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 96, p. 270-280. 2015.
- ANAYA, A. L. Allelopathy as a tool in the management of biotic resource in agroecosystems. **Crit. Rev. Plant Sci.**, v.18, n.6, p.697-738, 1999.
- ANDRADE J.A, AUGUSTO F, JARDIM I.C.S.F. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados. **Eclética Química** v. 35: p. 17-43. 2010.
- ANDRADE, J. C. M.; TAVARES, S. R. L. MAHLER, C. F. Fitorremediação: o uso de plantas na melhoria da qualidade ambiental. 1. ed. São Paulo: **Oficina de textos**, 2010.
- ANDREAZZA, R.; BORTOLON, L.; PIENIZ, S.; GIACOMETTI, M.; ROEHRS, D.D.; LAMBAIS, M.R. E CAMARGO, F.A.O. Potential phytoextraction and phytostabilization of perennial peanut on copper contaminated vineyard soils and copper mining waste. **Biological Trace Element Research**, v.143, n. 3, p. 1729-1739. 2011.

ASSUNÇÃO, S. J. R. **Seleção de plantas para fitorremediação de chumbo, cádmio e zinco de uma área contaminada na Bacia do Rio Subaé**. 2012. 100f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

BABIN, F; ANAND, J. Patterns of insect communities along a stress gradient following decommissioning of a Cu-Ni smelter. **Environ Pollut**, v.159, n.10, p. 3036-43. 2011.

BARBOSA B., BOLÉO S., SIDELLA S., COSTA. J., DUARTE M. P., MENDES B., CASENTINO S L., FERNANDO A. L. Phytoremediation of Heavy Metal-Contaminated Soils Using the Perennial Energy Crops *Miscanthus spp.* and *Arundo donax L.* **BioEnergy Research**. v. 8(4), p. 1500-1511. 2015.

BARRETO, A. S. **Seleção de macrófitas aquáticas com potencial para remoção de metais-traço em fitorremediação**. 2010. 81 f. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio ambiente e Recursos Hídricos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

BARROS Y.J, MELO V.F, KUMMER L, SOUZA L.C.P, AZEVEDO J.C. Indicadores físicos e químicos de qualidade de solos de área de mineração e metalurgia de chumbo. **Seminário: Ciências Agrárias** v. 32, p. 1385-1404. 2011.

BASU, S., RABARA, R.C., NEGI, S. **Engineering PGPMOs through Gene Editing and Systems Biology: A Solution for Phytoremediation?** v. 36, n. 5, p.499–510. 2018.

BAURAND, PE, DALLINGER, R., CAPELLI, N., DE VAUFLEURY, A. Metallothionein gene expression in embryos of the terrestrial snail (*Cantareus aspersus*) exposed to cadmium and copper in the Bordeaux mixture. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 4, p. 3068–3072, 2016.

BELO, A. F., COELHO, A. T. C. P., FERREIRA, L. R., SILVA, A. A., SANTOS, J. B. Potencial de espécies vegetais na remediação de solo contaminado com sulfentrazone. **Planta Daninha**. v. 29, n. 4, p. 821-828. 2011.

BERTOLI, A. C.; CANNATA, M. G.; CARVALHO, R.; BASTOS, A. R. R.; FREITAS, M. P.; AUGUSTO, A. S. *Lycopersicum esculentum* submitted to Cd-stressful conditions in nutrition solution: Nutrient contents and translocation. **Ecotoxicology Environmental Safety**, v.86, p.176, 2012.

BOCHICCHIO, R.; SOFO, A.; TERZANO, R.; GATTULLO, C. E.; AMATO, M.; SCOPA, A. Root architecture and morphometric analysis of *Arabidopsis thaliana* grown in Cd/Cu/Zn-gradient agar dishes: A new screening technique for studying plant response to metals. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 91, p. 20-27. 2015.

BOECHAT, C. L. **Biorremediação de solos contaminados por metais pesados em áreas de beneficiamento de minério de ouro**. 2014, 105 p. Tese (Doutorado), Faculdade de Agronomia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2014.

BONINI, C.S.B; ALVES, M. C. Qualidade física de um Latossolo Vermelho em recuperação há dezessete anos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 16, p. 329-336, 2012.

CAIRES S.M, FONTES M.P.F, FERNANDES R.B.A, NEVES J.C.L, FONTES R.L.F Desenvolvimento de mudas de cedro-rosa em solo contaminado com cobre: tolerância e potencial para fins de fitoestabilização do solo. **Revista Árvore** v. 35, p. 1181-1188. 2011.

CAMBROLLÉ, J.; GARCÍA, J. L.; FIGUEROA, M. E.; CANTOS, M. Evaluating wild grapevine tolerance to copper toxicity. **Chemosphere**, v. 120, p. 171-178. 2015.

CAMBROLLÉ, J.; MANCILLA-LEYTÓN, J. M.; MUÑOZ-VALLÉS, S.; FIGUEROALUQUE, E.; LUQUE, T.; FIGUEROA, M.E. Effects of copper sulfate on growth and physiological responses of *Limoniastrum monopetalum*. **Environmental Science and Pollution Research**. 2013b. DOI 10.1007/s11356-013-1833-4.

CASS, Q. B.; BARREIRO, J. C. **Os avanços tecnológicos na química analítica: sucessos e desafios**. Ciência e Cultura, v. 63, p. 37-40, 2011.

CETESB- COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo**. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/>. Acesso em 19 de dez. de 2020.

CETESB- COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Relatório de áreas contaminadas do Estado de São Paulo**. São Paulo: Cetesb, 2015.

CHAVES L.H.G, MESQUITA E.F, ARAUJO D.L, FRANÇA C.P. Crescimento, distribuição e acúmulo de cobre e zinco em plantas de pinhão-manso. **Revista Ciência Agronômica**. v.41, p. 167-176. 2010.

CHANEY, R. L., BROWN, S. L., LI, Y. M., ANGLE, J. S., STUCZYNSKI, T. I., DANIELS, W. L., ... & COMPTON, H. Progress in risk assessment for soil metals, and *in-situ* remediation and phytoextraction of metals from hazardous contaminated soils. **Proc. US-EPA Phytoremediation: State of Science**, Boston, MA. 2000.

CHEN, Y.X.; WANG, Y.P.; WU, W.X.; LIN, Q. E XUE, S.G. Impacts of chelate-assisted phytoremediation on microbial community composition in the rhizosphere of a copper accumulator and non-accumulator. **Science of the Total Environment**. v.356, n. 1-3. p.247-255. 2006.

CHIOCHETTA, C. G. **Remediação de solo ácido pelo uso de resíduos sólidos agroindustriais**: estudo dos aspectos físico-químicos, ecotoxicológicos e agrônômicos. 2013. 118 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, Sc, 2013.

CICEK, H., MARTENS, J. R. T., BAMFORD, K. C., ENTZ, M. H. Effects of grazing two green manure crop types in organic farming systems: N supply and productivity of following grain crops. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 190, n. 6, p. 27-36, 2014.

CORTAZAR, B.; KOYDEMIR, H. C.; TSENG, D.; FENG, S.; OZCAN, A. Quantification of plant chlorophyll content using google glass. **Lab on a Chip**, v. 15, n. 7, p. 1-9, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4366296/>. DOI: 10.1039/c4lc01279h.

COUTINHO, P.; CADORIN, D.; NORETO, L.; GONÇALVES JR, A. Alternativas de remediação e descontaminação de solos: biorremediação e fitorremediação. **Nucleus (Online)**, Ituverava, v.12, n.1, p. 59-68, 2015.

COUTO, T. R.; SILVA, J. R.; NETO, A. T.; CARVALHO, V. S.; CAMPOSTRINI, E. Eficiência fotossintética e crescimento de genótipos de abacaxizeiro cultivados *in vitro* em diferentes qualidades de luz, tipos de frasco de cultivo e concentrações de sacarose. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 2, p. 459-466, 2014.

DINH, N. T.; VU, D. T.; MULLIGAN, D.; NGUYEN, A. V. Accumulation and distribution of zinc in the leaves and roots of the hyperaccumulator *Noccaea caerulescens*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 110, p. 85–95, 2015.

DOICHINOVA, V.; VELIZAROVA, E. Reuse of Paper Industry Wastes as Additives in Phytoremediation of Heavy Metals Polluted Substrates from the Spoil Banks of the Kremikovtsi Region, Bulgaria. **Procedia Environmental Sciences**, [s.l.], v. 18, p.731-736, 2013. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.proenv.2013.04.099.

DOS SANTOS-ARAÚJO, S. N., SWARTJES, F. A., VERSLUIJS, K. W., MORENO, F. N., ALLEONI, L. R. Soil–plant transfer models for metals to improve soil screening value guidelines valid for São Paulo, Brazil. **Environmental monitoring and assessment**. v.189, n.12, p.1-24. 2017.

DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. M. Estimating chlorophyll content from *Eucalyptus dunnii* leaves by reflectance values. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 3, p. 1277-1283, 2016. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/4457/445746397047.pdf>. DOI: 10.5433/1679- 0359.2016v37n3p1277.

FENG, L.; EL-GANAINY, R.; GE, Li. Non-Hermitian photonics based on parity–time symmetry. **Nature Photonics**, v. 11, n. 12, p. 752-762, 2017.

FERNÁNDEZ S., POSCHENRIEDER C., MARCENÒ C., GALLEGO J. R., JIMÉNEZ-GÁMEZ D., BUENO, A., AFIF, E. Phytoremediation capability of native plant species living on Pb-Zn and Hg, As mining wastes in the Cantabrian range, north of Spain. **Journal of Geochemical Exploration**. v.174. p.10-20, 2017.

GONZAGA, M. I. S., MATIAS, M. I. D. A. S., ANDRADE, K. R., DE JESUS, A. N., DA COSTA CUNHA, G., DE ANDRADE, R. S., DE JESUS SANTOS, J. C. Aged biochar changed copper availability and distribution among soil fractions and influenced corn seed germination in a copper-contaminated soil. **Chemosphere**. v.240, p. 124-828, 2020

GUTERRES, J., ROSSATO, L., DOLEY, D., PUDMENZKY, A., BEE, C., & COBENA, V. Assessing germination characteristics of Australian native plant species in metal/metalloid solution. **Journal of hazardous materials**. v.364, p.173-181. 2019.

HERNÁNDEZ-FORTE, I., NÁPOLES-GARCÍA, M. C., ROSALES-GENQUI, P. R., RAMÍREZ-PEDROSO, J. F., PONTE-BETANCOURT, S. Tolerancia a la acidez de rizobios provenientes de nódulos de *Canavalia ensiformis*. **Cultivos Tropicales**, v.38. n.3, p. 55-57, 2017.

HIRAKI, S. S. **Tolerância e potencial fitorremediador de *Jatropha curcas* L. aos metais níquel e cobre**. 2016, 86p. Tese, Campus de Botucatu, Doutorado em Ciências Biológicas (Botânica), AC: Fisiologia Vegetal BOTUCATU, 2016.

HOUGH, S. E., ALTIDOR, J. R., ANGLADE, D., GIVEN, D., JANVIER, M. G., MAHARREY, J. Z., YONG, A. Localized damage caused by topographic amplification during the 2010 M 7.0 Haiti earthquake. **Nature Geoscience**. v. 3, n.11, p. 778-782, 2010.

JAGTAP, S. S., WOO, S. M., KIM, T. S., DHIMAN, S. S., KIM, D., LEE, J. K. Phytoremediation of diesel-contaminated soil and saccharification of the resulting biomass. **Fuel**. v. 116, p. 292-298. 2014.

KALAJI, H. M., SCHANSKER, G., BRESTIC, M., BUSSOTTI, F., CALATAYUD, A., FERRONI, L., BAĞA, W. Frequently asked questions about chlorophyll fluorescence, the sequel. **Photosynthesis Research**, v. 132, n.1, p. 13-66, 2017.

KE, W.; XION, Z-T.; CHEN, S.; CHEN, J. Effects of copper and mineral nutrition on growth, copper accumulation and mineral element uptake in two *Rumex japonicus* populations from a copper mine and an uncontaminated field sites. **Environmental and Experimental Botany**, v. 59, n.1. p.59-67, 2007.

KHATUN, S.; ALI, M.B.; HAHN, E.J. E PAEK, K.Y. Copper toxicity in *Withania somnifera*: Growth and antioxidant enzymes responses of *in vitro* grown plants. **Environmental and Experimental Botany**, v.64, n.3. p.279-285, 2008.

KLUGE, R. A.; TEZOTTO-ULIANA, J. V.; SILVA, P. P. M. Aspectos fisiológicos e ambientais da fotossíntese. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 1, p. 56-73, 2015. Disponível em: <http://rvq.sbq.org.br/imagebank/pdf/v7n1a04.pdf>. DOI: 10.5935/1984-6835.20150004

KRUG, F. J., NÓBREGA, J. A., OLIVEIRA, P. V.; **Espectroscopia de Absorção Atômica**; apostila UFJF, 2004.

KUHN, I. A. **análise multi-elementar e transferência de metais e isótopos de chumbo no sistema planta – solo - água subterrânea em área contaminada por calda bordalesa na região vinífera de Palomas, município de Santana do Livramento, RS**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Geologia). Instituto de Geociências, Porto Alegre, 2011.

KURSCHEIDT, E. C. D. S. **Avaliação da fitorremediação como alternativa de pós tratamento de lixiviado de aterro sanitário utilizando macrófitas**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

LALELOU, F. S.; SHAFAGH-KOLVANAGH, J.; FATEH, M. Effect of various concentrations of zinc on chlorophyll, starch, soluble sugars and proline in naked pumpkin

(*Cucurbita pepo*). **International Journal of Farming and Allied Sciences**, v. 2, n.24, p. 1198–1202, 2013.

LEITE, M.; GUAJAJARA, E. P. V.; SILVA, S.; DA SILVA, W. L.; DOS SANTOS, S. C. Fitorremediação de Solo Contaminado por Metais Pesados. **Cadernos de Prospecção**, Salvador, ano 2019, v. 12, ed. 2, p. 327-335, 2019.

LI, L., ZHANG, K., GILL, R. A., ISLAM, F., FAROOQ, M. A., WANG, J., ZHOU, W. Ecotoxicological and Interactive Effects of Copper and Chromium on Physiochemical, Ultrastructural, and Molecular Profiling in *Brassica napus* L. **BioMed Research International**, [s. l.], v. 2018, p. 924-8123, 2018. DOI: 10.1155/2018/9248123.

LI, X., YANG, Y., JIA, L., CHEN, H., WEI, X. Zinc-induced oxidative damage, antioxidant enzyme response and proline metabolism in roots and leaves of wheat plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 89, p. 150-157, 2013.

LME- LONDON METAL EXCHANGE. **Cooper**. 2018. Disponível em: <https://www.lme.com/enGB/Metals/Non-ferrous/Copper#tabIndex=0>. Acesso em: 10 ago. 21.

MA, Y; RAJKUMAR, M., FREITAS, H. Inoculation of plant growth promoting bacterium *Achromobacter xylosoxidans* strain Ax10 for the improvement of copper phytoextraction by *Brassica juncea*. **Journal of Environmental Management**, v. 90, n.2. p. 831-837. 2009.

MADALÃO, J.C, PIRES, F.R, CHAGAS, K., CARGNELUTTI FILHO, A. E PROCÓPIO, SO Uso de leguminosas na fitorremediação de solo contaminado com sulfentrazone. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.42, p.390-396, 2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S1983-40632012000400001>.

MAGALHÃES, M. O. L., AMARAL SOBRINHO, N. M. B. D., SANTOS, F. S. D., & MAZUR, N. Potencial de duas espécies de eucalipto na fitoestabilização de solo contaminado com zinco. **Revista Ciência Agronômica**, v.42, n.3, p. 805-812, 2011.

MAGALHÃES, A. C.; FRANCO, C. M. Toxicidade do feijão-de-porco sobre tiririca. **Bragantia**, v. 21, p.53-57, 1962.

MANDAL S.M., BHATTACHARYYA R. Rhizobium–legume symbiosis: a model system for the recovery of metal-contaminated agricultural land. In: **Toxicity of Heavy Metals to Legumes and Bioremediation**. Springer Vienna, p.115-127. 2012.

MARQUES, M.; AGUIAR, C. R. C.; SILVA, J. J. L. S. da. Desafios técnicos e barreiras sociais, econômicas e regulatórias na fitorremediação de solos contaminados. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, v. 35, p. 1-11, 2011.

MARTINIS, J., GLAUSER, G., VALIMAREANU, S., STETTLER, M., ZEEMAN, S. C., YAMAMOTO, H., KESSLER, F. ABC 1 K 1/PGR 6 kinase: a regulatory link between photosynthetic activity and chloroplast metabolism. **The Plant Journal**, v.77, n.2, p. 269-283. 2014.

MARTINS, V., TEIXEIRA, A., BASSIL, E., BLUMWALD, E., GERÓS, H. Metabolic changes of *Vitis vinifera* berries and leaves exposed to Bordeaux mixture. **Plant Physiology and Biochemistry**. v. 82, p. 270-278. 2014.

MEDEIROS, T. A. de M. **Efeito fitotóxico e potencial remediador de três espécies vegetais contaminadas com benzeno**. 2015. 154 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Campus Experimental de Sorocaba, 2015.

MEERS, E., TACK, F. Assisted Phytoextraction: Helping Plants to Help Us. *Elements – An Internacional Magazine of Mineralogy, Geochemistry and Petrology: Sustainable Soil Remediation*, v. 6, n. 6, p. 383-388, 2010.

MENDONÇA, G. **Tolerância e potencial fitorremediador de *Crotalaria juncea* em solos contaminados por boro, cobre e manganês**. (Tese de doutorado) Faculdade de Engenharia (FEIS) - Ilha Solteira. UNESP. 2020. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/202510>. Acesso em: 26 de fev. 2021.

MIRSHEKALI, H., HADI, H. A. S. H. E. M., AMIRNIA, R., KHODAVERDILOO, H. Effect of zinc toxicity on plant productivity, chlorophyll and Zn contents of sorghum (*Sorghum bicolor*) and common lambsquarter (*Chenopodium album*). **International journal of agriculture: research and review**, v. 2. n.3, p. 247-254. 2012.

MOSTOFA, M. G; FUJITA, M. O ácido salicílico alivia a toxicidade do cobre em mudas de arroz (*Oryza sativa* L.) por meio da regulação positiva dos sistemas antioxidante e glioxalase. **Ecotoxicology**, v. 22, n. 6, p. 959-973, 2013.

MURAKAMI, M. E AE, N. Potential for phytoextraction of copper, lead, and zinc by rice (*Oryza sativa* L.), soybean (*Glycine max* [L.] Merr.), and maize (*Zea mays* L.). **Journal of Hazardous Materials**, v.162, n. 2-3, p. 1185-1192. 2009.

NAGAJYOTI, P. C.; LEE, K. D.; SREEKANTH, T. V. M. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 8, n. 3, p. 199–216, 2010.

NAIR, P. M. G., KIM, S. H., CHUNG, I. M. Copper oxide nanoparticle toxicity in mung bean (*Vigna radiata* L.) seedlings: physiological and molecular level responses of *in vitro* grown plants. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 36, n.11, p. 2947-2958. 2014.

NIAZI N. K., BIBI, I., FATIMAH A., SHAHID, M., JAVED M. T., WANG, H., SHAKOOR, M. B. Phosphate-assisted phytoremediation of arsenic by *Brassica napus* and *Brassica juncea*: Morphological and physiological response. **International journal of phytoremediation**. v. 19, n. 7, p.670-678. 2017.

OVEČKA, M.; TAKÁČ, T. Managing heavy metal toxicity stress in plants: biological and biotechnological tools. **Biotechnology advances**, v. 32, n. 1, p. 73–86, 2014.

PADOVAN, M. P., CARNEIRO, L. F., FELISBERTO, G., NASCIMENTO, J. S., CARNEIRO, D. N. M. Milho cultivado em sucessão a adubos verdes em sistemas sob bases agroecológicas. **Revista Agroambiente On-line**, v.9, n.4, p. 377-385. 2016.

PAIVA, W. **Tolerância e potencial Fitorremediador de Mucuna-Preta (*Stizolobium aterrimum* Piper & Tracy) em solos contaminados com Manganês.** 2020.

PANDEY, B.; SUTHAR, S.; SINGH, V. Accumulation and health risk of heavy metals in sugarcane irrigated with industrial effluent in some rural areas of Uttarakhand, India. **Process Safety and Environment Protection**, v.102, p.655–666, 2016.

PÁRRAGA-AGUADO, I., ÁLVAREZ-ROGEL, J., GONZÁLEZ-ALCARAZ, M. N., JIMÉNEZ-CÁRCELES, F. J., CONESA, H. M. Assessment of metal (loid) s availability and their uptake by *Pinus halepensis* in a Mediterranean forest impacted by abandoned tailings. **Ecological engineering**, v. 58, p. 84-90. 2013. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2013.06.013.

PEREIRA, F. J. **Características anatômicas e fisiológicas de aguapé e índice de fitorremediação de alface d'água cultivados na presença de arsênio, cádmio e chumbo.** Tese (Doutorado em Agronomia/Fisiologia) -Universidade Federal de Lavras, 2014.

PINHEIRO, M. B. **Plantas para infraestrutura verde e o papel da vegetação no tratamento das águas urbanas de São Paulo:** identificação de critérios para seleção de espécies. 2017. Dissertação (Mestrado em Paisagem e Ambiente) - Faculdade de Arquitetura e Urbanismo, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017. Doi: 10.11606/D.16.2017.tde27062017-141958. Acesso em: 10 ago. 2021.

PINTO FILHO, J. L. O.; SOUZA, M. J. J. B.; SANTOS, E.G.; FILGUEIRA GÊ, D. R.; CEZAR FILHO, P. Monitoramento dos teores totais e disponíveis de metais pesados no lixão do município de Apodi-RN. **Revista Verde de Agroecologia Desenvolvimento Sustentável**, v.7, n.1, p. 141-147. 2012.

PINTO, F. A. **Fatores de bioconcentração e disponibilidade de bário, cádmio, cobre, níquel e zinco em solos e em culturas de interesse agrônômico.** 2016. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo- USP.

PIO, M. C. D. S., SOUZA, K. D. S. D., SANTANA, G. P. Ability of *Lemna aequinoctialis* for removing heavy metals from wastewater. **Acta Amazonica**, v.43, n.2, p.203-210, 2013.

PREUSSLER, K. H. **Avaliação de um sistema de wetlands no tratamento de lixiviado de aterro.** 2014. 119 p. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

QUEIROZ SANTOS A. C., AGUIAR M. A., NASCIMENTO A.C. W., SANTOS M N., MELO C E., LIMA X. B. T. Competitive absorption of cadmium, zinc, and lead by Velvet Bean (*Stizolobium aterrimum*) and metal distribution among soil fractions. **Communications in soil science and plant analysis**. v.45, n.11,p. 1499-1510, 2014.

RAY, J. G.; GEORGE, J. Zn in tolerant roadside plants in relation to the metal in the soils in south India. **Journal of Agriculture and Environmental Sciences**. v. 9, n. 5, p. 548– 559, 2010.

REHMAN, M., LIU, L., WANG, Q., SALEEM, M. H., BASHIR, S., ULLAH, S., PENG, D. Copper environmental toxicology, recent advances, and future outlook: a review. **Environmental science and pollution research**, v. 26, n.18, p. 18003-18016, 2019.

RIBEIRO, R., MARTINI, M. C., TÜLP, S., CARLESSO, W., ETHUR, E. M., HOEHNE, L. **Caracterização do solo contaminado com zinco após o processo de vermicompostagem**. Seminário de Iniciação Científica, Universidade de Santa Cruz do Sul 2013, 187p.

RICCARDI, M.; MELE, G.; PULVENTO, C.; LAVINI, A.; D'ANDRIA, R.; JACOBSEN, S. E. Non-destructive evaluation of chlorophyll content in quinoa and amaranth leaves by simple and multiple regression analysis of RGB image components. **Photosynth Res**, v. 120, n. 3, p. 263-272, 2014. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11120-014-9970-2>. DOI: 10.1007/s11120-014-9970-2.

ROMEO S., FRANCINI A., ARIANI A., SEBASTIANI, L. Phytoremediation of Zn: identify the diverging resistance, uptake and biomass production behaviours of poplar clones under high zinc stress. **Water, Air, & Soil Pollution**. v.225 n.1, p.1-12, 2014

ROSA, D. J.; AMBROSINI, V. G.; BASSO, A.; BORGHEZAN, M.; BRUNETO, G.; PESCADOR, R. Photosynthesis and growth of Young “Niágara Branca” vines (*Vitis labrusca* L.) cultivated in soil with high levels of copper and liming. In: **BIO Web of Conferences**, Mendoza, Argentina: EDP Sciences, v.3, p. 01005, 2014.

SALEEM, M. H., KAMRAN, M., ZHOU, Y., PARVEEN, A., REHMAN, M., AHMAR, S., LIU, L. Appraising growth, oxidative stress and copper phytoextraction potential of flax (*Linum usitatissimum* L.) grown in soil differentially spiked with copper. **Journal of environmental management**, v.257, p.109-994. 2020.

SANTANA, N. A.; FERREIRA, P. A. A.; SORIANI, H. H.; BRUNETTO, G.; NICOLOSO, F. T.; ANTONIOLLI, Z. I.; JACQUES, R. J. S. Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and vermicompost on copper phytoremediation in a sandy soil. **Applied Soil Ecology**, v. 96, p. 172-182, 2015.

SANTOS, N.M.; ACCIOLY, A.M.A.; NASCIMENTO, C.W.A.; SILVA, I.R.; SANTOS, J.A.G. Biodisponibilidade de chumbo por extratores químicos em solo tratado com ácidos húmicos e carvão ativado. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 46, n. 4, p. 663-668, 2015.

SANTOS, T., GOMES, D. P., PACHECO, C., FERREIRA, A., & FRANCO, M. Fitorremediação: avaliação do potencial de recuperação em solos contaminados com metais pesados. **Enciclopédia Biosfera**, v.7, n.12, p. 1-10, 2011.

SARWAR, N., IMRAN, M., SHAHEEN, M. R., ISHAQUE, W., KAMRAN, M. A., MATLOOB, A., HUSSAIN, S. Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: modifications and future perspectives. **Chemosphere**, v.171, p.710-721, 2017.

SHARMA, P.; PANDEY, S. Situação da fitorremediação no cenário mundial. **International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation**, v. 2, n. 4, p. 178-191, 2014.

SILVA, P. R. C. **Avaliação da fito-e genotoxicidade do chumbo em *Lactuca sativa* L.** Dissertação (Mestrado em Genética Molecular Comparativa e Tecnológica) -Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, 2014.

SILVA, R. F. D., SAIDELLES, F. L. F., SILVA, A. S. D., & BOLZAN, J. S. Influência da contaminação do solo por cobre no crescimento e qualidade de mudas de açoita-cavalo (*Luehea divaricata* Mart. & Zucc.) e aroeira-vermelha (*Schinus therebinthifolius* Raddi). **Revista Ciência Florestal**, v. 21, n.1, p.111-118. 2011.

SOOKG, D. A., WEST, D. M., HOLLER, F. J., CROUCH, S. R.; **Fundamentos de Química Analítica**; 8ª ed., Cengage Learning: São Paulo, 2008.

SOUZA, E. P de; SILVA, I de F da; FERREIRA, L. E. Mecanismos de tolerância a estresses por metais pesados em plantas. **Revista Bras. Agrocência**, v.17, n.2-4, p.167-173, 2011.

SOUZA, L. A., PIOTTO, F. A., NOGUEIROL, R. C., AZEVEDO, R. A. Use of non-hyperaccumulator plant species for the phytoextraction of heavy metals using chelating agents. **Scientia Agricola**, v.70, n.4, p.290-295, 2013.

STRASSER, R.J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; SRIVASTAVA, A. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: Yunus, M., Pather, U., Mohanly P. (eds.). **Probing Photosynthesis: Mechanisms, Regulation and Adaptation**. Taylor and Francis, London, p. 445-483, 2000.

TAIZ, L., ZEIGER, E., MØLLER, I. M., MURPHY, **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora. 2017.

TIECHER, T. L.; CERETTA, C. A.; FERREIRA, P. A. A.; LOURENZI, C. R.; TIECHER, T.; GIROTTO, E.; NICOLOSO, F. T.; SORIANI, H. H.; DE CONTI, L.; MIMMO, T.; CESCO, S.; BRUNETTO, G. The potential of *Zea mays* L. in remediating copper and zinc contaminated soils for grapevine production. **Geoderma**, v. 262, p. 52-61, 2016a.

TIECHER, T. L.; TIECHER, T.; CERETTA, C. A.; FERREIRA, P. A. A.; NICOLOSO, F. T.; SORIANI, H. H.; TASSINARI, A.; PARANHOS, J. T.; DE CONTI, L.; BRUNETTO, G. Physiological and nutritional status of black oat (*Avena strigosa* Schreb.) grown in soil with interaction of high doses of copper and zinc. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 106, p. 253-263, 2016b.

TODESCHINI, V., LINGUA, G., D'AGOSTINO, G., CARNIATO, F., ROCCOTIELLO, E., & BERTA, G. Effects of high zinc concentration on poplar leaves: a morphological and biochemical study. **Environmental and Experimental Botany**, v.71, n.1, p.50-56. 2011.

TSONEV, T.; LIDON, F. J. C. Zinc in plants - An overview. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 24, n. 4, p. 322–333, 2012.

VALE. Mineração, 2015. **Cobre**. Disponível em: <http://www.vale.com/brasil/PT/business/mining/copper/Paginas/default.aspx>. Acesso em: 26 de janeiro de 2021.

VAMERALI, T., BANDIERA, M., MOSCA, G. Field crops for phytoremediation of metal-contaminated land. A review. **Environ. Chem. Lett.**, v. 8, p. 1-17, 2010.

VASCONCELLOS, M. C.; PAGLIUSO, D.; SOTOMAIOR, V. S. Fitorremediação: Uma proposta de descontaminação do solo. Estudos de Biologia Ambiente Diversos: **Revista da Universidade Católica de Petrópolis**, Rio de Janeiro. v. 34, n. 83. p. 261-267, 2012.

VASSILEV, A., NIKOLOVA, A., KOLEVA, L., LIDON, F. Effects of excess Zn on growth and photosynthetic performance of young bean plants. **Journal of phytology**, v.3, n.6, p.58-62, 2011.

VENDRUSCOLO, D. **Seleção de plantas para fitorremediação de solo contaminado com cobre**. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

VIJAYARENGAN, P.; MAHALAKSHMI, G. Zinc toxicity in tomato plants. **World Applied Sciences Journal**, v. 24, n. 5, p. 649–653, 2013.

WANG, L., ZHOU, Q., DING, L., SUN, Y. Effect of cadmium toxicity on nitrogen metabolism in leaves of *Solanum nigrum* L. as a newly found cadmium hyperaccumulator. **Journal of hazardous materials**, v.154, n.1-3, p.818-825, 2008.

WANG, P. L., XIE, L. H., JOSEPH, E. A., LI, J. R., SU, X. O., & ZHOU, H. C. Metal–organic frameworks for food safety. **Chemical reviews**, v.119, n.18, p.10638-10690, 2019a.

WANG, P., BERZIN, T. M., BROWN, J. R. G., BHARADWAJ, S., BECQ, A., XIAO, X., LIU, X. Real-time automatic detection system increases colonoscopic polyp and adenoma detection rates: a prospective randomised controlled study. **Gut**, v.68, n.10, p.1813-1819, 2019b.

WATERLOT, C., BIDAR, G., PELFRÊNE, A., ROUSSEL, H., FOURRIER, H., & DOUAY, F. Contamination, fractionation and availability of metals in urban soils in the vicinity of former lead and zinc smelters, France. **Pedosphere**, v.23, n.2, p.143-159, 2013. Elsevier BV. DOI: 10.1016/s1002-0160(13)60002-8.

WIESMEIER, M., LUNGU, M., HÜBNER, R., & CERBARI, V. Remediation of degraded arable steppe soils in Moldova using vetch as green manure. **Solid Earth**, v.6, n.2, p.609-620, 2015.

WINTER, M **Copper: properties of free atoms**. Disponível em: <https://www.webelements.com/copper/atoms.html>. Acesso em :26 de janeiro de 2021.

YANG, H.; YANG, J.; LV, Y.; HE, J. SPAD values and nitrogen nutrition index for evaluation of rice nitrogen status. **Plant Production Science**, v. 17, n. 1, p. 81-92, 2015. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1626/pps.17.81>. DOI: 10.1626/pps.17.81

YANG, Y.; SUN, C.; YAO, Y.; ZHANG, Y.; ACHAL, V. Growth and physiological responses of grape (*Vitis vinifera* “Combiér”) to excesso zinc. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 33, n. 4, p. 1483-1491, 2011.

YONEYAMA, T.; ISHIKAWA, S.; FUJIMAKI, S. Route and regulation of Zinc, Cadmium, and Iron Transport in rice plants (*Oryza sativa* L.) during vegetative growth and grain filling:

Metal Transporters, Metal Speciation, Grain Cd Reduction and Zn and Fe Biofortification. **Ijms**, [s.l.], v. 16, n. 8, p.19111-19129, 2015. MDPI AG. DOI: 10.3390/ijms160819111.

ZANCHETA, A. C. F., ABREU, C. A. D., ZAMBROSI, F. C. B., ERISMANN, N. D. M., & LAGÔA, A. M. M. A. Fitoextração de cobre por espécies de plantas cultivadas em solução nutritiva. **Bragantia**, v.70, n.4, p.737-744, 2011.

ZHANG, M. K.; LIU, Z. Y.; WANG, H. Use of Single Extraction Methods to Predict Bioavailability of Heavy Metals in Polluted Soils to Rice. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.41, n.7, p.820–831, 2010.

ZHOU, Z., LIU, X., SUN, K., LIN, C., MA, J., HE, M., & OUYANG, W. Persulfate-based advanced oxidation processes (AOPs) for organic-contaminated soil remediation: A review. **Chemical Engineering Journal**, v.372, p. 836-851, 2019.

CAPÍTULO II

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE *Canavalia ensiformis* L. AOS METAIS COBRE E ZINCO

RESUMO

O excesso de micronutrientes tem sido considerado um dos sérios problemas ambientais. Esse excesso no solo e tecidos vegetais podem gerar sintomas de toxidez, alterando processos fisiológicos e bioquímicos. O objetivo do trabalho foi investigar a resposta da espécie *C. ensiformis* em doses crescentes dos metais potencialmente tóxicos cobre e zinco no solo. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em delineamento inteiramente casualizado para ambos os metais, com quatro repetições. O solo foi tratado com cinco doses (0, 10, 20, 40 e 80 mg kg⁻¹). Foram realizadas análises de intensidade de verde, índice fotossintético (PI) e contagem do número de nódulos. Além disso, foram analisadas as variáveis de fluorescência da clorofila *a*: fluorescência inicial (F₀), fluorescência máxima (F_m), fluorescência variável (F_v) e eficiência quântica máxima do FSII (F_v/F_m). Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F (p<0,05) e análise de regressão. Em relação à fluorescência da clorofila *a*, verificou-se que os indivíduos apresentaram valores fora da faixa considerada normal, indicando condição de estresse. O período da tarde acarretou em menor valor da relação F_v/F_m e intensidade de verde na dose 80 mg kg⁻¹. Os índices fotossintéticos revelaram que as plantas de *C. ensiformis* são sensíveis a contaminação de Zn e Cu. As maiores doses dos metais provocaram uma menor quantidade de nódulos. Portanto, pode-se concluir que os metais cobre e zinco em níveis elevados ocasionam dano ao metabolismo fotossintético em plantas de *C. ensiformis*.

Palavras-chave: Fotossíntese. Mecanismos de tolerância. Metais potencialmente tóxicos.

ABSTRACT

The excess of micronutrients has been considered one of the serious environmental problems. This excess in the soil and plant tissues can generate symptoms of toxicity, altering physiological and biochemical processes. The aim of this work was to investigate the response of *C. ensiformis* species to increasing doses of potentially toxic metals copper and zinc in soil. The experiment was carried out in a greenhouse, in a completely randomized design for both metals, with four replications. The soil was treated with five doses (0, 10, 20, 40 and 80 mg kg⁻¹). Analyses of green intensity, photosynthetic index (PI) and count of the number of nodules were performed. In addition, chlorophyll a fluorescence variables were analyzed: initial fluorescence (F₀), maximum fluorescence (F_m), variable fluorescence (F_v) and maximum FSII quantum efficiency (F_v/F_m). Data were subjected to analysis of variance using the F test (p<0.05) and regression analysis. Regarding the chlorophyll a fluorescence, it was found that the individuals had values outside the range considered normal, indicating a stress condition. The afternoon period resulted in a lower value of the F_v/F_m ratio and green intensity at the dose of 80 mg kg⁻¹. Photosynthetic indices revealed that *C. ensiformis* plants are sensitive to Zn and Cu contamination. Higher doses of metals caused fewer nodules. Therefore, it can be concluded that copper and zinc metals at high levels cause damage to photosynthetic metabolism in *C. ensiformis* plants.

Key words: Photosynthesis. Tolerance mechanisms. Potentially toxic metals.

1 INTRODUÇÃO

A fotossíntese demonstra-se muito sensível a variações no ambiente (KALAJI et al., 2017), de tal modo, as medições fotossintéticas são um fator importante nos estudos de estresse nas plantas. A etapa fotoquímica da fotossíntese é o ponto de partida dos fundamentais processos a vida de espécies vegetais superiores.

A eficiência fotossintética máxima das plantas é medida pela relação F_v/F_m , em que F_m é a fluorescência máxima e F_v é a fluorescência variável. A análise da fluorescência tem benefícios para estudos do transporte de elétrons, durante a fotossíntese é possível registrar o transporte de elétrons no fotossistema II (FRANCO, 2015).

A fluorescência da clorofila *a* tem se tornado um procedimento amplamente empregado para avaliar as respostas das plantas aos estresses ambientais (STRASSER et al., 2000). Através de medidas de fluorescência, tem sido possível caracterizar, quantificar e detectar o estresse de plantas antes que os sintomas se tornem visíveis nas folhas (CHRISTEN et al., 2007).

Segundo Mustafa; Komatsu (2016), as plantas se manifestam fisiologicamente de diferentes jeitos à toxicidade por metais ocasionando danos fisiológicos, e esses danos geram na planta uma série de distúrbios que acarretam redução no crescimento, inibição da fotossíntese e da respiração, degradação das principais organelas celulares e, em muitos casos morte das plantas.

As plantas cultivadas em solos com alto teor de cobre (Cu) apresentam estresse bioquímico, redução na taxa fotossintética e na respiração, o que resulta no menor comprimento de raiz e parte aérea, área superficial radicular e biomassa (MARQUES et al., 2018). Em trabalhos com distintas espécies, como feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* L.), milho (*Zea mays* L.) e aveia preta (*Avena strigosa* Schreb.), cultivados em solos com altos teores de Cu, foram observados diminuição nos teores de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenóides (SANTANA et al., 2015; TIECHER et al., 2016a; 2016b).

O zinco (Zn) é um importante elemento de muitas enzimas, porém é tóxico em altas concentrações podendo retardar o crescimento de plantas, impedir a expansão das células da raiz, causar ruptura da membrana plasmática e desorganização de organelas e causar distúrbios em diversos processos fisiológicos essenciais (SILVA et al., 2018a).

Fisiologicamente, o excesso de Cu e Zn provoca aumento na síntese de proteínas e enzimas envolvidas na defesa aos danos oxidativos (YANG et al., 2015), alteração no transporte de elétrons da fotossíntese e fotoinibição (CAMBROLLÉ et al., 2015). Além disso, o estresse

por esses metais pode danificar a estrutura das raízes (AMBROSINI et al., 2015; BOCHICCHIO et al., 2015).

As plantas fitoextratoras com maior tolerância ao estresse ocasionado por metais pesados tendem a proporcionar maior potencial de acúmulo com o menor ou nenhum dano oxidativo ou prejuízos às suas condições fisiológicas (SARWAR et al., 2017).

Muitas plantas possuem, naturalmente, tolerância a metais pesados, concentrando-os de modo que não as danifiquem, como é o caso das plantas fitorremediadoras (SOUZA et al., 2011). Dentre as espécies com alto potencial fitorremediador, a *C. ensiformis* tem tolerância à presença de metais potencialmente tóxicos no solo, além de absorvê-los em grande quantidade sem que a absorção comprometa drasticamente sua produção de biomassa (PIRES, 2003).

O objetivo principal do presente trabalho foi investigar a resposta da espécie *C. ensiformis* a doses crescentes dos metais potencialmente tóxicos Cu e Zn no solo. Como objetivos específicos, destacam-se análises das variáveis fisiológicas: intensidade do verde; rendimento quântico do fotossistema II (Fv/Fm), índice fotossintético (PI); fluorescência inicial (F₀), fluorescência máxima (Fm), fluorescência variável (Fv) e número de nódulos da *C. ensiformis*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material Vegetal e Condições de cultivo

O experimento foi realizado em condições de casa de vegetação na Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão (UEMASUL), na cidade de Imperatriz, Maranhão, localizado entre as coordenadas geográficas 5° 31' 32" de latitude S, 47° 26' 35" de longitude O, com altitude média de 92 metros acima do nível do mar. De acordo com a Köppen & Geiger (1928), o clima é classificado como Aw, com temperatura média de 26,4°C e pluviosidade média anual de 1476 mm.

O experimento foi instalado e conduzido em casa de vegetação, sob condições de luz e temperatura naturais. As amostras de solo foram coletadas segundo a norma ABNT/NBR10.007, para amostragem de resíduos sólidos, posteriormente, foram levadas e armazenadas no laboratório de Química Ambiental do Campus. As amostras são oriundas de áreas preservadas próximo ao aterro sanitário do município de Imperatriz – MA, com coordenadas geográficas 5° 25' 34,2" S 47° 32' 26,4" O.

Em seguida, o solo foi previamente autoclavado por 1 hora a 121 °C por dois dias consecutivos com intervalo de 24 horas e foram incubados durante 8 dias com as espécies metálicas investigadas sulfato de cobre (CuSO₄) e cloreto de zinco (ZnCl₂).

As sementes das espécies *C. ensiformis* foram adquiridas da empresa BRSEEDS. A viabilidade das sementes, adquiridas comercialmente, foram submetidas ao teste de sanidade e germinação, conforme descrito por Brasil (2009). E foram esterilizadas superficialmente com o hipoclorito de sódio (2,5%) por um minuto, após a esterilização superficial, as sementes foram lavadas em água destilada e esterilizada, por três vezes, e o resíduo de água superficial das sementes foi retirado por meio de secagem em papel filtro esterilizado.

A identificação de patógenos associados às sementes foi determinada conforme método de Blotter test (BRASIL, 2009), no qual foram utilizadas 400 sementes de feijão-de-porco. Em seguida, tomou-se, aleatoriamente, 10 sementes que foram dispostas no gerbox, na forma de 10 x 4, montou-se 40 gerbox (total de quatrocentas sementes) por amostra.

O solo não recebeu qualquer tratamento corretivo (adubação e calagem) para permitir estudos em ambientes pouco favoráveis ao desenvolvimento da planta, como os encontrados em inúmeros locais nos quais não há atividade agrícola, por exemplo. O plantio da leguminosa foi realizado com 5 sementes por vaso, com 2 cm de profundidade em vasos plásticos, contendo

2 kg de terra fina seca ao ar (TFSA). Oito dias após a semeadura, realizou-se desbaste, deixando-se uma planta por vaso.

As irrigações do solo dos vasos foram feitas diariamente. E semanalmente procederam-se ao rodízio dos vasos, para exposição mais homogênea das plantas a intensidade luminosa e a temperatura. As plantas foram mantidas por 75 dias em exposição aos metais potencialmente tóxicos.

2.1.1 Dados climáticos

As variáveis climatológicas durante o período compreendido entre 10 de fevereiro a 16 de abril de 2021 na fase experimental estão apresentadas na Figura 3. O déficit de pressão de vapor (DPV) foi calculado a partir dos valores de temperatura do ar, utilizados para determinar a pressão de saturação de vapor d'água no ar, conforme proposto por Tetens (1930), (Equação 1).

$$e_s = 0,61078 \times 10^{\frac{9,5t_{ar}}{265,5+t_{ar}}} \quad (1)$$

e_s = pressão de saturação de vapor d'água no ar (kPa);

T = temperatura do ar (°C).

Posteriormente, a partir da umidade relativa e da pressão de saturação de vapor d'água no ar, determinou-se a pressão parcial de vapor d'água no ar (Equação 2).

$$e_a = \frac{UR \cdot e_s}{100} \quad (2)$$

Em que: e_a = pressão parcial de vapor d'água (kPa);

UR = umidade relativa do ar (%).

A diferença entre a pressão de saturação e a pressão parcial de vapor d'água no ar possibilitou o cálculo do déficit de pressão de vapor d'água no ar, que é a medida da quantidade de vapor d'água necessária para que o ambiente atinja o ponto de saturação (Equação 3).

$$DPV = e_s - e_a \quad (3)$$

Em que DPV = déficit de pressão de vapor d'água no ar (kPa).

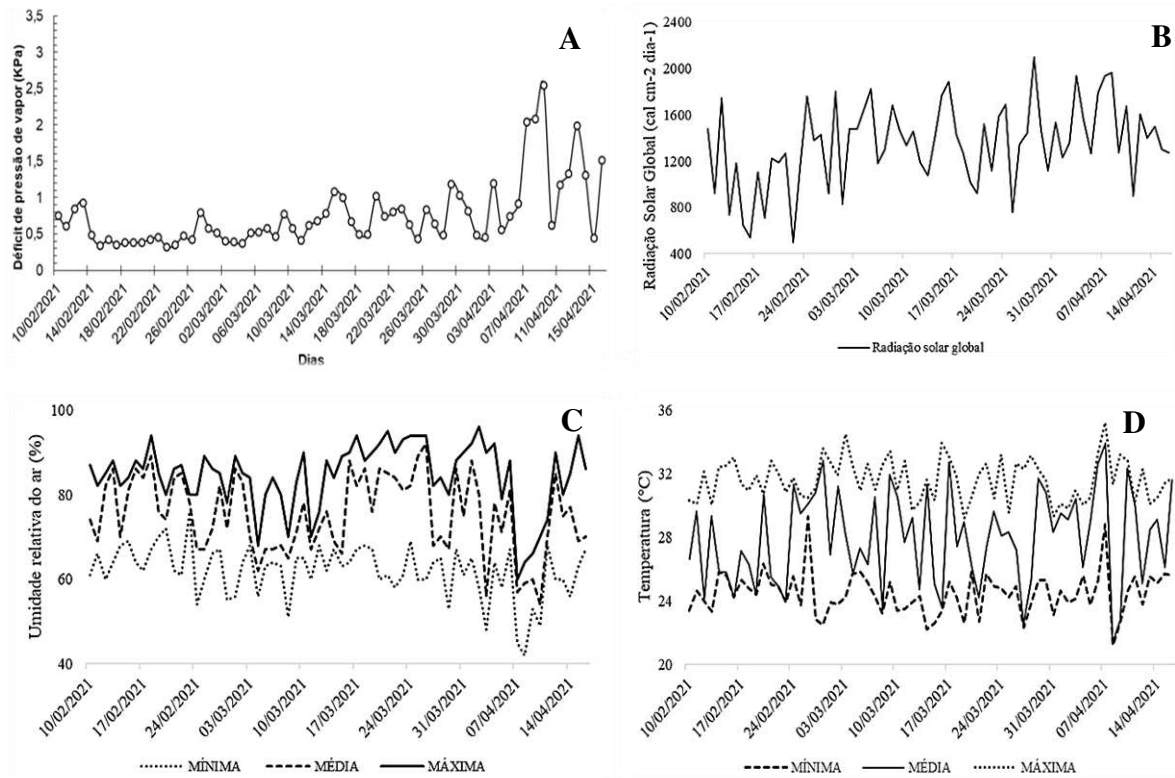


Figura 3-Diagramas de déficit de pressão de vapor do ar (A), radiação solar global (B), umidade relativa do ar (C) e temperatura (D) de fevereiro a abril de 2021, período de avaliação de *C. ensiformis* submetidas a doses crescentes de cobre e zinco.

Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia – INMET

2.2 Delineamento Experimental

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, composto por dez tratamentos e quatro repetições; os tratamentos consistiram de 10 doses dos metais Cu e Zn, dopados com quantidades definidas (0, 10, 20, 40 e 80 mg kg⁻¹) de cloreto de zinco (ZnCl₂), e (0, 10, 20, 40 e 80 mg kg⁻¹) de sulfato de cobre (CuSO₄).

O modelo matemático do referido delineamento, segundo Banzatto e Kronka (2006) é:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + \epsilon_{ij}$$

Onde: μ = média geral.

t_i = efeito do i -ésimo tratamento

ϵ_{ij} = erro experimental ou resíduo.

2.3 Análises do tecido vegetal e solo

Quando as plantas atingiram o estágio R1 (pleno florescimento feminino), foram coletadas folhas para análise foliar dos teores de macronutrientes e micronutrientes. As análises de tecido vegetal foram realizadas no Laboratório Terra Brasileira no município de Balsas-Maranhão. A coleta foi realizada no início do florescimento com a quantidade de 30 folhas por amostra, posteriormente, determinada a massa da matéria seca em estufa com ventilação forçada de ar a 65°C por 72 horas e enviadas ao laboratório (Tabela 1 e 2).

Tabela 1: Teores de macro e micronutrientes na parte aérea nos tratamentos com doses crescentes de sulfato de cobre.

Elementos	Unidade	Teor de Macronutrientes				
		Cu 0 mg	Cu 10 mg	Cu 20 mg	Cu 40 mg	Cu 80 mg
Nitrogênio	g.kg ⁻¹	19,6	22,4	18,2	19,6	18,2
Fósforo	g.kg ⁻¹	0,7	1,0	0,8	0,8	0,8
Potássio	g.kg ⁻¹	10,1	9,0	10,4	10,8	11,5
Cálcio	g.kg ⁻¹	14,3	19,9	14,0	15,2	12,1
Magnésio	g.kg ⁻¹	2,8	2,6	3,2	2,9	3,3
Enxofre	g.kg ⁻¹	1,2	1,4	1,5	1,6	2,0
Elementos	Unidade	Teor de Micronutrientes				
		Cu 0 mg	Cu 10 mg	Cu 20 mg	Cu 40 mg	Cu 80 mg
Ferro	mg/dm ³	200	174	231	215	380
Zinco	mg/dm ³	23	84	69	66	53
Cobre	mg/dm ³	0,3	1,1	1,7	1,8	5,5
Manganês	mg/dm ³	2737	3507	3733	3730	3909
Boro	mg/dm ³	17,9	19,6	20,9	20,9	17,3

Fonte: Análises realizadas no Laboratório Agrônomo Terra Brasileira, Balsas, MA.

Tabela 2: Teores de macro e micronutrientes na parte aérea nos tratamentos com doses de cloreto de zinco.

Elementos	Unidade	Teor de Macronutrientes				
		Zn 0 mg	Zn 10 mg	Zn 20 mg	Zn 40 mg	Zn 80 mg
Nitrogênio	g.kg ⁻¹	19,6	21,0	22,4	23,8	21,0
Fósforo	g.kg ⁻¹	1,2	0,8	0,8	0,9	0,8
Potássio	g.kg ⁻¹	10,1	11,2	10,1	11,9	13,3
Cálcio	g.kg ⁻¹	13,0	16,0	16,6	15,9	13,7
Magnésio	g.kg ⁻¹	2,7	2,8	3,4	2,9	3,2
Enxofre	g.kg ⁻¹	1,4	1,4	1,6	1,4	1,7
Elementos	Unidade	Teor de Micronutrientes				
		Zn 0 mg	Zn 10 mg	Zn 20 mg	Zn 40 mg	Zn 80 mg
Ferro	mg/dm ³	184	185	227	220	203
Zinco	mg/dm ³	31	98	168	137	353
Cobre	mg/dm ³	1,1	1,7	1,5	2,2	2,0
Manganês	mg/dm ³	2816	3359	3860	3290	3708
Boro	mg/dm ³	19,2	18,9	18,6	19,2	22,2

Fonte: Análises realizadas no Laboratório Agrônomo Terra Brasileira, Balsas, MA.

2.3.1 Determinação de pH em H₂O e KCl

As amostras dos solos seca ao ar, e passadas em peneira de 2 mm homogeneizadas foram submetidas à análise de pH em água e KCl 1 mol L⁻¹. Foram determinados em suspensão, empregando 10,0 gramas de cada amostra, foram acrescentados 25 mL de água e solo: KCl 1 mol L⁻¹ e solo (relação 1:2,5) e agitando-se por 40 min. Após agitação a suspensão foi deixada em repouso por 1h. Em seguida foram feitas as medições do pH nas amostras segundo Raij et al., (2001). As análises foram feitas em triplicata.

2.3.2 Determinação da percentagem de matéria orgânica

Em cadinho de porcelana previamente calcinado a 550° C e aferido. As amostras secas e peneiradas a 0,35 mm foram submetidas à calcinação por 4 horas, em forno mufla a 550° C. Decorrido o tempo de calcinação, o cadinho foi resfriado em dessecador. A percentagem de matéria orgânica foi obtida por meio da diferença entre o peso inicial da amostra e o peso após a calcinação (DONAGEMA, 2011).

2.3.3 Determinação da capacidade de troca catiônica

Para a determinação dos cátions totais trocáveis, CTC, foram pesados 2,50 g das amostras, adicionando-se 25 ml da solução de ácido acético 1,00 mol L⁻¹. Em seguida a suspensão foi agitada por 1 h em incubadora com agitação orbital shake, sendo posteriormente então determinado o pH tanto da solução de ácido acético quanto da suspensão contendo a amostra (EMBRAPA, 1997). As determinações foram feitas em quatro repetições. A determinação da CTC das amostras foi de acordo com a equação abaixo:

$$CTC_{(cmol\ c\ kg^{-1})} = [pH_1 - pH_2] \times K_{ctc}$$

Onde:

pH₁= pH da suspensão contendo a amostra;

pH₂ = pH da solução de ácido acético;

K_{ctc} = Soma das cargas dos cátions presentes na CTC do solo.

De acordo com a caracterização química do solo foram obtidos os seguintes resultados: pH CaCl₂: 4,68, pH H₂O: 5,68, CTC: 11,18 cmolc dm⁻³, matéria orgânica (MO): 4,81 g kg⁻¹.

2.4 Variáveis Fisiológicas

2.4.1 Intensidade de Verde

A intensidade de cor verde foi determinada com o auxílio de um Medidor Portátil de Clorofila (MPC), modelo SPAD-502 “Soil Plant Analyser Development” (Minolta, Japão). As leituras da intensidade de verde foram realizadas de 2 em 2 dias, sendo uma folha por planta, com cinco leituras por folha para obtenção da média. Estas determinações foram realizadas nas mesmas folhas onde foram feitas as medições da eficiência fotoquímica.

2.4.2 Rendimento quântico máximo do fotossistema II (Fv/Fm)

As medidas foram realizadas aos 70 e 75 dias após o plantio, pela manhã entre 8h e 10h da manhã e entre 12 h e 14h da tarde. Durante as medidas, foram utilizadas pinças para adaptação dos cloroplastos ao escuro, para que todos os centros de reação do fotossistema II (FSII) adquiram a condição de “abertos” (STRASSER et al., 2000). Após essa adaptação por um período de 30 minutos, um único pulso forte de luz de 1 segundo ($3500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) foi aplicado com a ajuda de três diodos emissores de luz (650 nm).

As avaliações da fluorescência inicial (F_0), da fluorescência variável (Fv), da fluorescência máxima (Fm), Índice fotossintético (PI) e do rendimento quântico máximo do fotossistema II (FSII) (Fv/Fm) foram obtidas por meio do fluorímetro Pocket PEA (Plant Efficiency Analyser, Hansatech, Inglaterra). (BÒLHAR-NORDENKAMPF et al., 1989).

2.4.3 Índice fotossintético (PI)

O PI combina 3 passos da atividade fotossintética dos centros de reações do FSII: a absorção da energia luminosa (RC/ABS); a captura da energia de excitação (Fv/F₀) (que representa a contribuição da energia luminosa para a fotoquímica primária.

Este componente Fv/F₀ representa a “performance” devido a probabilidade de captura da energia luminosa, i.e. a capacidade de reduzir (Qa); e a conversão da energia luminosa para o transporte de elétrons no FSII (ET/TR-ET) (i.e. a contribuição das reações bioquímicas) (GUISSE; SRIVASTAVA; STRASSER, 1995, TSIMILLI-MICHAEL & STRASSER, 2001; STRASSER; TSIMILLI-MICHAEL; SRIVASTAVA, 2004).

2.5 Número de nódulos e nodulação

As raízes dos tratamentos foram lavadas em água corrente com o auxílio de uma peneira fina, a fim de não perder nenhum nódulo. Para avaliar se a nodulação foi efetiva, os nódulos foram retirados, cortados e sua coloração foi verificada. A coloração rósea do nódulo indica a presença ativa da leghemoglobina, o que comprova que a fixação do N_2 está ocorrendo (Figura 4 A e B).



Figura 4- Nódulos nas raízes de *C. ensiformis* L. aos 75 dias. Procedimentos de coleta de raízes (A) e separação e contagem dos nódulos e avaliação da nodulação (B).

2.6 Estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F a 5% de probabilidade de erro. Interações significativas foram avaliadas e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). O efeito dose foi avaliado por análise de regressão e modelos lineares simples ($\bar{Y} = \alpha + \beta_1 X$) e quadráticos ($\bar{Y} = \alpha + \beta_1 X + \beta_2 X^2$) foram ajustados com base nos níveis de significância dos coeficientes em suas equações ($p < 0,05$) e no valor do seu coeficiente de determinação. As análises estatísticas foram realizadas com o software Sisvar® (FERREIRA, 2019).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os tratamentos influenciaram as variáveis intensidade de verde, A relação fluorescência variável/fluorescência máxima (relação Fv/Fm), índice fotossintético (PI) ($p < 0,05$). Os valores de coeficiente de variação experimental (CV), com base em Gomes (2000), foram baixos ($< 10\%$) para intensidade de verde, relação Fv/Fm, PI (tarde), F_0 , Fv, Fm, médios (10-20%) para índice fotossintético (manhã) e altos (20-30%) número de nódulos.

O índice de intensidade de verde (IV) entre as plantas foi influenciado pelo metal cobre, esse fato foi observado pois as plantas de *C. ensiformis* mostraram menores valores de Iv quando submetidas a maior dose 80 mg kg⁻¹ (Tabela 03). A relação Fv/Fm e o PI foram diferentes entre as doses, sendo maior para a dose controle em solo (0 mg kg⁻¹). Houve diferença significativa entre as doses ($p < 0,05$) nos parâmetros da fluorescência da clorofila *a* estudados (F_0 , Fm e Fv) e no número de nódulos (Tabela 3).

Tabela 3- Valores médios das variáveis fisiológicas, intensidade do verde (IV); Eficiência quântica máxima do fotossistema FSII (Fv/Fm); índice fotossintético (PI); fluorescência inicial (F_0), fluorescência máxima (Fm), fluorescência variável (Fv) e número de nódulos de *C. ensiformis* submetidas a doses crescentes de sulfato de cobre.

FV	IV	IV	Fv/Fm	Fv/Fm	PI	PI	F_0	Fm	Fv	Nódulos
	manhã	tarde	Manhã	tarde	manhã	tarde				
Cu							Médias			
(mg kg ⁻¹)										
0 (controle)	44,02a	35,35a	0,80a	0,71a	3,72a	4,34a	453b	1763a	1310a	41,50a
10	45,50a	33,45a	0,75ab	0,68ab	2,60bc	2,37b	464b	1173b	708b	27,00b
20	37,25b	35,20a	0,74ab	0,68ab	2,71b	1,46c	436b	1154b	717b	25,00b
40	36,65b	33,30a	0,70bc	0,62c	2,92b	1,27cd	462b	1178b	716b	13,25c
80	31,60c	26,15b	0,67c	0,64bc	1,95c	1,06d	580a	1174b	593c	13,75c
CV (%)	5,70	6,28	3,69	3,83	11,73	8,03	3,70	1,35	3,42	20,17

CV (%): Coeficiente de variação; AM: Manhã; PM: Tarde; (IV): intensidade de verde; (Fv/Fm): rendimento quântico máximo do PSII; (PI): índice fotossintético (PI); fluorescência inicial (F_0), fluorescência máxima (Fm), fluorescência variável (Fv). *Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não difere entre si pelo Teste F a 5% de probabilidade de erro pelo Critério de Agrupamento do Teste Tukey ($p < 0,05$).

Os dados coletados no estudo utilizando doses crescentes de cloreto de zinco estão descritos na Tabela 4. Os valores de coeficiente de variação experimental (CV), com base em Gomes (2000), foram baixos ($< 10\%$) para intensidade de verde, Fv/Fm e PI manhã e tarde, F_0 , Fv, Fm, médios (10-20%) para índice fotossintético (tarde) e altos (20-30%) número de nódulos.

Em todas as plantas submetidas a doses crescentes de Zn ocorreu queda significativa na maior dose (80 mg kg⁻¹) ($p < 0,05$) quando comparadas com o controle (Tabela 4). Observa-se que houve diferença significativa entre os tratamentos em relação à variável Fv/Fm, o

tratamento 80 mg kg⁻¹ de Zn apresentou o valor 0,67, pela manhã e 0,62, a tarde o que pode indicar um comprometimento do aparato fotossintético devido a redução no rendimento quântico máximo do fotossistema II (Tabela 4). Os valores médios do índice fotossintético (PI) foram significativos (p<0,05).

As plantas de *C. ensiformis* apresentaram diferença estatística de intensidade de verde para as doses crescentes de zinco. Observou-se maior intensidade de verde no tratamento controle pela manhã. Os resultados obtidos nas análises da fluorescência da clorofila *a* para *C. ensiformis* são apresentados na Tabela 4. Nota-se que, entre os tratamentos houve diferença estatística dos parâmetros avaliados, fluorescência inicial, variável e máxima.

Tabela 4- Valores médios das variáveis fisiológicas, intensidade do verde (IV); Eficiência quântica máxima do fotossistema FSII (Fv/Fm); índice fotossintético (PI); fluorescência inicial (F₀), fluorescência máxima (Fm), fluorescência variável (Fv) e número de nódulos de *C. ensiformis* submetidas a doses crescentes de cloreto de zinco.

FV	IV	IV	Fv/Fm	Fv/Fm	PI	PI	F ₀	Fm	Fv	Nódulos
	Manhã	Tarde	Manhã	Tarde	Manhã	Tarde				
Zn (mg kg ⁻¹)	Médias									
0 (controle)	44,65a	35,87ab	0,74a	0,72a	2,96a	3,50a	376ab	1220a	843a	46,75a
10	38,52b	36,85a	0,73a	0,72a	2,85a	2,67b	356ab	857b	501b	24,25b
20	35,77b	32,00bc	0,74a	0,72a	1,63c	2,06c	362ab	713d	351cd	27,50b
40	34,82bc	30,95c	0,76a	0,65b	1,97b	1,51d	352b	752c	400c	11,00c
80	31,47c	27,62c	0,67b	0,62b	1,07c	1,13d	410a	731cd	320d	7,50c
CV (%)	5,09	6,18	3,88	2,89	3,97	10,81	7,06	1,87	5,77	23,24

CV (%): Coeficiente de variação; AM: Manhã; PM: Tarde; (IV): intensidade de verde; (Fv/Fm): rendimento quântico máximo do PSII; (PI): índice fotossintético (PI); fluorescência inicial (F₀), fluorescência máxima (Fm), fluorescência variável (Fv). *Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não difere entre si pelo Teste F a 5% de probabilidade de erro pelo Critério de Agrupamento do Teste Tukey (p<0,05).

Nota-se que a intensidade de verde nas folhas de *C. ensiformis* sob doses crescentes de cobre, se ajustou ao modelo linear (manhã) e quadrática (tarde) de regressão com o coeficiente de determinação (R² = 0,8321), (R² = 0,9531), respectivamente. Houve efeito quadrático das doses de cobre sobre a intensidade de verde no período da tarde, com o valor máximo de 35,35, obtido com o tratamento controle, e efeito linear no período da manhã para o tratamento com zinco, com o valor máximo 45,65 na dose 0 mg kg⁻¹ (Figura 5).

A avaliação da intensidade de verde demonstrou tendência de redução com o aumento das doses de cobre e zinco. No conjunto de todos os tratamentos, os valores médios variaram entre 34,85 para Zn e 35,84 para Cu. A resposta da intensidade de verde nas folhas das plantas de *C. ensiformis* apresentou alto grau de associação com a concentração de Zn no solo, observou-se uma tendência de queda do índice ocorrendo a partir dos 20 mg kg⁻¹ de Zn no solo (Figura 5).

O modelo linear apresentou-se como melhor opção ao ajuste dos dados referentes a intensidade de verde para o zinco, com o valor máximo de 44,65, no período da manhã e 35,87 a tarde, obtido com o tratamento controle (Figura 5). Estes valores são superiores aos relatados por Rodrigues et al. (2013), que trabalhando com a intensidade de verde de folhas de soja em resposta ao ataque de percevejo, obtiveram a média de 35,86 no tratamento sem ataque de percevejo.

Além disso, notou-se ainda que a maior dose de zinco provocou decréscimo no valor médio da intensidade de verde com uma redução de 29,9% no período da manhã e 41,90% a tarde em relação à dose zero de zinco, mostrando certamente que, em decorrência da elevada concentração da solução aplicada em dose única. Segundo Torres Netto et al. (2005), os valores de intensidade de verde inferiores a 40 indicam o início da deficiência de clorofila, o que afeta o processo fotossintético.

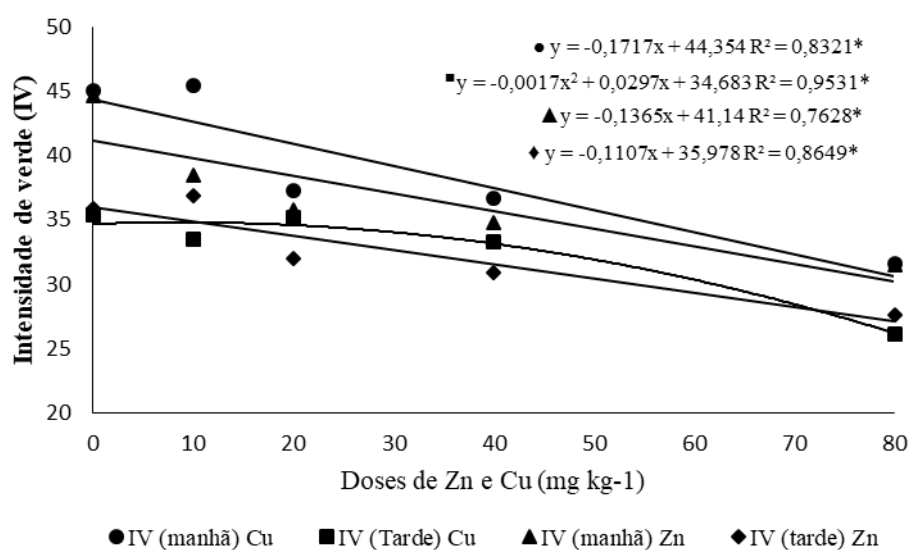


Figura 5- Valores médios de intensidade de verde em plantas de *C. ensiformes* submetidas a doses crescentes de sulfato de cobre. As avaliações foram realizadas no período de fevereiro a abril de 2021, no horário entre 8h e 10h da manhã e entre 12h e 14h da tarde.

A eficiência quântica máxima do FSII (Fv/Fm), que informa o estado geral da folha, se está saudável e fotossinteticamente ativa, ajustou-se ao modelo linear no período da manhã ($R^2 = 0,9707$) e da tarde ($R^2 = 0,8203$). A relação Fv/Fm é um bom indicador de estresse, podendo variar entre 0,7 a 0,8 em plantas não submetidas ao estresse (BOLHÀR-NORDENKAMPF et al., 1989).

Nos tratamentos 80 mg kg⁻¹ Cu, obtiveram valores abaixo dos indicadores de estresse, de cerca de 0,67 pela manhã e 0,64 a tarde no rendimento quântico máximo do FSII (Fv/Fm).

Esta variável reflete a máxima capacidade fotoquímica e se relaciona com o número de complexos PSII ativos (Figura 6). O excesso de Cu pode causar estresse abiótico, com danos nos fotossistemas, resultando no declínio da fotossíntese (KÜPPER; ANDRESEN, 2016), podendo acarretar impacto sobre a concentração de clorofilas (CAMBROLLÉ et al., 2015), redução na atividade carboxilativa da Rubisco (SIEDLECKA; KRUPA, 2004).

A relação Fv/Fm no tratamento controle de Cu no começo da tarde (das 12h às 14 h) foi 0,09 menor do que quando realizadas pela manhã (das 8h às 10h) com depleção de 11,8%. Corroborando os resultados encontrados por Cambrollé et al. (2012), que observaram um decréscimo maior na razão Fv/Fm nas medições feitas ao meio dia, em relação às medidas feitas durante a manhã, o que foi atribuído ao maior fluxo de luz.

As plantas dos tratamentos cujo solo foi contaminado com cobre apresentaram médias de rendimento quântico máximo do FSII (Fv/Fm) menores que as plantas do tratamento controle, sugerindo redução no fluxo de elétrons (Figura 6). Os valores encontrados para fluorescência máxima (Fm) seguiram o mesmo padrão da razão Fv/Fm (Figura 8 e 9), o que implica dizer que houve diminuição na quantidade de energia aproveitada pela planta para realização dos processos fotoquímicos, como fixação de CO₂ e redução de NADPH.

De acordo com Mateos-Naranjo et al. (2008), a exposição de plantas ao excesso de Zn causa alterações na relação Fv/Fm (SILVA et al., 2012). Essa relação tem sido usada frequentemente para detectar perturbações no sistema fotossintético causada por estresses ambientais e bióticos, visto que a diminuição indica inibição da atividade fotoquímica.

A relação Fv/Fm das plantas de *C. ensiformes* com Zn decresceu, em média, 11% no período da manhã e 17% a tarde em relação aos tratamentos controle (Figura 6). A diminuição de Fv/Fm indica dano ao aparato fotossintético, neste caso causado pelas doses crescentes de zinco. Os valores da relação Fv/Fm mostram que a maquinaria fotoquímica das plantas foi alterada, quando as plantas estavam em um ambiente contaminado com cobre e zinco.

Segundo Inbaraj; Muthuchelian (2011), pequenas diferenças em F₀ podem resultar em grandes diferenças em Fv/Fm. Decréscimos em F₀ e Fv/Fm também foram observados em trigo, sorgo e citros (MOUSTAKAS et al., 1997; PEREIRA et al., 2000; PEIXOTO et al., 2002). Torres-Netto et al. (2005), mostraram que existe uma relação positiva entre o IV e o Fv/Fm em algumas espécies.

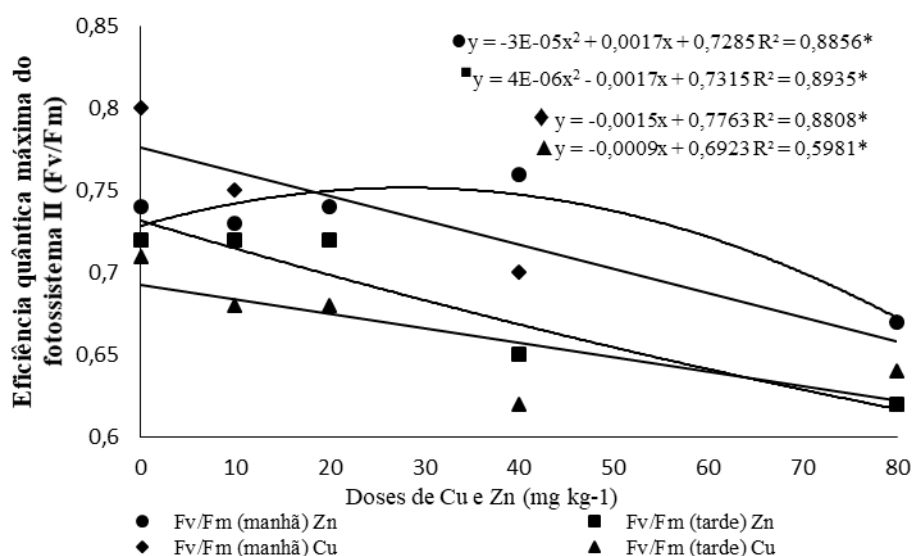


Figura 6- Valores médios de eficiência quântica máxima do fotossistema PSII (Fv/Fm) em plantas de *C. ensiformis* submetidas a doses crescentes sulfato de cobre e cloreto de zinco. As avaliações foram realizadas no período de fevereiro a abril de 2021, no horário das 8h às 10h da manhã e das 12 h às 14h da tarde.

O índice fotossintético (PI) é considerado um indicador de ‘vitalidade’ da planta (MEHTA et al., 2010) e vem sendo muito usado e discutido nas investigações de estresses bióticos e abióticos (STRASSER et al., 2010). As plantas do tratamento com a dose 80 mg kg⁻¹ de Cu e Zn apresentaram, menores médias para o índice de vitalidade fotossintético (Figura 7), o que está de acordo com os dados da eficiência quântica máxima do fotossistema II, indicando algum tipo de dano neste tratamento em relação a fotoquímica.

Os dados foram ajustados a regressão polinomial linear. As plantas que receberam a dose máxima 80 mg kg⁻¹ de Cu no período da tarde, apresentaram o menor índice fotossintético 1,06, e 1,95 no período da manhã. As plantas do tratamento controle tanto no período da manhã, quanto da tarde foram bem superiores as do tratamento da dose 80 mg kg⁻¹ de Cu, apresentando valores de índice fotossintético cerca de 47,8% e 75,8% maiores do que o tratamento citado, respectivamente (Figura 7).

A redução do potencial de conservação de energia dos fótons, observado pelos valores de PI descrevem a resposta geral da etapa fotoquímica da fotossíntese (TSIMILLI-MICHAEL; STRASSER, 2008; CHEN et al., 2011). Essa redução demonstra que a presença de Cu resultou em menor eficiência da planta em usar a energia absorvida para a conversão em energia na forma de ATP e NADPH, que reflete as condições fisiológicas da planta, como o

desenvolvimento e a sobrevivência em condições de estresse (YUSUF et al., 2010; DESOTGIU et al., 2012).

As plantas de *C. ensiformes* apresentaram os maiores valores de índice fotossintético (PI) no tratamento controle (0 mg kg⁻¹ de Zn), 2,96 pela manhã e 3,50 a tarde (Figura 7). Esta variável, proposta por Strasser et al. (2000), é um índice que integra três componentes independentes: a densidade dos centros de reação ativos (RCs), a eficiência no transporte de elétrons após Qa ter sido reduzida e a probabilidade de que um fóton absorvido seja capaz de reduzir Qa.

As plantas conduzidas na maior dose 80 mg kg⁻¹ de Zn apresentaram valores menores de índice fotossintético, 1,07 pela manhã e 1,13 a tarde, cerca de 64% e 67,8% menores que o tratamento controle, respectivamente, revelando que foram afetadas negativamente pelas doses crescentes de zinco. Os valores acima de 0,5 de PI demonstram alta eficiência na maquinaria fotoquímica (Figura 7).

Valores de PI são alterados quando um estresse ambiental afeta um destes elementos de forma isolada ou conjugada, mostrando o quão competente é este parâmetro para delinear a resposta ecofisiológica de espécies vegetais sob determinado efeito de estresse (STIRBET & GOVINDJEE, 2011). A significativa redução nos valores da relação Fv/Fm, bem como nos valores de PI sugerem efeito de fotoinibição e tais variações representam perda de eficiência fotoquímica pelas plantas (THACH et al., 2007).

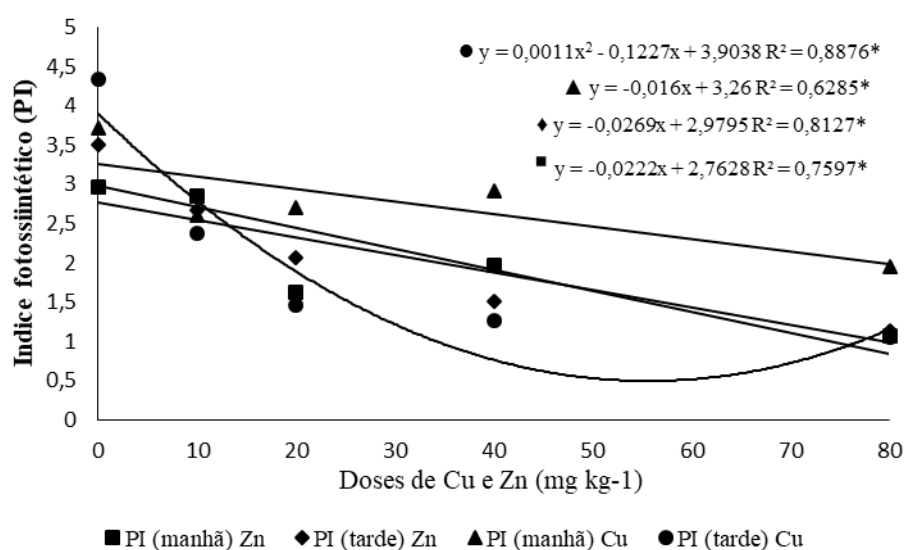


Figura 7- Valores médios de índice fotossintético (PI) em plantas de *C. ensiformis* submetidas a doses crescentes de sulfato de cobre e cloreto de zinco. As avaliações foram realizadas no período de fevereiro a abril de 2021, no horário das 8h às 10h da manhã e das 12 h às 14h da tarde.

Quando as plantas são expostas a estresse ambiental, alterações no estado funcional das membranas dos tilacóides dos cloroplastos geram mudanças nas características dos sinais de fluorescência, os quais podem ser quantificados nas folhas (RIBEIRO et al, 2003; BAKER; ROSENQVST, 2004).

Verifica-se na Figura 8, o resultado isolado do Cu na variável F_0 (fluorescência inicial) que é a fluorescência mínima constante no escuro quando todos os centros de reações estão abertos, é um dos parâmetros da fluorescência de clorofila empregados para avaliar o estresse de plantas a fatores abióticos, por exemplo, metais tóxicos (YADAV et al., 2018).

O aumento de F_0 indica dano nas reações no FSII (PAUNOV et al., 2018), o que foi observado no presente trabalho conferindo que o tratamento com 80 mg kg^{-1} de Cu com média de 580,42 aumentou em 28,1% a F_0 quando comparado com o tratamento controle que obteve média de 453,15 elétrons quantum^{-1} (Figura 8). F_0 é a fluorescência quando Q_A (quinona receptora primária de elétrons do FSII) está completamente oxidada e o centro de reação do FSII está aberto, situação iminente à ativação das reações fotoquímicas.

Em relação aos parâmetros da fluorescência da clorofila *a*, que foram significativos ($p < 0,05$) às doses crescentes de cobre, verificou-se que a F_m nas plantas do tratamento com 80 mg kg^{-1} de Cu apresentara média de 1174,15, uma redução de 50,18% quando comparadas às plantas do tratamento controle, que apresentaram média de 1763,30 (Figura 8). Essa redução pode estar associada à inativação do FSII nas membranas dos tilacóides comprometendo diretamente o fluxo de elétrons entre os fotossistemas (STRASSER et al., 2004).

A fluorescência da clorofila *a* é um instrumento usado na detecção de danos ao aparato fotossintético causado por estresses abióticos (STIRBET et al., 2018). No presente trabalho verificou-se o efeito isolado do Cu no parâmetro F_v (fluorescência variável), havendo diferença entre as concentrações de 0 e 80 mg kg^{-1} de Cu que apresentaram médias 1310,14 e 593,73, respectivamente (Figura 8). As relações da fluorescência variável e a máxima é uma das mais representativas do estado fotoquímico das folhas ou mesmo indicador de estresses (ZANANDREA et al., 2006).

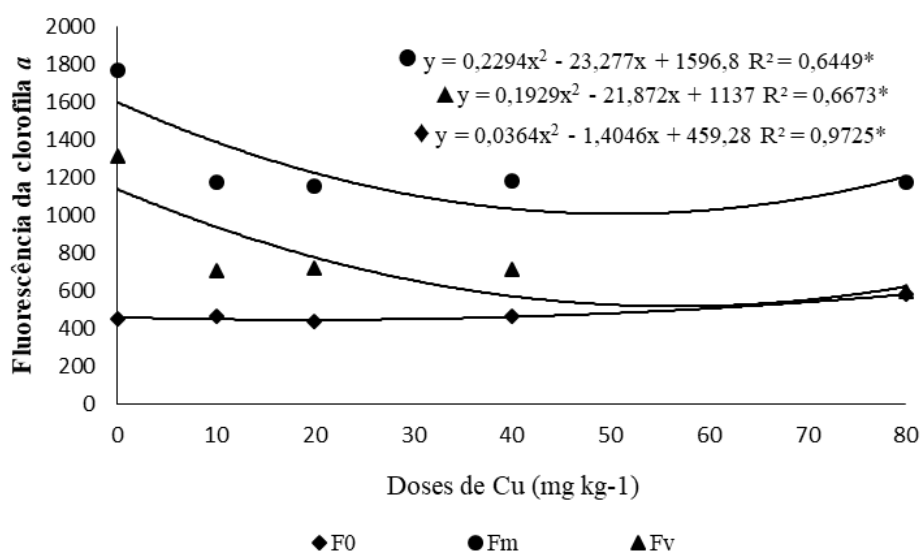


Figura 8- Caracterização da fluorescência da clorofila *a* de plantas de *C. ensiformis* submetidas a doses crescentes de sulfato de cobre cultivadas em casa de vegetação; fluorescência inicial da clorofila *a* (F₀), fluorescência máxima da clorofila *a* (F_m), fluorescência variável da clorofila *a* (F_v), Imperatriz, MA, Brasil.

Em relação à fluorescência da clorofila *a*, na fluorescência inicial (F₀), se constatou efeito significativo em relação às doses crescentes de zinco, mensurando-se valor médio de 371,78 elétrons quantum⁻¹ para esta análise. Portanto, a quantidade de zinco no solo para as plantas de *C. ensiformes* interferiu na F₀ em que a mesma indica quando todos os centros de reação estão abertos.

A variável F₀ é determinada como a frequência de fluorescência quando todos os complexos antenas e centros de reações do fotossistema II estão oxidados (ROUSSEAU et al., 2013), e o aumento nos valores desta variável aponta o esgotamento do centro de reação do FSII, ou a redução na capacidade de transporte de elétrons, pelo desacoplamento do complexo antena do FSII e seu respectivo centro de reação, motivado pela fotoinibição (LOPES, 2016).

Quanto à fluorescência máxima (F_m), verificou-se redução quadrática com o aumento das doses de 0 a 80 mg kg⁻¹ de Zn, evidenciando-se valor máximo de 1220, 71 elétrons quantum⁻¹. Estudos de Joliot; Joliot (2002) e Mehta et al. (2010), apontam que a relação entre F₀ e F_m é proporcional ao pool de plastoquinona. O aumento de F₀ foi acompanhado por redução de 67% de F_m nas plantas sob estresse de Zn, em relação às plantas controle.

Para as doses de zinco observou-se valores crescentes relacionado à F₀, e pode ser indício de danos estruturais nos centros de reação do Fotossistema II ou comprometimento no transporte de energia de excitação dos complexos antena para os centros de reação (BOLHAR

NORDENKAMPF et al., 1989). Segundo os mesmos autores F_0 nem sempre é uma constante, o seu valor pode aumentar caso os centros de reação do FSII estejam danificados, ou se a transferência da energia de excitação da antena para os centros de reação esteja prejudicada.

A diferença entre F_m e F_0 resulta na fluorescência variável (F_v), deste modo, diante dos resultados da F_m , mostrados anteriormente, percebe-se que o mesmo foi maior que a F_0 . A F_v mostrou-se mais sensível a identificação de estresse causado pelo metal. O que pode ser visto com a redução da F_v na dose máxima 80 mg kg^{-1} de Zn (320,49) em relação à dose controle (843,76) (Figura 9). Sugerindo para esta espécie que o estresse pelo metal Zn inibe a transferência de elétrons a partir dos centros de reação (MEHTA et al., 2010).

De acordo com Silva et al. (2015), o indicador F_m representa a intensidade máxima da fluorescência, quando praticamente toda a quinona é reduzida e os centros de reação atingem sua capacidade máxima, sendo indicador do estado fotoquímico das folhas ou mesmo de estresses ambientais quando relacionado a fluorescência variável (F_v).

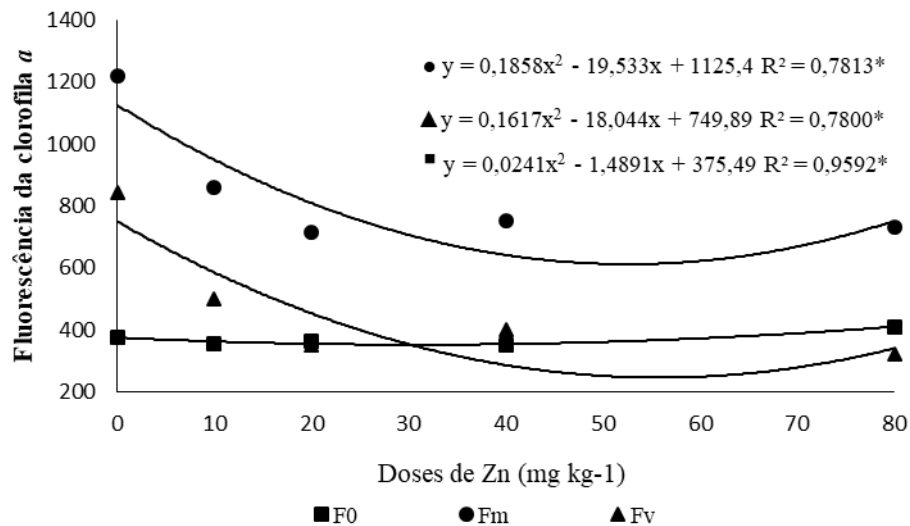


Figura 9- Caracterização da fluorescência da clorofila a de plantas de *C. ensiformis* submetidas a doses crescentes de cloreto de zinco cultivadas em casa de vegetação; fluorescência inicial da clorofila a (F_0), fluorescência máxima da clorofila a (F_m), fluorescência variável da clorofila a (F_v), Imperatriz, MA, Brasil.

Vários fatores podem afetar a simbiose entre planta e bactéria interferindo na nodulação e número de nódulos por planta, entre estes destacam-se a acidez do solo e a disponibilidade de nutrientes (FERREIRA et al., 2009).

O número de nódulos em *C. ensiformes* foi influenciado significativamente ($p < 0,05$) pelas doses de cobre e zinco. Os dados se ajustaram ao modelo de regressão linear decrescente

demonstrando tendência de queda no número de nódulos, com as maiores quantidades de nódulos por plantas dos tratamentos controle, com a quantidade de nódulos 41,50 e 46,75 respectivamente, e as menores quantidades nas plantas do tratamento de dose de 80 mg kg⁻¹, com um total de 13,75 e 7,50 nódulos, para Cu e Zn, respectivamente (Figura 10).

O presente trabalho está de acordo com trabalho de Wani et al. (2008) que, em experimento com solo contaminado com Cu, observaram redução no número de nódulos em plantas de ervilha. Apesar disso, Almeida et al. (2008), ao aferirem o desenvolvimento do feijão-de-porco na presença de Pb, ressaltaram que nenhuma das plantas desenvolveram nódulos, até mesmo aquelas que receberam inoculação com estirpes de rizóbio.

Foi observado a coloração rósea do interior dos nódulos encontrados nas plantas de *Canavalia ensiformis*, em todos os tratamentos, indicando a ocorrência de nódulos efetivos na fixação biológica de N. Esta coloração sugere a exposição da nodulina leghemoglobina. As moléculas de leghemoglobina são proteínas hemo-constituintes, presentes nas células infectadas dos nódulos de leguminosas. As moléculas de leghemoglobina são resultantes da simbiose, sendo sintetizadas em resposta da infecção bacteriana (VERMA; LONG, 1983).

Por outro lado, respostas diferentes no trabalho de Behling et al. (2009), verificaram a presença de nódulos inefetivos de coloração marrom-clara ou verde, superfície externa rugosa e consistência mais mole na soja em solo tratado com lodo, em resposta ao aumento das doses de bio sólido industrial.

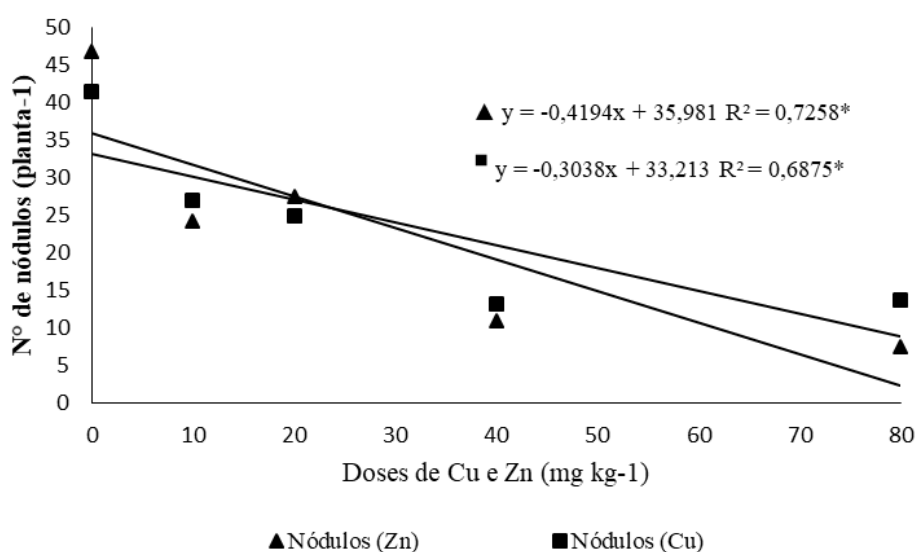


Figura 10- Número de nódulos por plantas de *C. ensiformis* L. submetidas a doses crescentes de sulfato de cobre e cloreto de zinco (0; 10; 20; 40 e 80 mg kg⁻¹). Imperatriz – MA, Brasil, 2021.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O horário de avaliação, por apresentar características ambientais próprias, tem grande influência nas variáveis fisiológicas avaliadas. A intensidade de verde, eficiência quântica do fotossistema II (F_v/F_m) e índice fotossintético obtiveram menores valores no período da tarde entre 12 e 14h.

As doses 10, 20, 40 e 80 mg kg⁻¹ de Cu e Zn induziram alterações fisiológicas que comprometeram o bom desempenho do aparato fotossintético das plantas expostas a esses metais.

Também se observou aumento significativo na fluorescência inicial (F_0), a fluorescência máxima (F_m) e a fluorescência variável (F_v) sofreram declínio. O aumento do teor de Cu e Zn resultou em redução no número de nódulos.

Recomenda-se para melhor entendimento do comportamento da espécie, avaliação do desempenho fotossintético sazonal e diário. Faz-se necessário, estudos em laboratório e em campo a respeito da espécie *C. ensiformis* a fim de determinar sua tolerância a doses mais elevadas dos metais cobre e zinco.

5 REFERÊNCIAS

- AKER, A. M.; PASSOS, A. M. A.; COSTA, R. S. C.; SANTOS, F. C.; LEITE, V. P. D.; MARCOLAN, A. L. Effect of cover crops on physico-chemical attributes of soil in a short-term experiment in the southwestern Amazon region. **African Journal of Agricultural Research**, v. 12, n. 47, p. 3339-3347, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.5897/AJAR2017.12800>.
- ALMEIDA, E. L. D., MARCOS, F. C. C., SCHIAVINATO, M. A., LAGÔA, A. M. M. A., & ABREU, M. F. D. Crescimento de feijão-de-porco na presença de chumbo. **Bragantia**, v.67, n.3, p.569-576, 2008.
- AMBROSINI, V. G.; ROSA, D. J.; PRADO, J. P. C.; BORGHEZAN, M.; MELO, G. W. B. de; SOARES, C. R. F. de S.; COMIN, J. J.; SIMÃO, D. G.; BRUNETTO, G. Reduction of copper phytotoxicity by liming: a study of the root anatomy of young vines (*Vitis labrusca* L.). **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 96, p. 270-280, 2015.
- ARAÚJO, S. A. C.; DEMINICIS, B. B. Fotoinibição da Fotossíntese. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 7, n. 4, p. 463-472, 2009.
- BAKER, B. Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis In Vivo. **Annual Review of Plant Biology**, Boca Raton, v.59, p.89-113, 2008.
- BAKER, N.R.; ROSENQVST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.55, p.1607-1621, 2004.
- BEHLING, M; SOBRINHO, N. M. B. A.; OLIVEIRA, C.; MAZUR, N. Nodulação, acúmulo de nitrogênio no solo e na planta, e produtividade de soja em solo tratado com lodo de estação de tratamento de resíduos industriais. **Bragantia**, Campinas, v. 68, n. 2, p. 453-462, 2009.
- BERTAMINI, M.; NEDUNCHEZHIAN, N. Photoinhibition of photosynthesis in mature and young leaves of grapevine (*Vitis vinifera* L.). **Plant Science**, v. 164, n. 4, p. 635-644, 2003.
- BOCHICCHIO, R.; SOFO, A.; TERZANO, R.; GATTULLO, C. E.; AMATO, M.; SCOPA, A. Root architecture and morphometric analysis of *Arabidopsis thaliana* grown in Cd/Cu/Zn-gradient agar dishes: A new screening technique for studying plant response to metals. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 91, p. 20-27, 2015.
- BOLHÀR-NORDENKAMPF, H.R., LONG, S.P., BAKER, N.R., ÖQUIST, G., SCHREIBERS, U. AND LECHNER, E.G. Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: A review of current instrumentation. **Functional Ecology**, v.3, p.497-514, 1989.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009. 399 p. Disponível http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/12261_sementes_-web.pdf.
- CAMBROLLÉ, J.; GARCÍA, J. L.; FIGUEROA, M. E.; CANTOS, M. Evaluating wild grapevine tolerance to copper toxicity. **Chemosphere**, v. 120, p. 171-178, 2015.

CAMBROLLÉ, J.; MANCILLA-LEYTÓN, J. M.; MUÑOZ-VALLÉS, S.; FIGUEROALUQUE, E.; LUQUE, T.; FIGUEROA, M.E. Effects of copper sulfate on growth and physiological responses of *Limoniastrum monopetalum*. **Environmental Science and Pollution Research**, v.20, n. 12, p. 8839-8847, 2013.

CAMBROLLÉ, J.; MANCILLA-LEYTÓN, J.M.; MUÑOZ-VALLÉS, S.; LUQUE, T.; FIGUEROA, M.E. Tolerance and accumulation of copper in the salt-marsh shrub *Halimione portulacoides*. **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, p. 721–728, 2012.

CAMBROLLÉ, J.; MATEOS-NARANJO, E.; REDONDO-GÓMEZ, S.; LUQUE, T.; FIGUEROA, M. E. Growth, reproductive and photosynthetic responses to copper in the yellow-horned poppy *Glaucium flavum* Crantz. **Environmental and Experimental Botany**, v. 71, p. 57-64, 2011.

CAMPOSTRINI, E. GLENN, D.M. Ecophysiology of papaya: a review. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.19, p.413-424, 2007.

CARNEIRO M. A. C.; SIQUEIRA J. O.; MOREIRA F. M. S. Comportamento de espécies herbáceas em misturas de solo com diferentes graus de contaminação com metais pesados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, p.1629-1638. 2002.

CARVALHO, M.M. **A comparative study of response of six Stylosanthes species to acid soil factors with particular reference to Al**. University of Quesland, Quesland, Tese de Doutorado, 1978.

CHEN, N.; ZHOU, F.; YIN, C.; STRASSER, R.J.; YANG, C.; QIANG, S. Application of fast chlorophyll a fluorescence kinetics to probe action target of 3-acetyl-5- isopropyltetramic acid. **Environmental and Experimental Botany**, v.73, p.31-41. 2011.

CORCUERA, L.; GIL-PELEGRIN, E.; NOTIVOL, E. Intraspecific variation in *Pinus pinaster* FSII photochemical efficiency in response to winter stress and freezing temperatures. **PLoS One**, v. 6, n. 12, p. e28772, 2011.

DE SOUZA, H. A., RATKE, R. F., BOGIANI, J. C., KLEPKER, D., OLIVEIRA JUNIOR, A. D., NATALE, W., FERREIRA, G. B. Manejo da fertilidade do solo em sistemas intensivos de produção de grãos e fibras no bioma Cerrado do Nordeste Brasileiro. **Embrapa Meio-Norte-Capítulo em livro científico (ALICE)**. 2021.

DESOTGIU, R.; POLLASTRINI, M.; CASCIO, C.; GEROSA, G.; MARZUOLI, R.; BUSSOTTI, F. Chlorophyll a fluorescence analysis along a vertical gradient of the crown in a poplar (Oxford clone) subjected to ozone and water stress. **Tree physiology**, v.32, p.976-986. 2012.

DONAGEMA, G. K., DE CAMPOS, D. B., CALDERANO, S. B., TEIXEIRA, W. G., VIANA, J. H. Manual de métodos de análise de solo. **Embrapa Solos-Documentos (INFOTECA-E)**.2011.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise do solo**. 2.ed. Rio de Janeiro, 1997.

FERRAZ, R. L. S.; BELTRÃO, N. E. M.; MELO, A. S.; MAGALHÃES, I. D.; FERNANDES, P. D.; ROCHA, M. S. Trocas gasosas e eficiência fotoquímica de cultivares de algodoeiro herbáceo sob aplicação de silício foliar. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 2, p. 735-748, 2014.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, [s. l.], v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.

FERREIRA, P. A. A.; SILVA, M. A. P.; CASSETARI, A.; RUFINI, M.; MOREIRA, F. M. D. S.; ANDRADE, M. J. B. Inoculação com cepas de rizóbio na cultura do feijoeiro. **Ciência Rural**, v. 39, n. 07, p. 2210-2212, 2009.

FRANCO, M. H. R., LEMOS, V. T., AGUIAR, L. M., FRANÇA, A. C., FERREIRA, E. A., SILVA, D. V. Características fisiológicas do feijoeiro cultivado em solos após fitorremediação do picloram. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 14, n. 4, p. 315-325, 2015.

GAUTAM, S., ANJANI, K., SRIVASTAVA, N. In vitro evaluation of excess copper affecting seedlings and their biochemical characteristics in *Carthamus tinctorius* L. (variety PBNS-12). **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 22, n.1, p.121-129, 2016.

GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental**. 14. ed. Piracicaba: Ed. F P. Gomes, 2000. 477 p.

GONZALEZ-MENDOZA, D., ESCOBOZA-GARCIA, F. E. R. N. A. N. D. O., SANTAMARÍA, J. M., ZAPATA-PEREZ, O. M. A. R. Copper stress on photosynthesis of black mangle (*Avicennia germinans*). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.85, p. 665-670, 2013.

GUISSE, B.; SRIVASTAVA, A.; STRASSER, R. The polyphasic rise of the chlorophyll a fluorescence (OKJIP) in heat-stressed leaves. **Archives des Sciences**, v. 48, n. 2, p. 147-160, 1995.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T. Environmental factors affecting N₂ fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 65, p. 151-164, 2000.

INBARAJ, M. P.; MUTHUCHELIAN, K. Photoinhibition of photosynthesis in leaves of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp. P152) under boron and high irradiance stresses. **Journal of Biosciences Research**, v. 2, n. 2, p. 81-89, 2011.

JOLIOT, P.; JOLIOT, A. Cyclic Eletron Transfer In Plant Leaf. **Plant Biology**, v. 99, n. 15, p. 10209-10124, 2002.

KALAJI, H. M., SCHANSKER, G., BRESTIC, M., BUSSOTTI, F., CALATAYUD, A., FERRONI, L., BAĞA, W. Frequently asked questions about chlorophyll fluorescence, the sequel. **Photosynthesis Research**, v. 132, n. 1, p. 13-66, 2017.

KRAUSE, G. H., WEIS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. **Annual review of plant biology**, v.42, p.313-349, 1991.

KÜPPER, H., ANDRESEN, E. Mechanisms of metal toxicity in plants. **Metallomics**, v.8, p.269- 285. 2016. <https://doi.org/10.1039/C5MT00244C>.

LI, X.; CHEN B.; FENG G.; CHRISTIE. P. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of Zn phytotoxicity and mineral nutrition of host plants. In 17th **WCSS**, Thailand. 2002.

LOPES, M. **Ecofisiologia, nutrição e análise econômica da palma forrageira sob diferentes manejos no Semiárido Brasileiro**. Tese (Doutorado) – Universidade Federal da Paraíba e Universidade Federal Rural de Pernambuco, Fortaleza, 2016.

LOPES, O. M. N. **Feijão-de-porco leguminosa para adubação verde e cobertura de solo**. EMBRAPA-CPATU. Recomendações básicas, 1998.

MARENCO, R.A., ANTEZANA-VERA, A.S., GOUVÊA, P.R.S., CAMARGO, M.A.B., OLIVEIRA, M.F. SANTOS, J.K.S. Fisiologia de espécies florestais da Amazônia: fotossíntese, respiração e relações hídricas. **Revista Ceres**. V.61, p.786-789. 2014.

MARQUES D.M, SILVA A.B, MANTOVANI J.R, PEREIRA D.S, SOUZA T.C. Growth and physiological responses of tree species (*Hymenaea courbaril* L., *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. and *Myroxylon peruiferum* L. F.) exposed to different copper concentrations in the soil. **Revista Árvore**, v.42, p.67-62. 2018.

MARTÍNEZ, D. E.; GUIAMET, J. J. Distortion of the SPAD 502 chlorophyll meter readings by changes in irradiance and leaf water status. **Agronomie**, v. 24, n. 01, p. 41-46, 2004.

MATEOS-NARANJO, E.; REDONDO-GÓMEZ, S.; CAMBROLLÉ, J.; LUQUE, T. FIGUEROA, M.E. Growth and photosynthetic responses to zinc stress of an invasive cordgrass *Spartina densiflora*. **Plant Biol.**, v.10, p.754-762, 2008.

MEHTA, P.; JAJOO, A.; MATHUR, S.; BHARTI, S. Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on photosystem II in wheat leaves. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 1, p. 16–20, 2010.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2006, 729 p.

MOUSTAKAS, M.; ELEFThERIOU, E.P.; OUZOUNIDOU, G. Short-term effects of aluminum at alkaline pH on the structure and function of the photosynthetic apparatus. **Photosynthetica**, Prague, v.34, p.169-177, 1997.

MUNNS, D. N.; FRANCO, A. A. Soil constraints to legume production. In: **Biological nitrogen fixation technology for tropical agriculture**. Papers. p. 133-152. 1982.

MUSTAFA, G.; KOMATSU, S. Toxicity of heavy metals and metal-containing nanoparticles on plants. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1864, n.8, p. 932-44, 2016.

NEVES, M. C. P.; RUMJANEK, N. G. Diversity and adaptability of soybean and cowpea rhizobium in tropical soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 29, n. 5-6, p. 889-895, 1997.

PAUNOV, M., KOLEVA, L., VASSILEV, A., VANGRONSVELD, J., GOLTSEV, V. Effects of different metals on photosynthesis: cadmium and zinc affect chlorophyll fluorescence in durum wheat. **International journal of molecular sciences**, v.19, n.3, p.787, 2018.

PEIXOTO, P.H.P.; DA MATTA, F.M.; CAMBRAIA, J. Responses of the photosynthetic apparatus to aluminum stress in two sorghum cultivars. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.25, p.821-832, 2002.

PEREIRA, W.E.; SIQUEIRA, D.L.; MARTINEZ, C.A.; PUIATTI, M. Gas exchange and chlorophyll fluorescence in four citrus rootstocks under aluminium stress. **Journal of Plant Physiology**, v.157, p.513-520, 2000.

PIRES, F. R.; SOUZA, C.M.; SILVA, A.A.; PROCÓPIO, S.O.; FERREIRA, L.R. Fitorremediação de solos contaminados com herbicidas. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v.21, n.2, p.335-341, 2003.

PÔRTO, M. L., PUIATTI, M., FONTES, P. C. R., CECON, P. R., ALVES, J. D. C., DE ARRUDA, J. A. SPAD index for nitrogen status diagnosis of zucchini plants. **Horticultura Brasileira**, v.29, n.3, p.311-315, 2011.

RAIJ B. V., CANTARELLA, H., QUAGGIO, J. A., FURLANI, A. M. C. **Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. Campinas: Instituto Agrônomo/Fundação IAC, 1997. 285 p.

RAIJ B. V., QUAGGIO J. A., CANTARELLA H., ABREU C. A., ANDRADE J. C. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas. 2001. 385 pp.

RIBEIRO, R.V.; MACHADO, E.C.; OLIVEIRA, R.F. Early photosynthetic responses of sweet orange plants infected with *Xylella fastidiosa*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.62, p.167-173, 2003.

RODRIGUES, L., ROGGIA, S., CRUSIOL, L., CAVALLARI, L., PEREIRA, J., FERRARI, F. Teor de clorofila e NDVI de soja em resposta ao ataque do percevejo-marrom, *Euschistus heros*. In **Embrapa Soja-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: JORNADA ACADÊMICA DA EMBRAPA SOJA, v.8, 2013, Londrina. Resumos expandidos... Londrina: Embrapa Soja, 2013. p. 129-132. (Embrapa Soja. Documentos, 339).

ROHÁČEK, K. Chlorophyll fluorescence parameters: the definition, photosynthetic meaning, and mutual relationship. **Photosynthetica**, Prague, v.40, n.1, p.13-29, 2002.

RONQUIM, C. C. Conceitos de fertilidade do solo e manejo adequado para as regiões tropicais /Carlos Cesar Ronquim. – Campinas: Embrapa Monitoramento por Satélite: il. (**Embrapa Monitoramento por Satélite. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, v.8, 2010 26 p.). ISSN 1806-3322.

ROSENQVIST, E.; VAN KOOTEN, O. Chlorophyll fluorescence: a general description and nomenclature. In: Practical applications of chlorophyll fluorescence in plant biology. **Springer**, Boston, MA, p. 31-77, 2003.

ROUSSEAU, C., BELIN, E., BOVE, E., ROUSSEAU, D., FABRE, F., BERRUYER, R., BOUREAU, T. High throughput quantitative phenotyping of plant resistance using chlorophyll fluorescence image analysis. **Plant methods**, v.9, n.1, p.1-13, 2013.

SANTANA, N. A.; FERREIRA, P. A. A.; SORIANI, H. H.; BRUNETTO, G.; NICOLOSO, F. T.; ANTONIOLLI, Z. I.; JACQUES, R. J. S. Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and vermicompost on copper phytoremediation in a sandy soil. **Applied Soil Ecology**, v. 96, p. 172-182, 2015.

SARWAR, N., IMRAN, M., SHAHEEN, M. R., ISHAQUE, W., KAMRAN, M. A., MATLOOB, A., HUSSAIN, S. Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: modifications and future perspectives. **Chemosphere**, v. 171, p. 710-721, 2017.

SHINOZAKI, K; UEMURA, M.; BAILEY-SERRES, J.; BRAY, E. A.; WERETILNYK, E. Responses to abiotic stress. In: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. (Eds.). **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. 2th ed. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd, p. 1051-1100, 2015.

SIEDLECKA, A. N. N. A., & KRUPA, Z. B. I. G. N. I. E. W. Rubisco activity maintenance in environmental stress conditions-how many strategies. **Cellular and Molecular Biology Letters**, v.9, p.56-57, 2004.

SILVA, F. G. D., DUTRA, W. F., DUTRA, A. F., OLIVEIRA, I. M. D., FILGUEIRAS, L., MELO, A. S. D. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em plantas de berinjela sob lâminas de irrigação. **Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental**, v.19, p.946-952, 2015.

SILVA, R. F. D., DA ROS, C. O., ANTONIOLLI, Z. I., GROLLI, A. L., SCHEID, D. L., BERTOLLO, G. M., MISSIO, E. L. Crescimento e tolerância de mudas de *Enterolobium contortisiliquum* Vell. cultivadas em solo contaminado com zinco. **Ciência Florestal**, v. 28, p. 979-986, 2018a.

SILVA, V.A.; PRADO, F.M.; ANTUNES, W.C.; PAIVA, R.M.C.; FERRÃO, M.A.G.; ANDRADE, A.C.; DIMASCIO, P.; LOUREIRO, M.E.; DAMATTA, F.M.; ALMEIDA, A.M. Reciprocal grafting between clones with contrasting drought tolerance suggests a key role of abscisic acid in coffee acclimation to drought stress. **Plant Growth**, s.n.t, 2018b.

SOUZA, E. P.; SILVA, I. F.; FERREIRA, L. E. Mecanismos de tolerância a estresses por metais pesados em plantas. **Revista Brasileira Agrocência**, Pelotas, v.17, n.2-4, p.167-173, 2011.

SQUIBA, L. M.; PREVEDELLO, B.M.S; LIMA, M. R. Como coletar amostras de solo para análise química e física (culturas temporárias). Curitiba: Universidade Federal do Paraná, **Projeto Solo Planta**, 2002.

STIRBET, A., GOVINDJEE. On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll a fluorescence induction) and Photosystem II: Basics and applications of the OJIP fluorescence transient. **Journal of Photochemistry and PhotoBiology**. 2011.

STIRBET, A., LAZÁR D., KROMDIJK, J., GOVINDJEE G. Chlorophyll a fluorescence induction: can just a one-second measurement be used to quantify abiotic stress responses? **Photosynthetica**, v.56, p.86–104, 2018. <https://doi.org/10.1007/s11099-018-0770-3>.

STRASSER, P., KOH, S., ANNIYEV, T., GREELEY, J., MORE, K., YU, C., NILSSON, A. Lattice-strain control of the activity in dealloyed core–shell fuel cell catalysts. **Nature chemistry**, v. 2, n. 6, p. 454-460, 2010.

STRASSER, R. J.; SRIVASTAVA, A.; TSIMILLI-MICHAEL, M. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. **Probing photosynthesis: mechanisms, regulation and adaptation**, p. 445-483, 2000.

STRASSER, R. J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; SRIVASTAVA, A. Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. In: Chlorophyll a fluorescence. Springer, Dordrecht, p. 321-362, 2000.

TETENS, V. O. Über einige meteorologische Begriffe, **Zeitschrift Geophysic**, Wurzburg, v. 6, p. 297-309, 1930.

THACH, L.B.; SHAPCOTT, A.; SCHMIDT, S.; CRITCHLEY, C. The OJIP fast fluorescence rise characterizes Graptophyllum species and their stress responses. **Photosynthesis Research**, v.94, p.423-436, 2007.

TIECHER, T. L.; CERETTA, C. A.; FERREIRA, P. A. A.; LOURENZI, C. R.; TIECHER, T.; GIROTTO, E.; NICOLOSO, F. T.; SORIANI, H. H.; DE CONTI, L.; MIMMO, T.; CESCO, S.; BRUNETTO, G. The potential of *Zea mays* L. in remediating copper and zinc contaminated soils for grapevine production. **Geoderma**, v. 262, p. 52-61, 2016a.

TIECHER, T. L.; TIECHER, T.; CERETTA, C. A.; FERREIRA, P. A. A.; NICOLOSO, F. T.; SORIANI, H. H.; TASSINARI, A.; PARANHOS, J. T.; DE CONTI, L.; BRUNETTO, G. Physiological and nutritional status of black oat (*Avena strigosa* Schreb.) grown in soil with interaction of high doses of copper and zinc. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 106, p. 253-263, 2016b.

TORRES NETTO, A. **Atributos fisiológicos e relações hídricas em genótipos de mamoeiro (*Carica papaya* L.) na fase juvenil**. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF, 116p. 2005.

TORRES NETTO, A.; CAMPOSTRINI, E.; OLIVEIRA, J.G.; BRESSAN-SMITH, R.E. Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll a fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 104, n. 2, p. 199-209, 2005.

TSIMILLI-MICHAEL M.; STRASSER, R.J. In vivo assessment of plant's vitality: applications in detecting and evaluating the impact of mycorrhization on host plants. In: VARMA, A. (Ed.). Mycorrhiza: State of the Art, Genetics, and Molecular Biology, Eco- 34 **Function, Biotechnology**, Eco-Physiology, Structure, and Systematics, 3rd edition Springer, Dordrecht, p. 679-703, 2008.

TSIMILLI-MICHAEL, M.; STRASSER, R. J. Fingerprints of climate changes on the photosynthetic apparatus' behaviour, monitored by the JIP-test. In: "Fingerprints" of Climate Change. **Springer**, Boston, MA, p. 229-247, 2001

VERMA, D. P.; LONG, S. The molecular biology of Rhizobium-legume symbiosis. **Internacional Review of Cytology**, v. 158, p. 151-162. 1983.

WANI, P.A.; KHAN, M.S. & ZAIDI, A. Effects of heavy metal toxicity on growth, symbiosis, seed yield and metal uptake in pea grown in metal amended soil. **Bull. Environ. Contam. Toxicol**, v.81, p.152-158, 2008.

YADAV, S; SHANKAR, A; RAI, S; RAI, R; SINGH, S; & RAI, L.C. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis under abiotic stress. **Environment and Photosynthesis a Future Prospect**, India, p.287-304, 2018.

YANG, W., DING, Z., ZHAO, F., WANG, Y., ZHANG, X., ZHU, Z., YANG, X. Comparison of manganese tolerance and accumulation among 24 *Salix* clones in a hydroponic experiment: application for phytoremediation. **Journal of Geochemical Exploration**, Amsterdam, v. 149, p. 1-7, 2015.

YANG, Y.; SUN, C.; YAO, Y.; ZHANG, Y.; ACHAL, V. Growth and physiological responses of grape (*Vitis vinifera* “Comber”) to excess zinc. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 33, n. 4, p. 1483-1491, 2011.

YUSUF, M.A.; KUMAR, D.; RAJWANSHI, R.; STRASSER, R.J.; TSIMILLIMICHAEL, M.; GOVINDJEE; SARIN, N.B. Overexpression of γ -tocopherol methyl transferase gene in transgenic *Brassica juncea* plants alleviates abiotic stress: Physiological and chlorophyll a fluorescence measurements. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1797, p.1428– 1438, 2010.

ZANANDREA, I., DE LIMA NASSI, F., TURCHETTO, A. C., BRAGA, E. J. B., PETERS, J. A., BACARIN, M. A. Efeito da salinidade sob parâmetros de fluorescência em *Phaseolus vulgaris*. **Current Agricultural Science and Technology**, Pelotas, v. 12, n. 2, p. 157-161, 2006.

CAPÍTULO III

POTENCIAL DE FITORREMEDIAÇÃO DA *Canavalia Ensiformis* L. PARA COBRE E ZINCO

RESUMO

Constantes aplicações de insumos agrícolas que contém cobre e zinco em sua composição têm ocasionado excesso da sua concentração em solos, isto, colabora para alterações negativas no desenvolvimento das plantas. A fitorremediação é uma técnica de baixo custo financeiro e baixo impacto ambiental que pode auxiliar na solução deste problema. O presente estudo teve por objetivo avaliar o potencial fitorremediador da *Canavalia ensiformis*, em relação aos metais potencialmente tóxicos cobre (Cu) e zinco (Zn) em doses crescentes no solo. O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação, em delineamento inteiramente casualizado para ambos os metais. O solo foi tratado com cinco doses de cobre e zinco equivalentes a (0, 10, 20, 40 e 80 mg kg⁻¹) com quatro repetições, cada vaso recebeu uma muda de *C. ensiformis* L., totalizando quarenta vasos. Foram coletados dados morfológicos (altura, diâmetro do caule e número de folhas), biomassa seca, teores de Cu e Zn na parte aérea e raiz, para determinação dos metais foi utilizado o extrator Mehlich⁻¹, as amostras foram analisadas por espectrometria de absorção atômica com atomização em chama. Fatores de bioacumulação (FB) e translocação (FT) foram calculados para avaliar a presença do metal nas partes da planta e índice de tolerância. Os dados foram submetidos à análise de variância e regressão (p<0,05). Os resultados evidenciaram que as doses Cu e Zn reduziram os valores dos parâmetros morfológicos de *C. ensiformis*. O FT apresentou valores >1 para zinco. As plantas foram tolerantes ao Cu e Zn, demonstrando seu potencial como fitoextratoras para esses metais.

Palavras-Chave: Fator de translocação. Fator de bioacumulação. Fitoextração. Tolerância.

ABSTRACT

Constant applications of agricultural inputs that contain copper and zinc in their composition have caused excess concentration in soils, which contributes to negative changes in plant development. Phytoremediation is a technique of low financial cost and low environmental impact that can help to solve this problem. This study aimed to evaluate the phytoremediation potential of *Canavalia ensiformis*, in relation to potentially toxic metals copper (Cu) and zinc (Zn) in increasing doses in the soil. The experiment was carried out in a greenhouse, in a completely randomized design for both metals. The soil was treated with five doses of copper and zinc equivalent to (0, 10, 20, 40 and 80 mg kg⁻¹) with four replications, each pot received a seedling of *C. ensiformis* L., totaling forty pots. Morphometric data (height, stem diameter and number of leaves), dry biomass, Cu and Zn contents in the shoot and root were collected. The Mehlich⁻¹ extractor was used to determine the metals. The samples were analyzed by atomic absorption spectrometry with flame atomization. Bioaccumulation (FB) and translocation (TF) factors were calculated to assess the presence of the metal in plant parts and tolerance index. Data were submitted to analysis of variance and regression ($p < 0.05$). The results showed that the Cu and Zn doses reduced the values of the morphological parameters of *C. ensiformis*. TF showed values >1 for zinc. The plants were tolerant to Cu and Zn, demonstrating their potential as phytoextractors for these metals.

Key words: Translocation factor. Bioaccumulation factor. Phytoextraction. Tolerance.

1 INTRODUÇÃO

Micronutrientes metálicos, como o cobre (Cu) e zinco (Zn), apesar de essenciais para o crescimento e desenvolvimento característico das plantas, são tóxicos quando em excesso no ambiente, afetando a dinâmica no sistema solo-planta e suas interações (MARQUES et al., 2011).

O cobre no solo em excesso diminui o potencial de desenvolvimento das plantas por agir nos mecanismos bioquímicos e fisiológicos das plantas, o que pode afetar as organelas celulares e até mesmo impedir a fotossíntese (MENEGAES et al., 2019). A contaminação em solos agrícolas é muito comum e deriva do uso frequente de fertilizantes e pesticidas para aumentar a produção agrícola e reduzir a incidência de pragas e doenças (GONZAGA et al., 2020).

O Zn pode ser encontrado em vários resíduos ou rejeitos produzidos em alta quantidade pela população (LUX RESEARCH, 2009), como nos descartes de equipamentos eletrônicos (INTERNATIONAL SOLID WASTE ASSOCIATION, 2012), dejetos líquidos de suíno (BASSO et al., 2012), lodo de esgoto e biossólidos (KABATA-PENDIAS, 2010). E também pode, em excesso, exibir toxidez para planta retardando o seu desenvolvimento e até atrasando a produção de plantas frutíferas (MELO et al., 2016).

O uso de plantas com capacidade para extrair metais potencialmente tóxicos do solo por meio de absorção é um procedimento eficiente e realizado *in situ*. O sucesso do processo de fitorremediação depende da capacidade da planta selecionada de realizar a remoção e estabilização do metal em toda a sua estrutura. Algumas plantas possuem tolerância alta na absorção de metais em relação a outras (BOLDARINI, 2017; ZEMIANI, 2017). De acordo com Estrela et al. (2018), esta é uma tecnologia emergente e de baixo custo que pode diminuir a contaminação por metais potencialmente tóxicos.

Segundo Taiti et al. (2016), as plantas podem ser receptores passivos de metais potencialmente tóxicos, entretanto também podem exercer controle sobre a translocação e rejeição de alguns elementos por reações fisiológicas específicas.

A remediação de solos agrícolas contaminados com Cu é de suma importância para evitar a contaminação da cadeia alimentar e manter a produtividade das culturas (GONZAGA et al., 2020). Em todas as fases do crescimento, altas concentrações de Cu, nas culturas alimentares, afetam significativamente a morfologia e fisiologia das plantas (LI et al., 2018; REHMAN et al., 2019; SALEEM et al., 2020; ZHOU et al., 2019).

Plantas de cobertura tendem a auxiliar no controle da erosão e na fertilidade do solo (MACKIE; MÜLLER; KANDELER, 2012), preferencialmente as nativas e as ornamentais que se desenvolvem vigorosamente em ambientes contaminados por metais potencialmente tóxicos, sendo a fitorremediação uma tática de boa relação custo-benefício, principalmente ambiental (MARQUES; AGUIAR; SILVA, 2011).

O feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*) é uma leguminosa bastante comum, se caracteriza por ser uma leguminosa rústica de origem americana e crescimento ereto, que se adapta a solos com baixa fertilidade. Alguns estudos recentes mostram que esta espécie possui capacidade de acumular metais nos seus tecidos (PUGA et al., 2015).

O objetivo com esta pesquisa avaliar o potencial da espécie *C. ensiformes* L. como fitorremediador de cobre e zinco no solo. Adicionalmente objetivou-se avaliar os impactos de doses crescentes desses metais no crescimento morfométrico, produção de biomassa seca, teores dos metais na parte aérea e raiz, fator de bioacumulação, translocação e índice de tolerância dessa espécie.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material Vegetal e Condições de cultivo

O experimento foi realizado em condições de casa de vegetação na Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão (UEMASUL), MA. Imperatriz, Maranhão, localizado entre as coordenadas geográficas 5° 31' 32" de latitude S e 47° 26' 35" de longitude O, com altitude média de 92 metros acima do nível do mar. De acordo com a Köppen & Geiger (1928) o clima é classificado como Aw, com temperatura média de 26,4°C e pluviosidade média anual de 1476 mm.

O experimento foi instalado e conduzido no campus da UEMASUL, em condições de casa de vegetação. As amostras de solo foram coletadas segundo a norma ABNT/NBR10.007, para amostragem de resíduos sólidos, posteriormente, foram levadas e armazenadas no laboratório de Química Ambiental do Campus. As amostras são oriundas de áreas preservadas próximo ao aterro sanitário do município de Imperatriz – MA, com coordenadas geográficas 5° 25' 34.2" S 47° 32' 26.4" W.

As sementes da espécie *C. ensiformes* foram adquiridas da empresa BRSEEDS. A viabilidade das sementes adquiridas comercialmente, foram submetidas ao teste de sanidade e germinação, conforme descrito por Brasil (2009). Caracterização do solo: pH CaCl₂: 4,68, pH H₂O: 5,68, CTC: 11,18 cmol c dm⁻³, matéria orgânica (MO): 4,81 g kg⁻¹.

2.2 Delineamento Experimental

A maioria dos estudos com fitorremediadores trabalham com a experimentação em casa de vegetação, pois as condições experimentais podem ser bem controladas, por essa causa, o delineamento experimental mais empregado é o inteiramente casualizado (DIC), já que este, parte da hipótese de que deve ter homogeneidade nas condições experimentais (KRAUSE, 2011).

Por isso, foi utilizado o (DIC), os tratamentos consistiram em cinco doses (0, 10, 20, 40 e 80 mg kg⁻¹) de cloreto de zinco (ZnCl₂) e (0, 10, 20, 40 e 80 mg kg⁻¹) de sulfato de cobre (CuSO₄), com 4 repetições.

O modelo matemático do referido delineamento, segundo Banzatto; Kronka (2006) é:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + \epsilon_{ij}$$

Onde: μ = média geral.

t_i = efeito do i -ésimo tratamento

ϵ_{ij} = erro experimental ou resíduo.

2.3 Variáveis

2.3.1 Medições dos parâmetros biométricos e acúmulo de biomassa

Foram realizadas as seguintes avaliações: altura da planta; número de folhas; diâmetro do caule; massa seca da parte aérea e das raízes. Ao final de 75 dias de cultivo foi feita a coleta do material vegetal, separado em parte aérea (folhas e caule) e raízes, lavados em água destilada e secos com papel toalha. Todas as medidas de crescimento vegetal foram realizadas de acordo com Benincasa (2003).

2.4 Experimento de fitorremediação

Esse experimento foi baseado na metodologia de Tavares, Oliveira; Salgado (2013). Para a realização deste experimento o solo foi contaminado com as espécies metálicas estudadas, que depois de seco ao ar, as suas propriedades químicas, físicas e teores dos metais foram determinadas. Foram pesados 2,0 kg de solo em vasos de polietileno, perfazendo um total de 40 unidades experimentais. Esses vasos foram mantidos em casa de vegetação da Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão em Imperatriz – MA.

Depois de secas, as partes da planta (parte aérea e sistema radicular) foram pesadas para a determinação da biomassa e, em seguida, moídas em moinho, no Laboratório de Química Ambiental da UEMASUL. Depois de moídas, as partes das plantas foram acondicionadas em recipiente de polietileno e direcionadas para análises, com o objetivo de determinar os teores das espécies metálicas Cu e Zn fitoextraídos.

2.4.1 Extração de metais biodisponíveis no solo antes e após o plantio

2.4.1.1 Mehlich⁻¹

Para a determinação dos metais pesados presentes nos solos foi utilizado o método Mehlich⁻¹ (MEHLICH, 1953). Foram pesados 5,000g de TFSA, de cada solo, e de matéria seca da parte aérea e raiz de *C. ensiformis* em frascos cônicos de polietileno e adicionou-se 40 ml de

solução extratora de Mehlich⁻¹ (HCl 0,05 mol.l⁻¹ + H₂SO₄ 0,0125 mol.l⁻¹). Em seguida a mistura foi agitada por cinco minutos a 220 rpm em agitador mecânico orbital e filtrada em papel de filtro quantitativo (Whatman 44). Durante os processos de extração, foi realizado um controle branco das soluções extratoras para cada conjunto de amostra analisada no mesmo dia. As análises foram feitas em quadruplicata.

2.4.1.2 Determinação de metais potencialmente tóxicos de Cu e Zn por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS)

As determinações das espécies metálicas de Cu e Zn nas amostras de solo e na *C. ensiformis* foram feitas por (FAAS), com corretor de fundo com lâmpada de deutério. Soluções padrão utilizadas para a calibração do instrumento foram preparadas com base em alíquotas de uma solução estoque de 1000 mg L⁻¹.

2.4.1.3 Avaliação da eficiência da absorção de cobre e zinco em *C. ensiformis* L.

Algumas espécies podem se apresentar tolerantes ao metal, mas nem sempre são hiperacumuladoras. Para tanto, foram utilizados fatores que avaliam a resposta do metal na planta (BATISTA, 2015).

Para avaliar o potencial de *C. ensiformis* L. na extração de zinco do solo para classificá-la como espécie hiperacumuladora, foram utilizados o fator de bioacumulação (FB) é a concentração do metal nos tecidos da planta/concentração do metal no solo e fator de translocação (FT) é a concentração de metais da parte aérea/concentração de metais das raízes, e índice de tolerância (IT) Onde, IT é a massa seca da planta na dose de interesse de cada tratamento (g) /massa seca do controle (g) multiplicado por 100 (LOPES, 2015), descritos nas seguintes equações:

$$\text{Fator de Bioacumulação (FB)} = \frac{\text{Concentração do metal no tecidos da planta}}{\text{Concentração do metal no solo}}$$

$$\text{Fator de Translocação (FT)} = \frac{\text{Concentração do metal na parte aérea}}{\text{concentração do metal nas raízes}}$$

$$\text{Índice de Tolerância IT (\%)} = \frac{\text{Massa seca da planta na dose de interesse (g)}}{\text{Massa seca controle (g)}} \times 100$$

2.5 Estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F) significância estatística (5% de probabilidade), e os efeitos das doses de cobre e zinco foram estudados por meio das análises de regressão polinomial (linear e quadrática). Utilizou-se o programa estatístico SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2019) para análise estatística do estudo.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os parâmetros morfológicos analisados, as doses de Cu causaram efeito significativo sobre número de folhas, diâmetro do caule, altura, massa seca da parte aérea e radicular ao nível de 5% de probabilidade de erro (Tabela 1). A análise de regressão revelou alterações significativas ($p \leq 0,05$) nos parâmetros avaliados em função das doses de Cu (Tabela 1), com exceção ao diâmetro do caule que não foi significativo no modelo linear ($R^2=0,05\%$) e não se ajustou ao modelo quadrático com o ($R^2= 24,36\%$).

Tabela 1 - Quadrado médio e significância da análise de variância, médias e regressões para a quantificação das variáveis: número de folhas; diâmetro do caule; altura; massa seca da parte aérea e raízes de *C. ensiformis* cultivadas em solo contaminado por cobre.

Quadrado médio dos tratamentos de cobre em <i>Canavalia ensiformis</i>					
FV	Nº de Folhas (Unidade)	Diâmetro do Caule (cm)	Altura (cm)	Massa seca	
				Parte aérea (g)	Raiz (g)
Tratamentos	33,57*	1,44 *	58,70*	5,20*	5,87*
Média	23,10 ± 1,54	5,25 ± 0,11	114,10±1,92	19,85±0,60	4,25±0,48
CV (%)	13,39	4,23	3,38	6,07	22,93
Cu (mg kg ⁻¹)	Valores médios				
0 (controle)	27,00	5,71	117,75	19,75	3,00
10	24,00	4,61	117,75	21,00	3,25
20	22,25	5,68	114,00	21,00	4,00
40	19,00	4,58	108,75	19,00	5,25
80	23,25	5,68	112,25	18,50	5,75
Regressão p valor	-	0,8070	0,0051	-	0,0002
Linear					
Quadrática	0,0401	0,0001	-	0,0275	-

Médias (n = 4) ± desvio-padrão; FV: fonte de variação; CV: coeficiente de variação; *: significativo ao nível de 5%; ns: não significativo; cm: centímetro; g: gramas. *Letras iguais não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte: Próprio autor.

As plantas submetidas às doses de zinco apresentaram diferença significativa no teste F para número de folhas, diâmetro do caule e altura das plantas de *C. ensiformes*, observa-se que os tratamentos tiveram efeito significativo ao nível de 5%. O efeito da adição do metal Zn ao solo refletiu de forma significativa nas variáveis biomassa das parte aérea e raízes (Tabela 2). Os resultados da tabela 2 mostram que a planta de *C. ensiformis* tem uma altura média de 120,85 e coeficiente de variação baixo (2,34%). O diâmetro médio de caule da *C. ensiformis* diminuiu com o acréscimo do zinco ao solo. As médias do diâmetro foram de 4,51 e 3,31 cm para o tratamento controle e a maior dose (80 mg kg⁻¹), respectivamente.

Tabela 2 - Quadrado médio e significância da análise de variância, médias e regressões para a quantificação das variáveis: número de folhas; diâmetro do caule; altura; biomassa seca da parte aérea e raízes de *C. ensiformis* cultivadas em solo contaminado por zinco.

Quadrado médio dos tratamentos de zinco em <i>Canavalia ensiformis</i>					
FV	N° de Folhas (Unidade)	Diâmetro do Caule (cm)	Altura (cm)	Biomassa seca	
				Parte aérea (g)	Radicular (g)
Tratamentos	31,30*	1,02*	23,70*	78,32*	1,55*
Média	29,55 ± 1,28	3,71 ± 0,18	120,85±1,41	22,35±0,97	3,45±0,33
CV (%)	8,73	9,96	2,34	8,74	19,44
Zn (mg kg ⁻¹)	Valores médios				
0 (controle)	32,50	4,51	124,00	26,00	4,50
10	31,25	3,83	122,00	27,25	3,50
20	30,50	3,62	121,00	22,25	3,25
40	28,00	3,26	119,75	19,75	3,00
80	25,50	3,31	117,50	16,50	3,00
Linear	0,0006	-	0,0081	0,0000	0,0403
Quadrática	-	0,0055	-	-	-

Médias (n = 4) ± desvio-padrão; FV: fonte de variação; CV: coeficiente de variação; *: significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo; cm: centímetro; g: gramas. Fonte: Próprio autor.

Parâmetros de crescimento das plantas são usados como bioindicadores da toxicidade do metal, e diminuições consideráveis no crescimento das plantas definem os limites para a seleção de plantas tolerantes (LEVIZOU et al., 2016).

Analisando a Figura 1, nota-se que houve redução progressiva da altura de plantas de *C. ensiformis* com o aumento das doses de cobre, porém na dose 10 mg kg⁻¹ foi igual a dose controle, isso se explica pelo fato do cobre ser um elemento essencial às plantas. Todavia, a redução na altura de plantas foi sensível, comprometendo severamente o desenvolvimento da planta utilizada.

As alturas das plantas de *C. ensiformis* apresentaram uma tendência linear decrescente para o cobre e zinco. Observou-se os maiores valores na dose controle 117,75 e 124,0 Cu e Zn, respectivamente, porém, com redução de 4,9 e 5,53% na maior dose de Zn em relação à dose zero (Figura 1). Nas plantas de *C. ensiformis* submetidas a doses de Cu, o coeficiente de determinação foi mais baixo que o as submetidas ao zinco ($R^2 = 0,6814$). Nas plantas verificou-se que quanto maior a dose de Zn menor é o crescimento em altura das plantas ($R^2 = 0,9336$) (Figura 1).

Sousa (2010), também evidenciou diminuição no crescimento das mudas de *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth com o aumento das doses de zinco. Marco et al., (2017), que utilizaram

6 doses de cobre (0, 60, 120, 180, 240, 300 mg kg⁻¹ de solo), também notaram a redução da altura das mudas de *E. grandis* na presença do cobre.

O Zn é um elemento essencial para o desenvolvimento das plantas, por estar presente em seis classes de enzimas, desempenhando funções estruturais ou como catalizador (BROADLEY et al., 2007; HOODA, 2010). Desse modo, essas doses iniciais permitiram teores de suficiência de Zn no solo para o crescimento em altura das plantas de *C. ensiformis*.

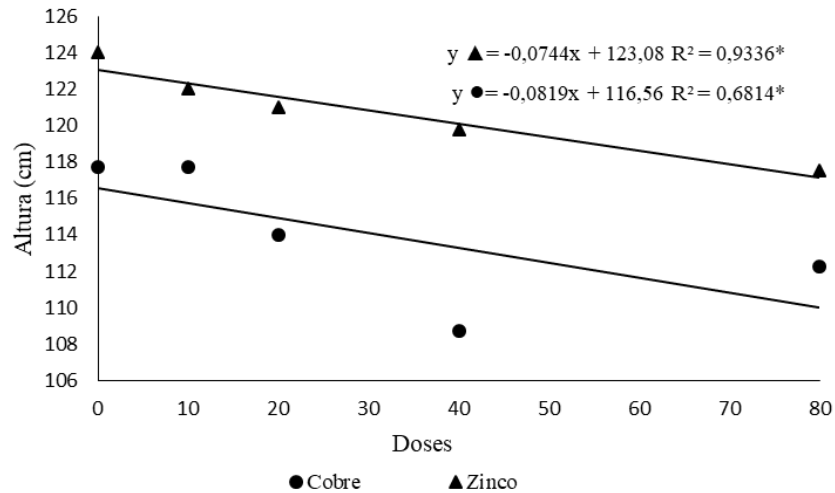


Figura 1- Altura de *Canavalia ensiformis* L. em resposta ao aumento de concentrações de cobre e zinco no solo.

Para o número de folhas, conforme elevou-se a concentração de zinco, houve diminuição de folhas, ajustando-se ao modelo linear de regressão e quadrática para o cobre, com decréscimo de 27,5 e 16,1%, concomitantemente, na maior dose (80 mg kg⁻¹) em relação ao controle (Figura 2). A regressão polinomial evidencia um coeficiente de determinação alto, ($R^2=0,9784$) para Zn, ($R^2=0,9891$) para Cu, demonstrando que com o aumento das concentrações aplicadas de Cu e Zn, houve diminuição desses atributos (Figura 2).

Os metais potencialmente tóxicos são constituintes de enzima que controlam diferentes processos nas plantas (MALAVOLTA, 1994). Diante disso, observa-se que as altas concentrações de Zn utilizadas interferiram no crescimento e desenvolvimento das plantas.

O decréscimo do número de folhas, de forma global, causa a redução da área foliar, assim, reduz a taxa fotossintética, conseqüentemente incidirá uma menor produção e translocação de fotoassimilados para as diferentes partes da planta (raiz, caule, folha e fruto), fato este que altera seu crescimento (TAIZ et al., 2017; SU et al., 2017; HUANG et al., 2018).

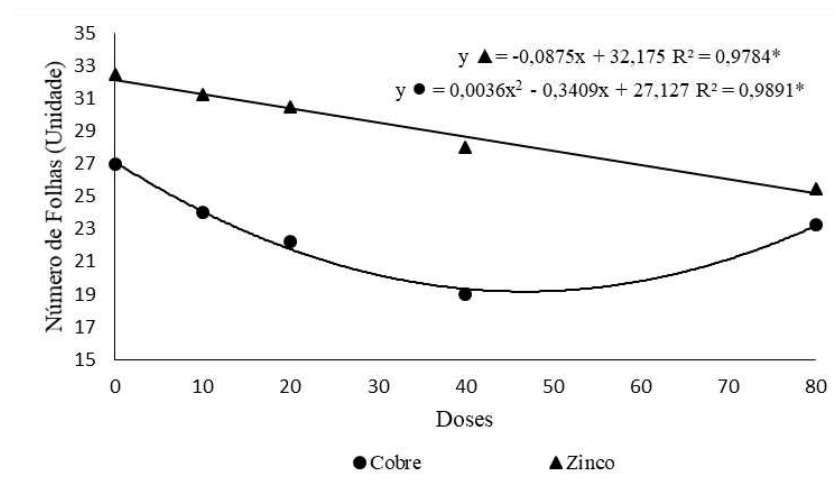


Figura 2- Número de folhas de *Canavalia ensiformis* L. em resposta ao aumento de concentrações de cobre e zinco no solo.

A produção de biomassa seca das raízes (Figuras 3B) apresentou correlação negativa com as doses de Zn no solo ($R^2 = 0,8990$) para a *C. ensiformis*. Houve redução da biomassa seca da parte aérea submetidas a doses de zinco pelo modelo linear e em relação ao cobre acarretou redução pelo modelo quadrático, ocorrendo variação significativa ($p < 0,05$). A correlação negativa da produção de biomassa com os teores de Zn no solo mostra a intensidade em que o crescimento foi afetado.

Ao comparar o controle com a maior dose aplicada (80 mg kg^{-1} de Cu e Zn), observa-se que a presença dos elementos promoveu uma redução na biomassa seca da parte aérea de aproximadamente 57,6 e 6,8%, respectivamente (Figura 3A e 3B). A redução no crescimento e na produção de massa de matéria seca da planta sob alta concentração de metal tem sido associado a fitotoxicidade e ao comprometimento na absorção e metabolismo de nutrientes (ZANCHETA et al., 2011).

As biomassas radiculares apresentaram efeito significativo ($p < 0,05$) e comportamentos quadráticos em função do aumento na concentração de Zn na solução, foi reduzida em 50% quando a concentração de Zn aumentou para 80 mg kg^{-1} em relação ao controle (Figura 3B).

A biomassa seca radicular das plantas de *C. ensiformis* apresentou resposta linear positiva à medida que se elevou a concentração de Cu no solo. A biomassa aumentou de 3,0 g na dose controle para 5,75 g na dose 80 mg kg^{-1} de Cu, um acréscimo de 91,7%. Dados diferentes dos encontrados por Chaves et al. (2010b), que observaram uma diminuição da fitomassa da mamoneira (*Ricinus communis* L.) em função do incremento de Cu no solo.

Como o elemento Cu tem afinidade pelo sistema radicular, isso pode ter ocasionado em aumento da biomassa. Caille et al. (2005) e Zhuang et al. (2007), relatam que a produção de fitomassa é um dos fatores principais para a eficiência da fitoextração de metais potencialmente tóxicos no solo.

A biomassa seca da parte aérea de *C. ensiformis* foram afetadas, sendo esses reduzidos, com o incremento do Cu no solo. Zheng et al. (2004), pesquisando o efeito do Cu em plantas ornamentais, como crisântemo cv. Fina, rosa (*Rosa x hybrida* L. cv. Laulinger) e gerânio (*Pelargonium x hortorum* L. cv. Evening Glow) cultivados em hidroponia, verificaram que o excesso Cu afetou, de maneira geral, o desenvolvimento típico da planta, sobretudo a altura e a fitomassa (fresca e seca).

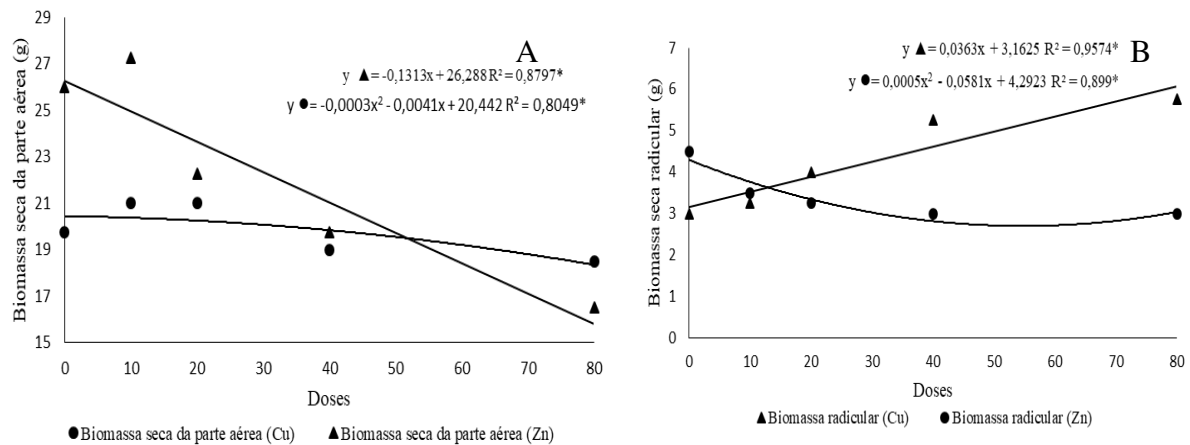


Figura 3- Biomassa seca da parte aérea (A) e da raiz (B) de *Canavalia ensiformes* L. em função ao aumento de concentrações de cobre e zinco no solo.

Os índices de contaminação do solo permitem a quantificação das concentrações de elementos poluentes nos solos e podem auxiliar a aferir a capacidade de acumulação em várias partes das plantas e a tolerância de uma planta, o que pode facilitar as comparações entre diferentes elementos (LEVIZOU et al., 2016; ANTONIADIS et al., 2019).

A Tabela 3, apresenta os valores médios do teor final de cobre no solo, fator de bioacumulação, translocação e índice de tolerância e teores de Cu na parte aérea e raiz da *C. ensiformis* aos 75 dias após o plantio. O fator de bioacumulação e índice de tolerância e teor final de cobre no solo foram significativos ($p < 0,05$) (Tabela 3). O fator de translocação (FT) não foi significativo a 5% de erro, atingindo 2,08 (80 mg kg^{-1}). Apresentou também variabilidade alta ($CV = 50,13\%$) atribuída à dificuldade de homogeneidade nessa variável.

O índice de tolerância teve médias acima 100% em todos os tratamentos, a variabilidade ($CV = 6,75\%$) é considerada baixa, considerando a planta de *C. ensiformis* altamente tolerante

ao metal cobre. Os teores médios de Cu na parte aérea apresentaram uma variabilidade alta (CV=45,21%), e diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$). Os teores de Cu na raiz também foram significativos. A variabilidade foi mediana (CV=21,37%) influenciada pelas dosagens mais altas.

Tabela 3- Quadrado médio e significância da análise de variância, médias e regressões para a quantificação das variáveis: teores de cobre encontrados parte aérea e raízes das plantas de *Canavalia ensiformis*, fator de translocação (FT), fator de bioacumulação (FB), Índice de tolerância (IT) em função dos tratamentos.

FV	Teor Final de Cu no solo	Fatores de bioacumulação (FB)	Fatores de translocação (FT)	Índice de Tolerância (IT)	Teores de cobre (mg kg ⁻¹)	
					Parte aérea	Raiz
Tratamentos	419,21*	0,15*	1,06 ^{ns}	320,62*	113,83*	21,37*
Média	11,94± 1,20	0,73 ± 0,10	1,25 ± 0,31	116,75± 3,93	4,69±1,06	3,39±0,38
CV (%)	20,13	27,49	50,13	6,75	45,21	22,39
Cu (mg kg⁻¹)	Valores médios					
0 (controle)	2,49	1,02	0,96	113,75	1,22	1,1750
10	5,69	0,64	1,42	121,25	1,97	1,7000
20	8,61	0,77	0,87	125,00	2,87	3,4950
40	14,45	0,48	0,92	121,25	3,27	3,5450
80	28,48	0,74	2,08	102,50	14,13	7,0750
Regressão p valor	-	-	-	0,0010	-	-
Linear						
Quadrática	0,0001	0,0385	-		0,0002	0,0090

Médias (n = 4) ± desvio-padrão; FV: fonte de variação; CV: coeficiente de variação; *: significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo a 5% de probabilidade; mg kg⁻¹: miligramas por quilograma *Letras iguais não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte: Próprio autor.

Na Tabela 4 estão apresentados os valores médios, coeficiente de variação (%), erro-padrão e valores-p das regressões polinomiais. A análise de variância para os teores de zinco da parte aérea e raízes mostrou diferença estatística ($p < 0,05$), indicando que ao longo do ciclo vegetativo em casa de vegetação os teores variam. Os teores de Zn finais no solo, na parte aérea e radicular e os valores do fator de translocação e índice de tolerância mostrou diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade.

Os fatores de bioacumulação foram 0,85, 0,77, 0,89, 0,93 e 0,95, respectivamente, para os tratamentos 0, 10, 20, 40, 80 mg kg⁻¹ (Tabela 4), não apresentando diferença significativa a 5% de probabilidade, entre os tratamentos.

Tabela 4- Quadrado médio e significância da análise de variância, médias e regressões para a quantificação das variáveis: fator de bioacumulação (FB), fator de translocação (FT), índice de tolerância (IT), teores de zinco encontrados parte aérea e raízes das plantas de *C. ensiformis*, em função dos tratamentos.

FV	Teor de Zn no solo	Fatores de bioacumulação (FB)	Fatores de translocação (FT)	Índice de tolerância (IT)	Teores de Zinco (mg kg ⁻¹)	
					Parte aérea	Raiz
Tratamentos	238,35*	0,02 ^{ns}	0,62 *	1421,17*	63,83*	52,93*
Média	9,91±0,40	0,88 ± 0,07	0,73 ± 0,11	98,80±3,92	4,13±0,47	4,97±2,69
CV (%)	8,12	16,89	32,19	7,95	19,02	24,52
Zn (mg kg⁻¹)	Valores médios					
0 (controle)	0,91	0,85	0,4890	117,00	0,51	0,24
10	3,29	0,77	0,4882	117,75	1,76	0,80
20	11,19	0,89	0,4100	97,75	7,04	2,89
40	14,96	0,93	1,2900	87,00	6,16	7,76
80	19,20	0,95	1,0000	74,50	9,36	8,94
Linear	0,0000	-	0,0001	0,0000	0,0000	0,0000
Quadrática	-	0,6784	-	-	-	-

Médias (n = 4) ± desvio-padrão; FV: fonte de variação; CV: coeficiente de variação; *: significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo a 5% de probabilidade; mg kg⁻¹: miligramas por quilograma. Fonte: Próprio autor.

Os teores de Cu que ficaram no solo das unidades experimentais, após a colheita das plantas (teores finais), variaram em função dos teores iniciais do elemento presentes nestas unidades (teores existentes no solo + teores aplicados como tratamentos) (Figura 4A), cujos valores corresponderam a 2,49; 5,69; 8,61; 14,45 e 28,48 mg kg⁻¹ em relação aos tratamentos 0; 10; 20; 40 e 80 mg kg⁻¹ de Cu, respectivamente. Apresentaram forte correlação positiva com os teores de Cu no solo.

Os teores de Zn no solo das unidades experimentais, após a colheita das plantas, correspondentes aos tratamentos 0; 10; 20; 40 e 80 mg kg⁻¹ foram, respectivamente 0,91; 3,29; 11,19; 14,96 e 19,20 mg kg⁻¹, variaram em função dos teores iniciais do elemento presentes no solo (Figura 4B). Nenhum dos teores correspondentes ficaram acima de 60 mg kg⁻¹, valor este considerado de referência de qualidade de solo, segundo CETESB (2007).

Observa-se nas Figuras 4A e B que os teores finais de Cu e de Zn no solo, respectivamente, aumentaram em função dos seus teores iniciais, sugerindo que as quantidades absorvidas destes elementos pelas plantas, possivelmente, não aumentaram na mesma proporção do aumento dos tratamentos. Mesmo assim, as quantidades de Cu e Zn absorvidas pelas plantas influenciaram, de alguma forma, no desenvolvimento destas plantas.

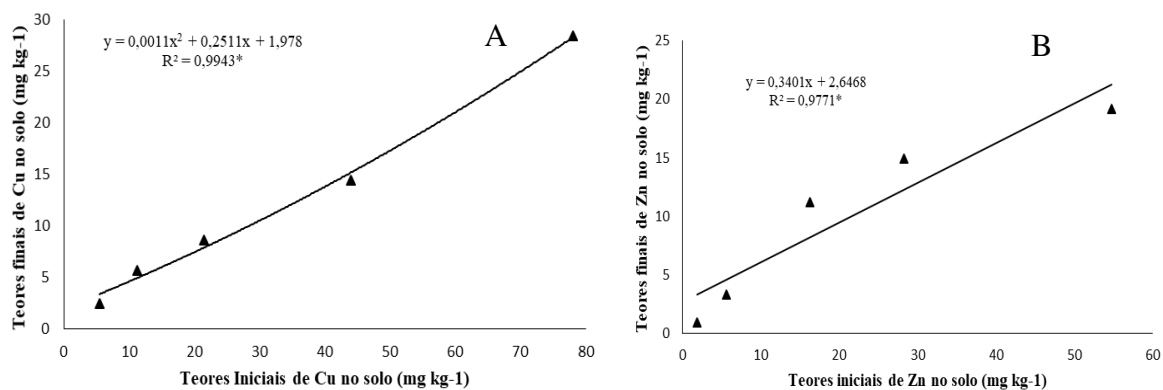


Figura 4-Variação dos teores de cobre (A) e zinco (B) no solo após a coleta das plantas de *C. ensiformis* (teores finais com 75 dias de cultivo) em função dos teores no solo antes do plantio (teores iniciais).

As raízes são barreiras físicas nas interfaces solo-planta e restringem a absorção de diferentes elementos. Segundo Kabata-Pendias (2010), na maioria das vezes os metais entram nas células das raízes na forma dissociada (catiônica) ou complexada (organo-metálica), seja pelo processo ativo ou pelo passivo. Esses mecanismos ocorrem na parede celular e nos espaços intercelulares das raízes em função das concentrações e condições do ambiente.

Os teores de zinco e cobre nas raízes (Figuras 5B) mostraram forte correlação cujo $R^2 = 0,9265$ e $0,9503$. Os teores de Cu se ajustaram ao modelo polinomial quadrático, já os teores de zinco ao modelo linear. Os teores de Cu e Zn na parte aérea (PA) e sistema radicular (SR) das plantas foram proporcionais à concentração do metal na solução nutritiva, tendo-se incrementos mais acentuados na parte aérea do que na raiz (Figura 5). Por exemplo, na média, a faixa de variação no teor de Cu entre o tratamento controle e aquele com 80 mg kg^{-1} de Cu correspondeu a $1-14 \text{ mg kg}^{-1}$ na PA e $1-7 \text{ mg kg}^{-1}$ no SR. Já para o teor de Zn correspondeu a $0,50-9 \text{ mg kg}^{-1}$ na PA e $0,20-8 \text{ mg kg}^{-1}$ no SR.

Conforme Gomes et al. (2013), em experimento avaliando a tolerância de *Myracrodruon urundeuva* a altas concentrações de Zn, observaram que nas folhas os teores do elemento químico aumentaram à medida que as doses do mesmo aumentaram no substrato. Os teores de Zn na parte aérea e radicular aumentaram 1737,2 e 3660% na maior dose, respectivamente, comparadas ao tratamento controle (Figura 5A). Testiati et al. (2013), trabalhando com *Globularia alypum* L. e *Rosmarinus officinalis* L. em solo contaminado com zinco, também encontraram teores elevados de zinco tanto na parte aérea, quanto nas raízes.

Os teores de Cu na parte aérea e radicular aumentaram 1559,1 e 435,30% na maior dose, respectivamente, comparadas ao tratamento controle (Figura 5B). O mecanismo do

sistema radicular que regula a absorção de metais pesados e, conseqüentemente, o acúmulo destes nas raízes, uma vez preservada a integridade de suas funções primárias, ocorre uma baixa translocação destes para a parte aérea, assim contribuindo para a tolerância da espécie a esses elementos metálicos (CHAVES et al., 2010a), neste caso o Cu teve uma maior translocação para a parte aérea.

A *C. ensiformis* foi eficiente na extração de Cu e Zn, uma vez que tinha maior acúmulo do metal na PA para os tratamentos de Cu e Zn no solo (Figura 5). Andrade et al. (2010), trabalhando com a mesma espécie em solo que recebeu quantidades crescentes de Cu, também verificaram potencial fitoextrator. No estudo de Sousa et al. (2013), os autores citam que a maioria das plantas testadas como fitorremediadoras são leguminosas (53%).

Os teores de Cu e Zn na planta nesta pesquisa não definem a planta de *C. ensiformis* como uma planta hiperacumuladora com base em Baker (1989), definindo que as plantas que apresentam valores maiores de 1000 mg.kg^{-1} de Cu são hiperacumuladoras, além disso, Arumugam et al. (2018), menciona que plantas em solos não contaminados de Cu exibiram teores menores comparadas com plantas em solos contaminados sugerindo que o potencial de uma planta para ser acumuladora depende do teor no solo.

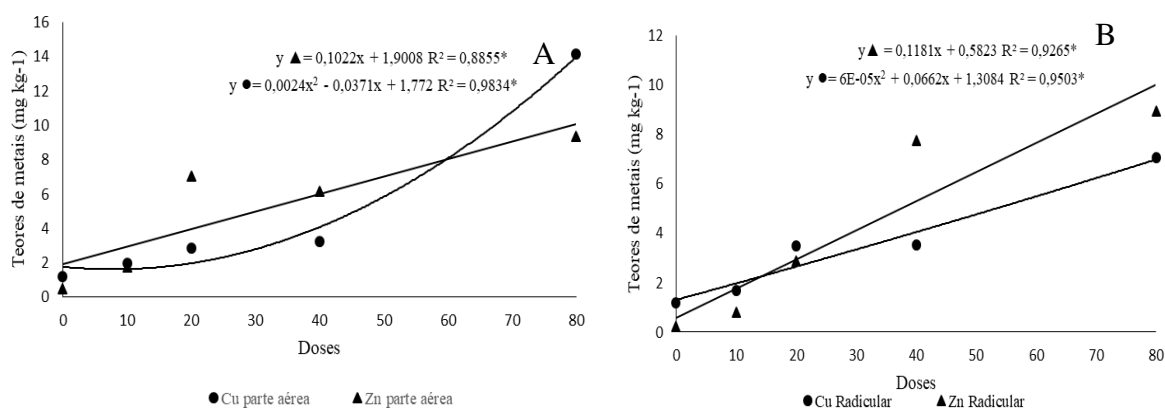


Figura 5- Teor de Cu e Zn na parte aérea (A) e radicular (B) de plantas de *Canavalia ensiformis* em resposta ao aumento de concentrações de cobre e zinco no solo.

O fator de translocação é calculado para determinar a translocação relativa de metais da raiz para a parte aérea e é comumente empregado para avaliar a característica de acumulação de poluentes por diferentes espécies vegetais (LIU et al., 2014). Pesquisas alcançadas por Andrade; Tavares; Mahler (2010) e Vasconcellos; Pagliuso, Sotomaior (2012), confirmam que existem plantas específicas para a fitoextração, dentre estas a *C. ensiformis*, conhecida popularmente como feijão-de-porco.

A elevação das doses de Zn no solo influenciou positivamente o fator de translocação, ajustando-se ao modelo linear, sendo 52,0% maior na dose 80 mg de Zn kg⁻¹ de solo, quando comparado ao tratamento sem aplicação do metal. Assim, os valores do FT indicam alta translocação deste metal em plantas de *C. ensiformis* (Figura 6). Com base nisto, este trabalho conferiu experimentalmente o potencial da *C. ensiformis* em fitoextrair Zn. Esse Resultado é semelhante aos encontrados por Rajoo et al. (2013), trabalhando com *Dipterocarpus verrucosus* em solo com aplicação de lodo de esgoto com altas concentrações de zinco.

Quando a concentração de Zn no solo aumentou para 40 mg kg⁻¹, o FT foi maior (Figura 6). Isso indica que, em nível alto de contaminação, a planta não foi afetada e a translocação para a parte aérea não foi prejudicada. As plantas de *C. ensiformis* absorvem e translocam zinco para a parte aérea, além de acumular grande quantidade deste elemento em suas raízes.

O fator de translocação recomenda a capacidade de uma planta de translocar ou transferir metais de suas raízes para sua parte aérea. O valor de FT menor que 1, indica que o metal foi acumulado nas raízes das plantas e valores maiores de FT indicam translocação do metal para a parte aérea da planta (ESRINGÜ et al., 2014). Os valores de FT em *C. ensiformis* indicam que o Zn é traslocado para a parte aérea.

A mobilidade de Cu nos tecidos vegetais pode aumentar com o nível de acúmulo do elemento, principalmente nas raízes (KABATA-PENDIAS, 2011), afetando a translocação e, conseqüentemente, o fator de bioacumulação (FB). Entretanto, resultados deste experimento para FT de cobre não foram significativos ao nível de 5% de probabilidade de erro.

O FT para o Cu maiores a 1 (FT>1) são um indicativo que é fitoacumulador para esse metal, nas plantas de *C. ensiformis* na dose 80 mg kg⁻¹ apresentou o valor de (FT=2,08), mas sendo o Cu um elemento essencial é muito possível que esses fatores elevados estejam relacionados com a essencialidade desse elemento para o desenvolvimento da planta, mas que um problema de fitotoxicidade (YOON et al., 2006).

Resultados diferentes foram encontrados por Andrezza et al. (2015) para as espécies *Bidens pilosa* L. e *Plantago lanceolata* Lann. cultivadas em solos de vitivinicultura com excesso de Cu, com FT nos valores de 0,04 e 0,15, respectivamente.

Na técnica de fitoextração, a alta translocação do contaminante para a parte aérea da planta é preferível devido às facilidades de manejo após o procedimento de remediação. No entanto, existe grande vantagem quando o contaminante fica retido em maior concentração no sistema radicular da planta, diminuindo a possibilidade de contaminação, ao longo da cadeia trófica (NASCIMENTO et al., 2006).

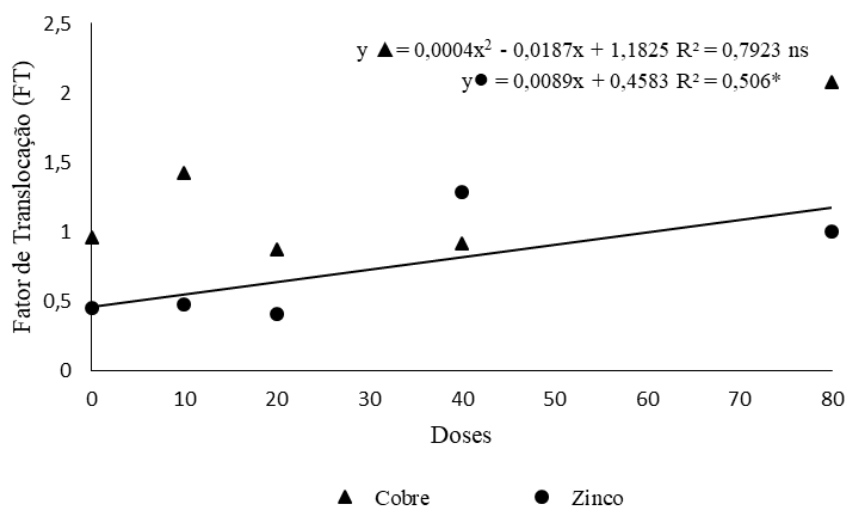


Figura 6- Fator de translocação (FT) no cultivo de *Canavalia ensiformis* L. em resposta ao aumento de concentrações de cobre e zinco no solo.

O valor de bioacumulação diminuiu de forma quadrática para o metal Cu, com o valor do coeficiente de determinação (R^2) equivalente 75,63%. O Fator de bioacumulação para o Zn não foi significativo ao nível de 5% de probabilidade de erro (Figura 7).

O fator de bioacumulação (FB) foi de 0,64 na dose 10 mg kg⁻¹ a 0,74 na dose 80 mg kg⁻¹ de Cu (Figura 7). Não obstante, esse fator foi menor que um (1), pois este valor é o indicativo de absorção de metais na planta e, quanto mais próximo deste valor maior eficiência de absorção (AMARAL, 2013). Apesar disso, Araújo et al. (2011), verificaram que as espécies tolerantes exibem fator de bioacumulação menor do que um, ou seja, elas tendem a desenvolver estratégias que restrinjam a translocação do metal do solo para a planta. Neste caso, e com base no critério de Rezvani; Zaefarian (2011), tal espécie pode ser sugerida como exclusora de cobre.

Branzini et al. (2012), ressalta que o FB é um índice chave para medir a eficiência de acumulação de metais em plantas e que a absorção e acumulação de metais pesados nas plantas dependem de vários fatores, dentre eles, a disponibilidade de metais no solo e necessidade fisiológica das plantas pelos metais.

Todos os tratamentos com as doses crescentes de cobre apresentaram FB menor que 1. Conforme descrito por Tavares (2009), esse fato ocorre devido em a maioria das vezes à absorção dos metais pelas plantas ser restrita pela baixa solubilidade e difusão destes no solo e para a superfície das raízes. Logo, torna-se importante neste contexto, o uso de agentes complexantes, a fim de aumentar a absorção dos metais pelas plantas e facilitar o processo de fitorremediação.

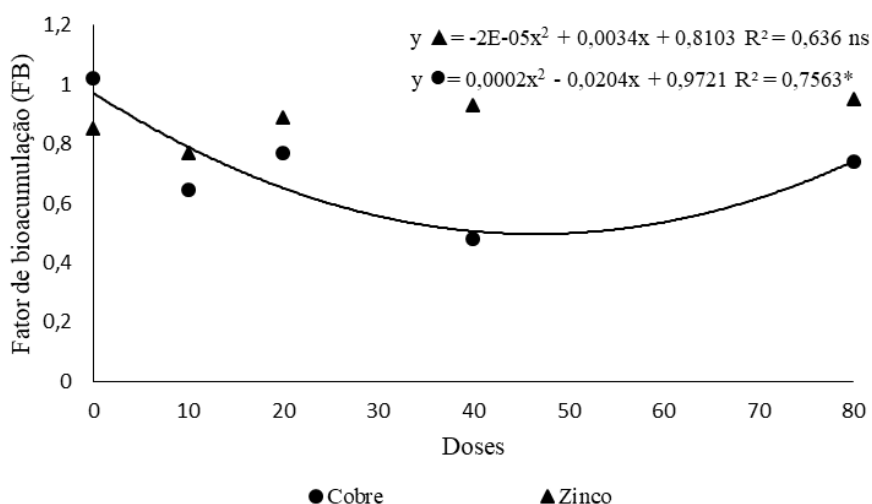


Figura 7- Fator de bioacumulação (FB) no cultivo de *Canavalia ensiformis* L. em resposta ao aumento de concentrações de cobre e zinco no solo.

Em condições de estresse por metais potencialmente tóxicos, as plantas podem adquirir tolerância estimulada pelo desenvolvimento de mecanismos de adaptação ao estresse, podendo exercer controle sobre a translocação e rejeição de certos elementos (BATISTA, 2015).

O Índice de Tolerância (IT) de zinco das plantas de *C. ensiformis* apresentou resposta linear negativa. *C. ensiformis* apresentou maior índice de tolerância na dose de 10 mg kg⁻¹ de Zn no solo com o (IT= 117,75%) (Figura 8). Quando este índice for maior que 60% tem-se alta tolerância das plantas aos contaminantes (LUX et al., 2004). Desse modo, a *C. ensiformis* por apresentar valores superiores a 70% em todas as doses testadas, pode ser uma planta promissora para cultivo em solos contaminados com até 80 mg kg⁻¹ de zinco.

Segundo Carneiro (2002), estudando as respostas de espécies herbáceas em relação ao excesso de zinco no solo, a concentração de zinco nas raízes da planta *Pffafia* sp. foi elevada em relação à concentração na parte aérea e isso pode estar relacionado justamente a um mecanismo de tolerância ao excesso de zinco.

Em outro estudo, Parra et al. (2014), ao acompanhar a germinação das sementes, o crescimento e a tolerância das espécies de *Lavandula dentata* L., *Rosmarinus officinalis* L. e *Thymus vulgaris* L. em solo de mina contaminado com zinco, evidenciou que as espécies selecionadas também foram tolerantes ao metal. Segundo Hossain et al. (2012), os ácidos orgânicos e os aminoácidos podem estar envolvidos na tolerância de plantas a metais potencialmente tóxicos. As plantas dentro do grupo das excludentes excretam pelas suas raízes

ácidos orgânicos que formam complexos estáveis com metais pesados reduzindo a biodisponibilidade do metal e sua absorção pela planta.

O índice de tolerância (IT) expressa a relação entre a quantidade de massa seca total (parte aérea e raiz) da planta desenvolvida no solo contaminado com as doses dos elementos e a quantidade de massa seca total da planta cultivada em solo com a ausência de Cu e Zn. Este índice diminuiu com o aumento das doses de Cu e Zn (Figura 8). As plantas submetidas ao cobre tiveram maior índice de tolerância que as contaminadas com zinco.

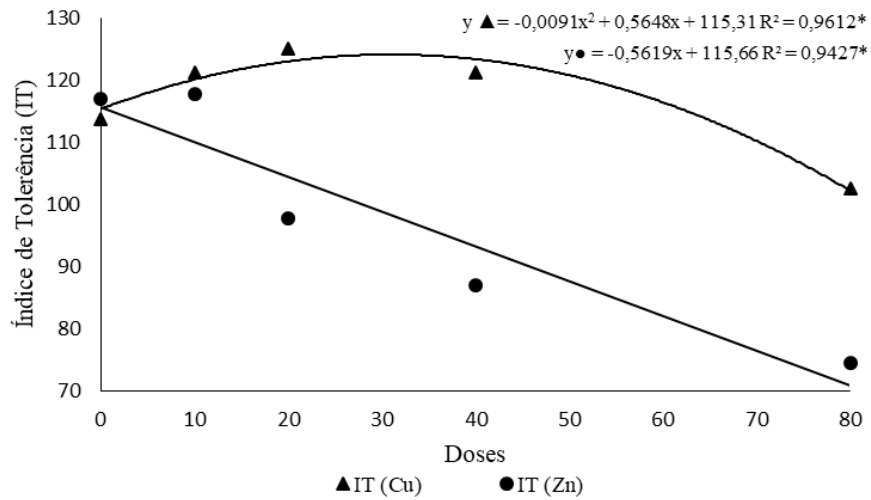


Figura 8- Índice de tolerância (IT) no cultivo de *Canavalia ensiformis* L. em resposta ao aumento de concentrações de cobre e zinco no solo.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A espécie *Canavalia ensiformis* se mostrou eficiente em transportar o Cu e Zn da parte terrestre para a parte aérea. A espécie apresentou características fitoextratoras e hiperacumuladoras para zinco, uma vez que o fator de translocação apresentou valores superiores a um.

De acordo com os resultados obtidos conclui-se que a espécie *C. ensiformis* apresenta tolerância a presença de cobre e zinco até a concentração 80 mg kg^{-1} no solo em casa de vegetação, pois se desenvolveu mesmo nos tratamentos cujas concentrações excediam ao valor necessário para sua nutrição, uma vez que se tratam de micronutrientes, e por essa característica deve ser investigado seu potencial fitoextrator para esses metais em condições de campo.

A alta tolerância ao cobre e zinco, indica a espécie para atuar como cultura de cobertura contra o impacto direto da chuva na superfície do solo, reduzindo as perdas de solo e água por escoamento superficial, conseqüentemente, reduzindo a contaminação dos ambientes adjacentes. Outra vantagem é o investimento reduzido e o baixo custo operacional.

Porém pode-se concluir que a utilização indiscriminada de fungicidas à base de Cu pode trazer danos para a agricultura, já que para a *C. ensiformis* houve redução no crescimento e interferência no desenvolvimento da planta. A contaminação com zinco também afetou negativamente o desenvolvimento das plantas.

Os resultados obtidos neste trabalho representam a conclusão de uma etapa para o estabelecimento de um programa de fitorremediação de cobre e zinco com enfoque agrônomo/ambiental, para o qual, de acordo com Santos et al. (2007), o uso de práticas agronômicas mais adequadas à condução das espécies remediadoras, como a densidade populacional, o tempo de cultivo necessário, o número de ciclos de cultivo e a aplicação de amenizantes podem incrementar a eficiência da fitorremediação e ainda a economia de recursos.

5 REFERÊNCIAS

- AMARAL, D. C. **Estudos ultraestruturais e da capacidade bioacumuladora de Zn, Cd e Pb por plantas em área de mineração de zinco**. 2013. 99 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas), Universidade Federal de Lavras, Lavras (Minas Gerais, Brasil).
- ANDRADE, S.A.L.; GRATÃO, P.L.; SCHIAVINATO, M.A.; SILVEIRA, A.P.D.; AZEVEDO, R.A.; MAZZAFERA, P. Biochemical and physiological changes in jack bean under mycorrhizal symbiosis growing in soil with increasing Cu concentrations. **Environmental and Experimental Botany**, v.68, p.198-207, 2010.
- ANDREAZZA, R.; BORTOLON, L.; PIENIZ, S.; BENTO, F. M.; CAMARGO, F. A. O. Evaluation of two Brazilian indigenous plants for phytostabilization and phytore-mediation of copper-contaminated soils. **Brazilian Journal of Biology**, v. 75, n. 1, p. 868-877, 2015. DOI: 10.1590/1519-6984.01914.
- ANTONIADIS, V., GOLIA, E. E., LIU, Y. T., WANG, S. L., SHAHEEN, S. M., RINKLEBE, J. Soil and maize contamination by trace elements and associated health risk assessment in the industrial area of Volos, Greece. **Environment international**, v. 124, p. 79-88, 2019.
- ARAÚJO, A. S. A., GUILHERME, L. R. G., LOPES, G., CAMPOS, M. L. Fitorremediação de solos contaminados com arsênio (As) utilizando braquiária. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, p. 84-91, 2011.
- ARUMUGAM, G., RAJENDRAN, R., GANESAN, A., SETHU, R. Bioaccumulation and translocation of heavy metals in mangrove rhizosphere sediments to tissues of *Avicenia marina* – A field study from tropical mangrove forest. **Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management**, v. 10, p. 272–279. 2018.
- BAKER, A. J. M. Terrestrial Higher Plants Which Hyperaccumulate Metallic Elements, A Review of Their Distribution, **E Agromining-Phytomining View project Metal and Metalloid Hyperaccumulator Plants View project**. 1989. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/247713966/>. Acesso em: 30 set. 21.
- BANZATTO, D.A.; KRONKA, S.N. **Experimentação agrícola**. 4.ed. Jaboticabal: Funep, 2006. 237 p.
- BASSO, C. J., CERETTA, C. A., FLORES, É. M. D. M., GIROTTO, E. Teores totais de metais pesados no solo após aplicação de dejetos líquidos de suínos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, p. 653-659, 2012.
- BATISTA, D. C. A. **COMPORTAMENTO FISIOLÓGICO E BIOQUÍMICO EM PLANTAS DE *Batis maritima* L. (Bataceae) SOB EFEITO DE CHUMBO E SEU POTENCIAL FITOEXTRATOR**. 2015. 68 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Naturais, Ciências Exatas e Naturais, Universidade do Estado do Rio Grande do Norte – Uern, Mossoró, 2015.
- BENINCASA, C., DE NINO, A., LOMBARDO, N., PERRI, E., SINDONA, G., TAGARELLI, A. Assay of aroma active components of virgin olive oils from southern Italian regions by

SPME-GC/ion trap mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 3, p. 733-741, 2003.

BOLDARINI, M. T. B. **Avaliação dos efeitos da contaminação de cobre no solo sobre *Mentha crisper* L.** 2017. 42 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Ambiental, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes.** Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009. 399 p. Disponível http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/12261_sementes_-web.pdf.

BRANZINI, A.; GONZALÉZ, R.S.; ZUBILLAGA, M. Absorption and translocation of copper, zinc and chromium by *Sesbania virgata*. **Journal of Environmental Management**, v.102, p.50-54, 2012.

BROADLEY, M. R., WHITE, P. J., HAMMOND, J. P., ZELKO, I., LUX, A. Zinc in plants. Tansley review. **New Phytologist**, Lancaster, v. 173, p. 677-702, 2007.

CAILLE, N.; ZHAO, F.J.; MCGRATH, S.P. Comparison of root absorption, translocation and tolerance of arsenic in the hyper accumulator *Pteris vittata* and the non hyper accumulator *Pteris tremula*. **New Phytologist**, v.165, p.755-761, 2005. Doi: 10.1111/j.1469-8137.2004.01239.x

CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S. Comportamento de espécies herbáceas em misturas de solo com diferentes graus de contaminação com metais pesados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 11, p. 1629- 1638, 2002.

CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. São Paulo. **Inventário estadual de resíduos sólidos domiciliares – 2009.** São Paulo: Cetesb, 2010. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/solo/publicacoes.asp>. Acesso em: 01 out. 2021.

CHAVES, L.H.G.; MESQUITA, E.F.; ARAÚJO, D.L.; FRANÇA C.P. Acúmulo e distribuição de cobre e zinco em mamoneira cultivar BRS Paraguaçu e crescimento da planta. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.7, n.1, p.263-277, 2010a. Doi: 10.1590/1807- 1929/agriambi.v19n5p505-511.

CHAVES, L. H. G., MESQUITA, E. F., ARAUJO, D. L., FRANÇA, C. P. Acúmulo e distribuição de cobre e zinco em mamoneira cultivar BRS Paraguaçu e crescimento da planta. **Engenharia Ambiental: Pesquisa e Tecnologia**, v. 7, n. 3, p. 263-277, 2010b.

DE MARCO, R., SILVA, R. F. D., SCHEID, D. L., ROS, C. O. D., SILVA, V. R. D. Amenizante Orgânico e *Eucalyptus grandis* para fitoestabilização de solo contaminado com cobre. **Floresta e Ambiente**, v.24. 2017.

DE MELO, G. W. B., ZALAMENA, J., BRUNETTO, G., CERETTA, C. A. Calagem, adubação e contaminação em solos cultivados com videiras. **Embrapa Uva e Vinho-Livro técnico (INFOTECA-E)**, 2016.

ESRINGÜ, A.; TURAN, M.; GÜNEŞ, A.; KARAMAN, M. R. Roles of *Bacillus megaterium* in remediation of boron, lead, and cadmium from contaminated soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 45, n. 13, p. 1741- 1759, 2014.

ESTRELA, M. A.; CHAVES, L. H. G.; SILVA, L. N. Fitorremediação como solução para solos contaminados por metais pesados. **Revista Ceuma Perspectivas**, v. 31, n. 1, p. 160-172, 2018.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, [s. l.], v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.

GOMES, M. P.; DUARTE, D. M.; CARNEIRO, M. M. L. C.; BARRETO, L. C.; CARVALHO, M.; SOARES, A. M.; GUILHERME, L. R.G.; GARCIA, Q. S. Zinc tolerance modulation in *Myracrodruon urundeuva* plants. **Plant physiology and biochemistry**, v. 67, n. 1, p. 1-6, 2013. Doi: 10.1016/j.plaphy.2013.02.018.

GONZAGA, M. I. S., MATIAS, M. I. D. A. S., ANDRADE, K. R., DE JESUS, A. N., DA COSTA CUNHA, G., DE ANDRADE, R. S., DE JESUS SANTOS, J. C. Aged biochar changed copper availability and distribution among soil fractions and influenced corn seed germination in a copper-contaminated soil. **Chemosphere**, v. 240, p. 124828, 2020.

HOODA, P. S. **Trace elements in soils**. 1st ed. United Kingdom: Wiley-Blackwell, 2010. 616 p.

HOSSAIN, M. A.; PIYATIDA, P.; SILVA, J. A. T.; FUJITA, M. molecular mechanism of heavy metal toxicity and tolerance in plants: central role of glutathione in detoxification of reactive oxygen species and methylglyoxal and in heavy metal chelation. **Journal of Botany**, v.1, p.1-37, 2012.

HUANG, R. Z.; JIANG, Y. B.; JIA, C. H.; JIANG, S. M.; YAN, X. P. Subcellular distribution and chemical forms of cadmium in *Morus alba* L. **International Journal of Phytoremediation**, v,20, n.5, p.448–453, 2018. Doi: 10.1080/15226514.2017.1365344

INTERNATIONAL SOLID WASTE ASSOCIATION. **Globalisation and waste management**: Phase 1 concepts and facts. 2012. Disponível em: <https://www.iswa.org/index.php?id=79>. Acesso em: 19 ago. 2021.

KABATA-PENDIAS A. **Trace Elements in Soils and Plants**. 4ª Edição. CRC Press, Boca Raton, USA. 2011.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants** (fourth ed.) 4th ed. Boca Raton: Taylor and Francis Group, CRC Press, 2010, 548p.

KÖPPEN, W.; GEIGER, R. **Klimate der Erde**. Gotha: Verlag Justus Perthes. 1928. Wall-map 150cmx200cm.

KRAUSE, W. **Experimentação Agrícola: Material Didático**. Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT. 2011.

LEVIZOU, E.; ANTONIADIS, V.; PAPANICOLAOU, S. Without exceeding the limits: industrial soil rich in Zn and Cd has no effect on purslane and lettuce but promotes geranium growth. **Environmental Earth Sciences**, v. 75, n. 18, p. 1256, 2016.

LI, L., ZHANG, K., GILL, R. A., ISLAM, F., FAROOQ, M. A., WANG, J., ZHOU, W. Ecotoxicological and Interactive Effects of Copper and Chromium on Physiochemical, Ultrastructural, and Molecular Profiling in *Brassica napus* L. **BioMed research international**, [s. l.], v. 2018, p. 9248123, 2018. Doi: 10.1155/2018/9248123.

LIU, J. G., QU, P., ZHANG, W., DONG, Y., LI, L., WANG, M. X. Variations among rice cultivars in subcellular distribution of Cd: the relationship between translocation and grain accumulation. **Environmental and experimental botany**, v. 107, p. 25-31, 2014.

LUX RESEARCH. **Technologies turn waste to profit**. 2009. 11 p. Disponível em: <https://vdocuments.mx/lux-research-technologies-turn-waste-to-profit.html>. Acesso em: 13 abr. 2021. » <https://vdocuments.mx/lux-research-technologies-turn-waste-to-profit.html>

LUX, A., ŠOTTNÍKOVÁ, A., OPATRŇÁ, J., GREGER, M. Differences in structure of adventitious roots in *Salix* clones with contrasting characteristics of cadmium accumulation and sensitivity. **Physiologia Plantarum**, Medford, v. 120, n. 4, p. 537-545, 2004.

MACKIE, K. A.; MÜLLER, T.; KANDELER, E. Remediation of copper in vineyards e A mini review. **Journals Environmental Pollution**, n. 167, p. 16-26, 2012. Doi: 10.1016/j.envpol.2012.03.023.

MALAVOLTA, E. **Fertilizantes e seu impacto ambiental: micronutrientes e metais pesados – mitos, mistificação e fatos**. São Paulo: Petroquímica, 1994. 153p.

MARQUES, M.; AGUIAR, C. R. C.; SILVA, J. J. L. S. Desafios, técnicas e barreiras socio-econômicas e regulatórias na fitorremediação de solos contaminados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, n. 1, p. 1-11, 2011. Doi: 10.1590/S0100-06832011000100001.

MEHLICH, A., 1953, **Determination of P, Ca, Mg, K, Na and NH₄**. North Carolina Soil Test, Division. Raleigh, North Carolina, v.5, p.97, 1953. (Mimeografado).

MENEGAES, J. F., SWAROWSKY, A., BELLÉ, R. A., BACKES, F. A. A. L. Avaliação do potencial fitorremediador de cravina-chinesa cultivada em solo com excesso de cobre. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 12, n.4, p. 1353-1370, 2019.

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

PARRA, A., ZORNOZA, R., CONESA, E., GÓMEZ-LÓPEZ, M. D., FAZ, A. Seedling emergence, growth and trace elements tolerance and accumulation by Lamiaceae species in a mine soil. **Chemosphere**, [s.l.], v. 113, p.132-140, 2014.

PUGA, A. P., ABREU, C. A., MELO, L. C. A. BEESLEY, L. Biochar application to a contaminated soil reduces the availability and plant uptake of zinc, lead and cadmium. **Journal of environmental management**, v.159, p.86-93, 2015.

RAJOO, K. S., ABDU, A., SINGH, D. K., ABDUL-HAMID, H., JUSOP, S., ZHEN, W. W. Heavy metal uptake and translocation *Bydipteroecarpus verrucosus* from sewage sludge contaminated soil. **American Journal of Environmental Sciences**, Ontario, v. 9, n. 3, p. 259, 2013.

REHMAN, M., LIU, L., WANG, Q., SALEEM, M. H., BASHIR, S., ULLAH, S., PENG, D. Copper environmental toxicology, recent advances, and future outlook: a review. **Environmental science and pollution research international**, [s. l.], v. 26, n. 18, p. 18003-18016, 2019.

REZVANI, M.; ZAEFARIAN, F. Bioaccumulation and translocation factors of cadmium and lead in *Aeluropus littoralis*. **Australian Journal of Agricultural Engineering**, v.2, n.4, p.114-119. 2011.

SALEEM, M. H., FAHAD, S., KHAN, S. U., DIN, M., ULLAH, A., SABAGH, A. E., LIU, L. Copper-induced oxidative stress, initiation of antioxidants and phytoremediation potential of flax (*Linum usitatissimum* L.) seedlings grown under the mixing of two different soils of China. **Environmental Science and Pollution Research**, v.27, n.5, p.5211-5221, 2020.

SANTOS, J. B., SILVA, A. A., PROCÓPIO, S. O., FERREIRA, L. R., PIRES, F. R. Fitorremediação de áreas contaminadas por herbicidas. **Tópicos em manejo de plantas daninhas**, p.210-329, 2007.

SOARES, R., TAKEDA, I. J., BOTARI, J. C., BOTARI, A. A fitorremediação como instrumento alternativo no saneamento ambiental. In **Proceedings of Safety, Health and Environment World Congress**, v. 13, p. 448-452, 2013.

SOUSA, S. C. R. **Tolerância aos metais pesados chumbo e zinco e potencial fitorremediador de mudas de espécies arbóreas**. 85 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

SU, C.; JIANG, Y; LI, F; YANG, Y; LU, Q.; ZHANG, T.; HU, D.; XU, Q. Investigation of subcellular distribution, physiological and biochemical changes in *Spirodela polyrhiza* as a function of cadmium exposure. **Environmental and Experimental Botany**, v.142, p.24-33. 2017. Doi: 10.1016/j.envexpbot.2017.07.015

TAITI, C.; GIORNI, E.; COLZI, I.; PIGNATTELLI, S.; BAZIHIZINA, N.; BUCCIANTI, A.; LUTI, S.; PAZZAGLI, L.; MANCUSO, S.; GONNELLI, C. Under fungal attack on a metalliferous soil: ROS or not ROS, Insights from *Silene paradoxa* L. Growing under copper stress. **Environmental Pollution**, v.210, p.282-292, 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.

TAVARES, S. R. L. OLIVEIRA, S. A. SALGADO, C. M. Avaliação de espécies vegetais na Fitorremediação de solos contaminados por metais pesados. **Holos**, v.5, p.80-97. 2013.

TAVARES, S. R. L. **Fitorremediação em solo e água de áreas contaminadas por metais pesados provenientes da disposição de resíduos perigosos**. Rio de Janeiro: UFRJ, 2009. 371 p. Tese Doutorado.

TESTIATI, E., PARINET, J., MASSIANI, C., LAFFONT-SCHWOB, I., RABIER, J., PFEIFER, H. R., PRUDENT, P. Trace metal and metalloid contamination levels in soils and in two native plant species of a former industrial site: Evaluation of the phytostabilization potential. **Journal of Hazardous Materials**, New York, v. 248/249, p. 131-141, 2013.

YOON, J., CAO, X., ZHOU, Q., MA, L. Q. Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. **Science of the Total Environment**, v. 368, n. 2–3, p. 456–464, 2006.

ZANCHETA, A. C. F.; ABREU, C. A.; ZAMBROSI, F. C. B.; ERISMANN, N. M.; LAGÔA, A. M. M. A. Fitoextração de cobre por espécies de plantas em solução nutritiva. **Bragantia**, v.70, n.1, p.737-744, 2011. Doi: 10.1590/S0006-87052011000400002

ZEMIANI, A. **Avaliação do desenvolvimento de *Mentha crispa* L. em solo contaminado com Cádmi**. 52 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Ambiental, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2017.

ZHENG, Y.B.; WANG, L.P.; DIXON, M.A. Response to copper toxicity for three ornamental crops in solution culture. **Hortscience**, v.39, n.1, p.1116-1120, 2004.

ZHOU, Y., ZHOU, B., PACHE, L., CHANG, M., KHODABAKHSHI, A. H., TANASEICHUK, O., CHANDA, S. K. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets. **Nature communications**, v. 10, n. 1, p. 1-10, 2019.

ZHUANG, P.; YANG, Q.W.; WANG, H.B.; SHU, W.S. Phytoextraction of heavy metals by eight plant species in the field. **Water, Air and Soil Pollution**, v.184, n.1, p.135- 242, 2007. Doi: 10.1007/s11270-007-9412-2.