



**TOXICIDADE COMPARADA DE METAIS PESADOS SOBRE  
CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS DE SEMENTES E DE PLANTAS  
JOVENS DE *HYMENAEA COURBARIL* L.**

ANA CAROLINE DE JESUS DE CASTRO

MANAUS – AM

2023

Ana Caroline de Jesus de Castro

**Toxicidade comparada de metais pesados sobre características fisiológicas de sementes e de plantas jovens de *Hymenaea courbaril* L.**

**Orientador:** Dr. José Francisco de Carvalho Gonçalves

**Coorientadoras:** Prof. Dra. Flávia Camila Schimpl

Dra. Joelma Keith Rodrigues

Dissertação apresentada ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências de Florestas Tropicais para obtenção do título de Mestre.

Manaus - AM




2023

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DE FLORESTAS TROPICAIS**

**ATA DE DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO  
MESTRADO**


Ata da Defesa Remota de **ANA CAROLINE DE JESUS DE CASTRO**, ocorrido no dia 21/11/2022, via plataforma ZOOM.

Aos 21 dias de novembro de 2022, às 09h (horário de Manaus/AM), realizou-se a Defesa Pública de Dissertação de **ANA CAROLINE DE JESUS DE CASTRO**, aluna do Programa de Pós-Graduação *Stricto sensu* em Ciências de Florestas Tropicais, intitulada "Toxicidade comparada de metais pesados sobre características fisiológicas de sementes e de plantas jovens de *Hymenaea courbaril* L", sob a orientação do Dr. José Francisco de Carvalho Gonçalves (INPA), em conformidade com o Art. 52 do Regimento Geral da Pós-Graduação do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (MCTI/INPA) e Art. 67 do Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Ciências de Florestas Tropicais, como parte das atividades para conclusão e obtenção do Título de Mestre em Ciências de Florestas Tropicais. A **Banca Examinadora** foi constituída pelos seguintes membros: Wagner Luiz Araujo (UFV), Luciane Reis (INPA), Adamir R. Nina Junior (IFAM), e tendo como suplentes os seguintes membros: Rebeca P. O. Garcia (UFV) e Karen Cristina Pires da Costa (UNIFESSPA). O Presidente da Banca Examinadora deu início à Seção e informou os procedimentos do exame. A aluna fez uma exposição do seu estudo e ao término foi arguida oralmente pelos membros da Comissão. Após as arguições os membros da banca se reuniram para avaliação e chegaram ao seguinte parecer:


Nome	Parecer	Assinaturas
Wagner Luiz Araujo	( X ) Aprovou ( ) Reprovou	 Documento assinado digitalmente WAGNER LUIZ ARAUJO Data: 22/11/2022 13:29:26-0300 Verifique em <a href="https://verificador.iti.br">https://verificador.iti.br</a>
Adamir R. Nina Junior	( X ) Aprovou ( ) Reprovou	 ASSINADO DIGITALMENTE ADAMIIR DA ROCHA NINA JUNIOR A conformidade com a assinatura pode ser verificada em: <a href="https://serpro.gov.br/assinado-digital">https://serpro.gov.br/assinado-digital</a>
Luciane Pereira Reis	( X ) Aprovou ( ) Reprovou	 Documento assinado digitalmente LUCIANE PEREIRA REIS Data: 22/11/2022 17:35:31-0300 Verifique em <a href="https://verificador.iti.br">https://verificador.iti.br</a>

**Menção:** ( ) "Com Distinção" ( ) "Com Louvor" ( ) "Com Distinção e Louvor"

Nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente Ata que, após lida e aprovada, foi assinada pela Coordenação:

  
Documento assinado digitalmente  
JOSE FRANCISCO DE CARVALHO GONCALVES  
Data: 28/11/2022 17:04:36-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

**Jose Francisco de Carvalho Gonçalves**  
Presidente da Banca / Orientador

  
Documento assinado digitalmente  
ADRIANO JOSE NOGUEIRA LIMA  
Data: 28/11/2022 17:35:31-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

**Adriano José Nogueira Lima**  
Coordenador do PPG-CFT  
PO. N° 163/2021

C355d Castro, Ana Caroline de Jesus de ▼

Toxicidade comparada de metais pesados sobre características fisiológicas de sementes e de plantas jovens de *Hymenaea Courbaril* L. / Ana Caroline de Jesus de Castro; orientador: José Francisco de Carvalho Gonçalves; coorientadores: Flávia Camila Schimpl; Joelma Keith Rodrigues. - Manaus:[s. 1.], 2023.

1,1 MB

80 p. : il. color.

Dissertação (Mestrado -Programa de Pós-Graduação em Ciências de Florestas Tropicais – CFT.) - Coordenação do Programa de Pós-Graduação, INPA, 2023.

1. Jatobá. 2. *Hymenaea Courbaril* L. I. Gonçalves, José Francisco de Carvalho. II. Schimpl, Flávia Camila. III. Rodrigues, Joelma Keith. IV. Título.

CDD 583.74

---

“Todas as vitórias ocultam uma abdicação.”

(Simone de Beauvoir)

Às fortes incríveis mulheres que fazem parte  
da minha vida, em especial,  
a minha mãe Zanira.

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus e à Nossa Senhora de Nazaré por terem me dado saúde, força e proteção para chegar até aqui. Sou extremamente grata por tudo que fazem na minha vida.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências de Florestas Tropicais (PPG-CFT) pela oportunidade de realizar o mestrado em uma instituição pública e de grande importância.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Amazonas pela bolsa a mim concedida para a realização dessa pesquisa.

Aos meus orientadores Dr. José Francisco de Carvalho Gonçalves, Dra. Flávia Camila Schimpl e Dra. Joelma Keith Rodrigues pelos ensinamentos, apoio, conselhos e paciência para o desenvolvimento deste trabalho.

À equipe do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Vegetal (LFBV) pelo suporte, ajuda e companheirismo durante esses dois anos, em especial a Dra Josiane Celerino, Katharine Gonçalves e Antônia Vitória pelo auxílio nas atividades. Assim como, sou muito grata à equipe da Unidade de Crescimento de Plantas – UCP – UFV, nas pessoas do Prof. Wagner L. Araújo e da Dra. Auxiliadora O. Martins pelo total suporte nas análises dos metabólitos no tecido vegetal.

À minha amada mãe, Zanira de Jesus, pelo incondicional amor, por sonhar, acreditar que eu sou capaz e caminhar comigo. Obrigada por ser o meu porto seguro e a melhor mãe do mundo!

À minha família, em especial, as tias Ana Maria Reis, Marilda Reis Nazilda Martins, Nilcília Pereira, Cristina Pereira, Catarina Pereira e Raimunda Reis (*in memoriam*) e ao tio Claudio Martins pelo amor, orações e incentivo desde o início. Obrigada por me ensinarem o valor da educação!

Aos meus amigos Aryane Rodrigues, Jéssica Cabral, Yago Borges, Monise Soares, Louise Alves e Gabriel Avelar pelo amor, carinho e acolhimento em todas as vezes que eu precisava de suporte mesmo a distância e por nunca desistirem de mim. Obrigada por serem a minha segunda família!

À minha amiga Sabrina Souza que virou uma irmã e confidente, por ter tornado essa jornada mais leve e agradável, sendo uma pessoa que levarei para sempre comigo. Agradeço o amor, apoio, cuidado e paciência nos nossos melhores e, principalmente, nos piores dias. Que bom que a vida proporcionou o nosso encontro.

A todos que, direta e indiretamente, contribuíram para a construção deste trabalho.

## RESUMO

Atividades antropogênicas voltadas para o aumento da industrialização, mineração e, principalmente, para o uso de insumos agrícolas a base de elementos químicos tóxicos estão intensificando a contaminação ambiental devido a deposição acelerada de metais pesados. Essa situação ocasiona impactos em diferentes proporções aos ciclos biogeoquímicos e seus componentes, com ênfase para à vegetação, solos, animais e seres humanos. O desenvolvimento de técnicas que visem a descontaminação desses componentes, em particular, as áreas contaminadas, torna-se urgente. Na última década, a fitorremediação tem se destacado como uma das principais técnicas recomendadas para fazer frente a este problema ambiental. No entanto, o uso de espécies vegetais com potencial para remediar esses danos ambientais requer a compreensão de mecanismos de defesa desenvolvidos pelas plantas, especialmente arbóreas, que retiram, estocam e sobrevivem adequadamente aos metais pesados presentes nos solos contaminados. Portanto, o objetivo desta dissertação foi investigar o comportamento ecofisiológico de sementes e plântulas de *Hymenaea courbaril* em resposta à presença dos metais pesados (cobre, cádmio e chumbo). Os atributos de germinação, crescimento, metabolismo do carbono e do nitrogênio, além da tolerância das plântulas de *H. courbaril* foram analisados utilizando-se tratamentos com e sem metais pesados. O estudo foi realizado no Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Vegetal, no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC) com quatro tratamentos: solução de Hoagland & Arnon completa (1/4 da força), 2- cobre (Cu, 10  $\mu$ M), 3- cádmio (Cd, 10  $\mu$ M) e 4- chumbo (Pb, 5  $\mu$ M), com cinquenta repetições. As análises começaram a partir da germinação e foram finalizadas na fase de muda (90 dias após a germinação), monitorando características germinativas, crescimento, morfológicas (foliares e radiculares), teores de clorofila *a*, *b* e carotenóides, trocas gasosas, concentração de açúcares solúveis, amido, aminoácidos e proteínas. Os dados foram submetidos às análises estatísticas descritiva, análise de variância (ANOVA) e teste médias de Tukey ( $p < 0,05$ ) com o auxílio do software *R*, versão 4.0.2. Os resultados mostraram que *H. courbaril* exibiu capacidade de tolerar as concentrações de Cd e Pb estudadas sem causar danos significativos ao crescimento, biomassa e aparelho fotossintético. A espécie tolerou parcialmente aos efeitos tóxicos do Cu, apresentando redução no crescimento, biomassa e fisiológicos. Diante do exposto, é possível afirmar que *H. courbaril* tolera o estresse por metais pesados durante a fase inicial de crescimento



e desenvolvimento das plântulas e pode ser indicada para plantios em áreas contaminadas por cádmio e chumbo e, devido às limitações morfofisiológicas apresentadas pela espécie, atribui-se tolerância parcial da *H. courbaril* à presença de cobre.

**Palavras-chave:** Estresse, espécie florestal, metabolismo, metais tóxicos, morfofisiologia.

## ABSTRACT

Anthropogenic activities related to increasing industrialization, mining, and, mainly, the use of agricultural inputs based on toxic chemical elements are intensifying environmental contamination due to the accelerated deposition of heavy metals. This situation causes impacts in different proportions to the biogeochemical cycles and their components, with emphasis on vegetation, soils, animals, and human beings. The development of techniques to decontaminate these components, in particular, the contaminated areas, becomes urgent. In the last decade, phytoremediation has been studied as one of the main techniques recommended to face this environmental problem. However, the use of plant species with the potential to remedy these environmental damages requires the understanding of defense mechanisms developed by plants, especially trees, which adequately remove, store, and survive the heavy metals present in contaminated soils. Thus, the objective of this dissertation was to evaluate the ecophysiological behavior of *Hymenaea courbaril* seeds and seedlings in response to the presence of heavy metals (copper, cadmium and lead). The study was carried out at the Laboratory of Plant Physiology and Biochemistry, at the National Institute of Amazonian Research, where the germination experiment was carried out with 50 seeds of *H. courbaril* destined for each treatment with the absence and presence of Cu, Cd and Pb. After germination, biometric variables and biomass production were measured. The experiment was carried out using a completely randomized design (DIC) with the establishment of four treatments: 1-) control - a quarter of the strength of Hoagland & Arnon, 2-) copper (Cu, 10  $\mu$ M), 3- cadmium (Cd, 10  $\mu$ M) e 4- lead (Pb, 5  $\mu$ M), with fifty repetitions. The analysis of the experiment started from germination and ended in the seedling phase (90 days after germination), monitoring germination characteristics, growth, morphological (leaf and root), chlorophyll a, b and carotenoid contents, gas exchange, concentration of soluble sugars, starch, amino acids and proteins. Data were submitted to descriptive statistical analysis, analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test of means ( $p < 0.05$ ) using R software, version 4.0.2. The results showed that *H. courbaril* can tolerate the studied Cd and Pb concentrations without causing significant damage to growth, biomass and photosynthetic apparatus. The species partially tolerated the toxic effects of Cu, showing a reduction in growth, biomass and physiology. Given the above, it is possible to state that *H. courbaril* tolerates stress by heavy metals during the initial phase of growth and development of seedlings and can be indicated for planting

in areas contaminated by cadmium and lead and, due to the morphophysiological limitations presented by the species, partial tolerance of *H. courbaril* is attributed to the presence of copper.

**Keywords:** Stress, forest species, metabolism, toxic metals, morphophysiology.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição da solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950). .....	27
Tabela 2. Porcentagem de germinação (%), tempo médio de germinação (dias) e índice de velocidade de germinação de sementes de <i>Hymenaea courbaril</i> submetidas a diferentes metais pesados. ....	29
Tabela 3. Altura (cm) de plantas jovens de <i>Hymenaea courbaril</i> submetidas a tratamentos com diferentes metais pesados. ....	30
Tabela 4. Diâmetro a altura do coleto (mm) de plantas jovens de <i>Hymenaea courbaril</i> submetidas a tratamentos com diferentes metais pesados. ....	30
Tabela 5. Número de pares de folhas de plantas jovens de <i>Hymenaea courbaril</i> submetidas a tratamentos com diferentes metais pesados. ....	31
Tabela 6. Massa seca foliar (MSF), massa seca caulinar (MSC), massa seca radicular (MSR), matéria seca total da planta (MST) e razão raiz parte aérea (MSR/MSF) em plantas jovens de <i>Hymenaea courbaril</i> submetidas a tratamentos com diferentes metais pesados. ....	32
Tabela 7. Comprimento da raiz de plantas jovens de <i>Hymenaea courbaril</i> submetidas a tratamentos com diferentes metais pesados. ....	32

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. (a) Fotossíntese (A), (b) condutância estomática (gs), (c) concentração interna de CO <sub>2</sub> (C <sub>i</sub> ), transpiração (E) em plantas jovens de <i>Hymenaea courbaril</i> expostas a tratamentos com metais pesados. ....	57
Figura 2. Eficiência do uso da água (EUA) e eficiência intrínseca do uso da água (EiUA) em plantas jovens de <i>Hymenaea courbaril</i> expostas a tratamentos com metais pesados. ....	58
Figura 3. Teores de clorofila a (a), clorofila b (b), razão de clorofila a/b (c), clorofila total (d), carotenóides (e) e razão de clorofila/carotenóides (f) em µg/g de massa fresca de <i>Hymenaea courbaril</i> expostas a tratamentos com metais pesados.....	59
Figura 4. Concentração de glicose (A), frutose (B), sacarose (C) e amido (D) em plantas jovens de <i>Hymenaea courbaril</i> submetidas a tratamentos com metais pesados. ....	60
Figura 5. Concentração de proteínas (µmol/g) em plantas jovens de <i>Hymenaea courbaril</i> submetidas a tratamentos com metais pesados.....	62
Figura 6. Concentração de aminoácidos (µmol/g) em plantas jovens de <i>Hymenaea courbaril</i> submetidas a tratamentos com metais pesados.....	63
Figura 7. Concentração de prolina (µmol/g) em raiz, caule e folha de <i>Hymenaea courbaril</i> submetida a tratamento com diferentes metais pesados. ....	64

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO GERAL</b>	13
<b>REFERÊNCIAS</b>	16
<b>CAPÍTULO 1</b>	21
<b>RESUMO</b>	22
<b>ABSTRACT</b>	23
<b>1 INTRODUÇÃO</b>	24
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b>	26
<b>2.1 Condição experimental e material vegetal</b>	26
<b>2.2 Germinação</b>	27
<b>2.3 Variáveis biométricas</b>	28
<b>2.4 Delineamento experimental e análise estatística</b>	29
<b>3 RESULTADOS</b>	29
<b>3.1 Germinação</b>	29
<b>3.2 Biometria e crescimento de <i>H. courbaril</i></b>	30
<b>4 DISCUSSÃO</b>	33
<b>5 CONCLUSÃO</b>	38
<b>REFERÊNCIAS</b>	39
<b>CAPÍTULO 2</b>	47
<b>RESUMO</b>	48
<b>ABSTRACT</b>	49
<b>1 INTRODUÇÃO</b>	50
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b>	52
<b>2.1 Condição experimental e material vegetal</b>	52
<b>2.2 Medidas de trocas gasosas</b>	53
<b>2.3 Eficiências no uso da água</b>	53
<b>2.4 Pigmentos cloroplastídicos</b>	54

<b>2.5 Determinação dos teores de carboidratos não estruturais</b>	54
<b>2.6 Determinação do teor de proteínas totais</b>	54
<b>2.7 Determinação do teor de aminoácidos</b>	55
<b>2.8 Determinação do teor de prolina</b>	55
<b>2.9 Delineamento experimental e análise estatística</b>	55
<b>3 RESULTADOS</b>	56
<i>3.1 Trocas gasosas</i>	56
<i>3.2 Eficiências no uso da água</i>	57
<i>3.3 Pigmentos cloroplastídicos</i>	58
<i>3.4 Carboidratos não estruturais</i>	59
<i>3.5 Proteínas</i>	61
<i>3.3 Aminoácidos</i>	62
<i>3.5 Prolina</i>	63
<b>4 DISCUSSÃO</b>	64
<b>5 CONCLUSÃO</b>	71
<b>REFERÊNCIAS</b>	71
<b>CONCLUSÃO GERAL</b>	79

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O impacto da contaminação ambiental por metais pesados é um tema que desperta preocupação na comunidade científica global e, com isso, tem aumentado o número de pesquisas acerca dessa problemática (Ashraf et al., 2019; Günthardt-Goerg et al., 2022). As atividades industriais, de mineração, a urbanização e o uso de fertilizantes na agricultura constituem as principais vias responsáveis pelo aumento no acúmulo irregular desses metais pesados (Weissmannova et al., 2019). O excesso desses elementos no meio ambiente afeta a qualidade do ar, da água, dos animais, do solo, do crescimento das plantas e da saúde da população humana, acarretando problemas ambientais com o surgimento de áreas degradadas (Ali et al., 2019; Zhang et al., 2019; O'Connor et al., 2020). Estimativas demonstram que há mais de 500 milhões de hectares de áreas contaminadas por metais a nível mundial (Liu et al., 2018).

Diante dessa realidade, aumenta a preocupação dos órgãos governamentais acerca do gerenciamento de áreas contaminadas por metais pesados, uma vez que perduram no meio ambiente por centenas de anos (Mahajan e Kaushal, 2018). No Brasil, a Resolução CONAMA nº 420 define a quantidade permitida de metais pesados nos solos e nas águas, além do Valor de Referência de Qualidade (VRQ) do solo, que estabelece a concentração natural de determinado elemento (Brasil, 2009). O conhecimento acerca dessas concentrações é importante para subsidiar políticas públicas, que promovam a remediação e a reabilitação dessas áreas, uma vez que o limite tolerável da presença de metais nos solos é variável (Fadigas et al., 2010).

A poluição do solo por metais diminui a atividade microbiana, modifica suas características físico-químicas, e o pH é o principal fator que indica a contaminação por esses elementos, pois em solos mais ácidos, há maior disponibilidade dos metais, provocando assim a redução da fertilidade e afetando os organismos do solo (Guerra Sierra et al., 2021; Seribekkyzy et al., 2022). Sendo assim, surge a necessidade de desenvolver novas tecnologias para remover esses metais dos sítios contaminados (Hasan et al., 2019).

Os metais pesados são denominados como elementos que apresentam densidade 5 vezes maior que a da água (superior a  $5\text{g/cm}^3$ ), número atômico superior a 23, massa atômica superior a 55 e são considerados tóxicos para organismos vivos, mesmo em baixas concentrações (Abdullateef et al., 2014). Apesar da densidade ser a principal



característica para o conceito de metal pesado, as propriedades químicas como a dureza, os elevados pontos de ebulição e fusão são os fatores mais influenciadores (Duffus, 2002; Nagajyoti et al., 2010).

A heterogeneidade do solo devido à presença de substâncias orgânicas, organominerais, como minerais de argila, óxidos de ferro, alumínio, manganês e as substâncias solúveis influenciam a especiação e mobilidade dos metais pesados, pois variam de acordo com a composição e reação e das condições redox (Kushwaha et al., 2018). Dessa forma, a absorção dos metais pesados pelas plantas na forma de sais, nitratos, cloretos e sulfatos formando precipitados é mais fácil quando comparada às mesmas quantidades na forma de lodo doméstico e/ou provenientes de indústrias (Pombo, 1995).

Em geral, alguns metais advindos de atividades antrópicas proporcionaram melhorias para a vida humana, pois a partir deles é possível a obtenção de matéria-prima para a fabricação, por exemplo, de fertilizantes, baterias e materiais da indústria têxtil, entretanto, estes elementos quando em concentrações acima dos níveis aceitáveis pelas regulações vigentes são altamente tóxicos e uma ameaça aos microrganismos, animais, à vida aquática e ao ecossistema como um todo (Rizvi et al., 2020; Rahman et al., 2022). Em plantas e animais, os metais pesados a exemplo do chumbo (Pb), cádmio (Cd) e cobre (Cu) afetam o crescimento e o desenvolvimento quando são introduzidos no sistema biológico (Bañuelos et al., 2015; Sharma et al., 2015). Esses elementos são os principais contaminantes devido às altas concentrações nos solos e os efeitos que causam às plantas, principalmente, por afetar o crescimento e desenvolvimento do sistema radicular (Shawai et al., 2017; Zhang et al., 2019). Entretanto, da mesma forma que as plantas são afetadas por esses elementos, há a possibilidade de selecionar espécies que apresentem mecanismos de tolerância e sobrevivência a estes metais pesados, visando descontaminar os ambientes poluídos (Hussain et al., 2017).

Diante desse cenário, a fitorremediação surgiu como uma “tecnologia verde”, multidisciplinar e promissora, que utiliza plantas associadas ou não com microrganismos presentes no solo com o objetivo de extrair, remover ou diminuir a disponibilidade de contaminantes sem causar distúrbios à fertilidade (Sharma e Pandey, 2014; Rostami e Azhdarpoor, 2019). Esse método é considerado recente, sem altos custos e danos ao ambiente, pois ajuda a recuperar as características físicas, químicas e biológicas dos solos contaminados (Wang et al., 2017; Deng et al., 2019). Entretanto, a técnica de

fitorremediação apresenta algumas restrições, como limitação na biodisponibilidade dos contaminantes no solo, as espécies hiperacumuladoras têm sua eficiência limitada devido apresentarem baixa produção de biomassa e lento crescimento além do risco de contaminação da cadeia alimentar se houver falta de manutenção e cuidados adequados (Ramamurthy e Memarian, 2012; Cameselle e Gouveia, 2019).

O potencial da fitorremediação tem sido demonstrado em função dos mecanismos biológicos que algumas espécies vegetais possuem e possibilitam a sua sobrevivência em condições de estresse causados por metais pesados (Ojuederie e Babalola, 2017). A utilização de plantas remediadoras depende do entendimento mais profundo da fisiologia e do metabolismo destas espécies, com ênfase para processos bioquímicos e dos moleculares envolvidos na translocação do metal pesado do solo para diferentes partes do organismo vegetal (Dubey et al., 2018). As plantas utilizam dois métodos para enfrentar a toxicidade causada por metais pesados, sendo elas: 1- a prevenção (capacidade de limitar e reduzir o movimento desses elementos pelos seus tecidos) e 2- a tolerância (restrição da toxicidade dos íons de metal presentes no citosol, por meio da inativação, quelatção e/ou compartimentação desses íons) (Dalvi e Bhalerao, 2013).

A principal motivação para o uso de espécies fitorremediadoras é transformar esses contaminantes em formas extraíveis do solo através dos tecidos vegetais das plantas, mas espécies que apresentam lento crescimento, baixa produção de biomassa e são sensíveis aos metais não contribuem para o processo de fitorremediação (Shawai et al., 2018; Shah e Daverey, 2020). Alguns fatores físicos, químicos e biológicos concorrem para o processo de fitorremediação, pode-se citar também a temperatura, pH do solo, fertilização, tamanho da planta, sistema radicular e a disponibilidade do metal pesado no solo representam características que influenciam o processo, pois as plantas absorvem somente uma fração dos metais pesados que estão disponíveis e, não necessariamente resolvem o problema da contaminação (Nagajyoti et al., 2010; Yadav et al., 2018).

Nesse contexto, considerando a diversidade vegetal de algumas regiões é muito válido o investimento em estudos prospectivos para identificar e selecionar espécies, particularmente, arbóreas capazes de prestar importantes serviços ambientais acumulando metais pesados em solos contaminados e, ainda mais reabilitando áreas contaminadas por metais pesados. Os estudos com espécies nativas da Amazônia ganharam destaque no cenário da fitorremediação nos últimos anos com algumas espécies indicando capacidade de acumular e tolerar metais pesados (Pereira et al., 2017; Silva et al., 2017). Algumas

espécies de Fabaceae, como *Schizolobium amazonicum* demonstrou capacidade para fitoextrair cádmio (Nogueira et al., 2019). Além disso, *Schizolobium parahyba*, *Mimosa caesalpiniaefolia* e *Erythrina speciosa* em associação com fungos micorrízicos acumularam altas concentrações de zinco nas raízes e nas folhas indicando potencial para fitoestabilização (Souza et al., 2020).

Considerando o exposto, estudar, conhecer e recomendar espécies nativas da região Amazônica com potencial bioacumulador usando metodologias marcadoras das características morfofisiológicas, bioquímicas e da capacidade de tolerância torna-se importante para elucidar questões relacionadas a especiação dos metais e as concentrações nas quais é possível relevar respostas das plantas. Neste trabalho, foi utilizada uma espécie arbórea da Amazônia (*Hymenaea courbaril*) para responder as seguintes que: i) A espécie *Hymenaea courbaril* apresenta mecanismo(s) de tolerância para a germinação e para o crescimento quando submetida a presença de metais pesados?? ii) Alterações morfofisiológicas encontradas em sementes e plantas jovens de *Hymenaea courbaril* podem ser utilizadas como bioindicadores? iii) A espécie *Hymenaea courbaril* apresenta tolerância diferenciada na presença de diferentes metais pesados?

Para tanto, esta dissertação foi dividida em dois capítulos intitulados:

1 – Germinação, crescimento inicial e tolerância de plântulas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetidas a diferentes metais pesados.

2 – Metabolismo do carbono e nitrogenado em plantas jovens de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) submetidas a diferentes metais pesados.

## REFERÊNCIAS

Abdullateef, B.; Kolo, B. G.; Waziri, I.; Idris, M. A. 2014. Levels of heavy metals in soil as indicator of environmental pollution in Maiduguri, Borno State, Nigeria. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, 3(11): 133–136.

Ali, H.; Khan, E.; Ilahi, I. 2019. Environmental Chemistry and Ecotoxicology of Hazardous Heavy Metals: Environmental Persistence, Toxicity, and Bioaccumulation. *Journal of Chemistry*, 14p.

Ashraf, S., Ali, Q., Zahir, Z. A., Ashraf, S., and Asghar, H. N. 2019. Phytoremediation: environmentally sustainable way for reclamation of heavy metal polluted soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 174: 714–727.

Bañuelos, G. S.; Arroyo, I.; Pickering, I. J.; Yang, S. I.; Freeman, J. L. 2015. Selenium biofortification of broccoli and carrots grown in soil amended with Se-enriched hyperaccumulator *Stanleya pinnata*. *Food Chemistry*, 166:603–608.

Brasil. Resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009. Diário Oficial da União 249: 81-84, 2009.

Cameselle, C.; Gouveia, S.; Urréjola, S. 2019. Benefits of phytoremediation amended with DC electric field. Application to soils contaminated with heavy metals. *Chemosphere*, 229: 481–488.

Dalvi, A. A.; Bhalerao, S. A. 2013. Response of plants towards heavy metal toxicity: an overview of avoidance, tolerance and uptake mechanism. *Annals of Plant Science*, 2: 362–368.

Deng, Q.; Deng, Q.; Wang, Y.; Li, L.; Long, X.; Ren, S.; *et al.* 2019. Effects of intercropping with *Bidens* species plants on the growth and cadmium accumulation of *Ziziphus acidujuba* seedlings. *Environmental Monitoring and Assessment*, 191.

Dubey, S.; Shri, M.; Gupta, A.; Rani, V.; Chakrabarty, D. 2018. Toxicity and detoxification of heavy metals during plant growth and metabolism. *Environmental Chemistry Letters*, 16: 1169–1192.

Duffus, J. H. 2002. Heavy metals: A meaningless term?. *Pure and Applied Chemistry*, 74: 793-807.

Etim, E. E. 2012. Phytoremediation and its mechanisms: a review. *International Journal of Environmental and Bioenergy*, 2: 120–136.

Fadigas, F. S.; Amaral Sobrinho, N. M. B.; Anjos, L. H. C.; Mazur, N. 2010. Background levels of some trace elements in weathered soils from the Brazilian Northern region. *Scientia Agricola*, 67: 53-59.

Guerra Sierra, B. E.; Muñoz Guerrero, J.; Sokolski, S. 2021. Phytoremediation of Heavy Metals in Tropical Soils an Overview. *Sustainability*, 13: 2574.

Günthardt-Goerg, M. S.; Vollenweider, P.; Schulin, R. 2022. Metal Accumulation and Biomass Production in Young Afforestations Established on Soil Contaminated by Heavy Metals. *Plants*, 11: 523.

- Hasan, M. M.; Uddin, M. N.; Ara-Sharmeen, F. I.; Alharby, H.; Alzahrani, Y.; Hakeem, K. R.; et al. 2019. Assisting phytoremediation of heavy metals using chemical amendments. *Plants*, 8:295.
- Hussain, S.; Akram, M.; Abbas, G.; Murtaza, B.; Shahid, M.; Shah, N. S.; Bibi, I.; Niazi, N. K. 2017. Arsenic tolerance and phytoremediation potential of *Conocarpus erectus* L. and *Populus deltoides* L. *International Journal of Phytoremediation*, 19: 985–991.
- Kushwaha, A; Hans, N.; Kumar, S.; Rani, R. 2018. A critical review on speciation, mobilization and toxicity of lead in soil-microbe-plant system and bioremediation strategies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 147: 1035–1045.
- Liu, L.; Li, W.; Song, W.; Guo, M. 2018. Remediation techniques for heavy metal-contaminated soils: principles and applicability. *The Science of the Total Environment*, 633, 206-219.
- Mahajan, P.; Kaushal, J. 2018. Role of Phytoremediation in Reducing Cadmium Toxicity in Soil and Water. *Journal of Toxicology*, 1–16.
- Nagajyoti, P.; Lee, K.; Sreekanth, T. 2010. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 8: 199–216.
- Nogueira, G. A. S.; Brito, A. E. A.; Nascimento, V. R.; Albuquerque, G. D. P.; Botelho, A. S. B.; Souza, L. C.; et al. 2019. Physiological and growth responses in the (*Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke) seedlings subjected to cadmium doses. *Journal of Agricultural Science*, 11: 217-224.
- O'Connor, D.; Hou, D. Y.; Ok, Y. S.; Lanphear, B. P. 2020. The effects of iniquitous lead exposure on health. *Nature Sustainability*, 3 77-79.
- Ojuederie, O.; Babalola, O. 2017. Microbial and Plant-Assisted Bioremediation of Heavy Metal Polluted Environments: A Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14: 1504.
- Pereira, A. S.; Cortez, P. A.; Almeida, A. A. F.; Prasad, M. N. V.; Franca, M. G. C.; Cunha, M.; Jesus, R. M.; Mangabeira, P. A. O. 2017. Morphology, ultrastructure, and element uptake in *Calophyllum brasiliense* Cambess. (Calophyllaceae J. Agardh) seedlings under cadmium exposure. *Environmental Science Pollution Research*, 24:15576–15588.

- Pombo, L. C. A. 1995. Absorção de metais pesados pelo azevém (*Lolium multiflorum*) em dois solos do Estado do Rio Grande do Sul. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 30: 1217-1224.
- Rahman, S. U.; Nawaz, M. F.; Gul, S.; Yasin, G.; Hussain, B.; Li, Y.; Cheng, H. 2022. State-of-the-art OMICS strategies against toxic effects of heavy metals in plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 242: 113952.
- Ramamurthy, A. S., Memarian, R., 2012. Phytoremediation of mixed soil contaminants. *Water, Air, & Soil Pollution*, 223: 511–518.
- Rizvi, A.; Zaidi, A.; Ameen, F.; Ahmed, B.; Alkahtani, M. D. F.; Khan, M. S. 2020. Heavy metal induced stress on wheat: phytotoxicity and microbiological management. *Royal Society of Chemistry*, 10: 38379-38403.
- Rostami, S.; Azhdarpoor, A. 2019. The application of plant growth regulators to improve phytoremediation of contaminated soils: a review. *Chemosphere*, 220, 818-827.
- Seribekkyzy, G.; Saimova, R. U.; Saidakhmetova, A. K.; Saidakhmetova, G. K.; Esimov, B. K. 2022. Heavy metal effects on earthworms in different ecosystems. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*, 10: 2228.
- Shah, V.; Daverey, A. 2020. Phytoremediation: a multidisciplinary approach to clean up heavy metal contaminated soil. *Environmental Technology & Innovation*, 18: 100774.
- Sharma, K.; Basta, N. T.; Grewal, P. S. 2015. Soil heavy metal contamination in residential neighborhoods in postindustrial cities and its potential human exposure risk. *Urban Ecosystem*, 18: 115–132.
- Sharma, P.; Pandey, S. 2014. Status of phytoremediation in world scenario. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*, 2:178–191.
- Shawai, S. A. A.; Musa, R. K.; Bilkisu, B. A.; Muazu, J. 2018. Evaluation of physicochemical characteristics of groundwater from selected areas in Unguwa Uku, Kano metropolitan, northwestern Nigeria. *International Journal of Biomedical Materials Research*, 6(1): 8-12.
- Shawai, S. A. A.; Mukta, H. I.; Bataiya, A. G.; Abdullahi, I. I.; Shamsuddin, I. M.; Yahaya, A. S.; Suleiman, M. 2017. A Review on Heavy Metals Contamination in Water

and Soil: Effects, Sources and Phytoremediation Techniques. *International Journal of Mineral Processing and Extractive Metallurgy*, 2(2): 21-27.

Silva, J. R. R.; Fernandes, A. R.; Silva Junior, M. L.; Santos, C. R. C.; Lobato, A. K. S. 2017. Tolerance mechanisms in *Cassia alata* exposed to cadmium toxicity – potential use for phytoremediation. *Photosynthetica*, 55:1–10.

Souza, S. C. R.; Souza, L. A.; Schianinato, M. A.; Oliveira Silva, F. M.; Andrade, S. A. L. 2020. Zinc toxicity in seedlings of three trees from the Fabaceae associated with arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 195: 110450.

Suhani, I.; Sahab, S.; Srivastava, V.; Singh, R. P. 2021. Impact of cadmium pollution on food safety and human health. *Current Opinion in Toxicology*, 27: 1-7.

Wang, Y.; Wang, R.; Fan, L.; Chen, T.; Bai, Y.; Yu, Q.; Liu, Y. 2017. Assessment of multiple exposure to chemical elements and risks among residents near Huodehong lead-zinc mining area Yunnan, Southwest China. *Chemosphere*, 174: 613-627.

Weissmannova, H. D.; Mihocova, S.; Chovanec, P.; Pavlovsky, J. 2019. Potential Ecological Risk and Human Health Risk Assessment of Heavy Metal Pollution in Industrial Affected Soils by Coal Mining and Metallurgy in Ostrava, Czech Republic. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16 (22), 4495.

Yadav, K. K.; Gupta, N.; Kumar, A.; Reece, L. M.; Singh, N.; Rezanian, S.; Khan, S. A. 2018. Mechanistic understanding and holistic approach of phytoremediation: a review on application and future prospects. *Ecological Engineering*, 120: 274–298.

Zhang, Q.; Yu, R.; Fu, S.; Wu, Z.; Chen, H. Y. H.; Liu, H. 2019. Spatial heterogeneity of heavy metal contamination in soils and plants in Hefei, China. *Scientific Reports*, 9, 1049.

**GERMINAÇÃO, CRESCIMENTO INICIAL E TOLERÂNCIA DE PLANTULAS DE JATOBÁ (*Hymenaea courbaril* L.) SUBMETIDAS A DIFERENTES METAIS PESADOS**

Ana Caroline de Jesus de Castro<sup>1</sup>, Flávia Camila Schimpl<sup>2</sup>, Joelma Keith Rodrigues<sup>3</sup>, José Francisco de Carvalho Gonçalves<sup>4</sup>



## RESUMO

Concentrações de metais pesados no meio ambiente tem aumentado em função das atividades industriais (metalurgia, mineração etc), agrícolas (defensivos e fertilizantes) e mau planejamento urbano (lixões e falta de saneamento) causando a contaminação de solos e plantas. Em se tratando dos vegetais, a presença desses elementos provoca danos desde a germinação até a fase de crescimento (muda) e reprodutiva das espécies sendo importante conhecer os mecanismos de absorção, acúmulo e tolerância das plantas. Desse modo, o objetivo desse estudo foi avaliar os parâmetros de germinação e o crescimento inicial de plantas de *Hymenaea courbaril* submetidas a diferentes metais pesados. O estudo foi conduzido no Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Vegetal, no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, onde foi instalado o experimento de germinação com 50 sementes de *H. courbaril* destinadas para cada tratamento com ausência e presença de Cu, Cd e Pb. Após a germinação, foram mensuradas as variáveis biométricas e a produção de biomassa. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC) com quatro tratamentos: 1-) controle – solução de Hoagland & Arnon completa (1/4 da força), 2-) cobre (Cu, 10 µM), 3- cádmio (Cd, 10 µM) e 4- chumbo (Pb, 5 µM), com cinquenta repetições. Os dados foram submetidos às análises descritivas, análise variância (ANOVA) e teste médias de Tukey ( $p < 0,05$ ) com o auxílio do software R, versão 4.0.2. Os resultados indicam que os três metais pesados estudados não influenciaram na etapa germinativa das sementes apresentando germinação acima de 80%. O crescimento e a produção de biomassa dos indivíduos na presença dos metais foi maior quando comparado ao tratamento controle, indicando que ocorreu o efeito de “*hormese*” nas plantas. Estes resultados sugerem que a *H. courbaril* pode ser induzida, de forma positiva, no início do estresse e considera-se a recomendação da mesma como uma espécie com capacidade de suportar a presença de metais.

**Palavras-chave:** Biometria, estresse, *hormese*, produção de biomassa, tolerância.

## ABSTRACT

As a result of industrial activities (metallurgy, mining, etc.), agricultural activities (pesticides and fertilizers), and poor urban planning (dumps and lack of sanitation), heavy metal concentrations in the environment have increased. In the case of plants, the presence of these elements causes damage from germination to the growth (saplings) and reproductive phase of the species, and it is important to know the mechanisms of absorption, accumulation, and tolerance of plants. Thus, the objective of this study was to evaluate the parameters of germination, initial growth and metal removal capacity of *Hymenaea courbaril* plants subjected to different heavy metals. The study was carried out at the Laboratory of Plant Physiology and Biochemistry, at the National Institute of Amazonian Research, where the germination experiment was carried out with 50 seeds of *H. courbaril* destined for each treatment with the absence and presence of Cu, Cd and Pb. After germination, biometric variables and biomass production were measured. The experiment was carried out using a completely randomized design (DIC) with the establishment of four treatments: 1-) control - a quarter of the strength of Hoagland & Arnon, 2-) copper (Cu, 10  $\mu$ M), 3- cadmium (Cd, 10  $\mu$ M) e 4- lead (Pb, 5  $\mu$ M), with fifty repetitions. Data were submitted to descriptive statistical analysis, analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test of means ( $p < 0.05$ ) using R software, version 4.0.2. The results indicate that the three heavy metals studied did not influence the germination stage of the seeds showing germination above 80%. The growth and biomass production of individuals in the presence of metals increased when compared to the control treatment, indicating that the effect of *hormesis* occurred in the plants. These results suggest that *H. courbaril* can be induced positively at the beginning of stress and it is considered the recommendation of *H. courbaril* as a species capable of handling the presence of heavy metal.

**Keywords:** Biometrics, stress, *hormesis*, biomass production, tolerance.

## 1 INTRODUÇÃO

A intensificação das atividades antrópicas, como a mineração e o uso crescente de fertilizantes e pesticidas na agricultura, aumentou a quantidade de áreas contaminadas por metais pesados (Ali et al., 2019, Park et al., 2021). O acúmulo desses elementos no solo causa efeitos adversos no ecossistema, principalmente para os animais e as plantas, em função da sua natureza não-biodegradável (Singh et al., 2016). Nas plantas, as altas concentrações de metais pesados interferem negativamente nos fisiológicos, bioquímicos e morfoanatômicos (Rahman et al., 2021; Ghori et al., 2019).

A germinação é uma fase crítica e determinante para o estabelecimento da espécie, especialmente em regiões com alterações ambientais (Swapna e Rama Gopal, 2014). É uma etapa que requer condições ambientais favoráveis, cujas especificidades variam de acordo com a espécie selecionada, sendo importante compreender esse processo em circunstâncias adversas, como o estresse causado por metais pesados (Hatamzadeh et al., 2012; Melania-Nicoleta e Micle, 2015). O crescente interesse e a preocupação acerca dos problemas ambientais causados pela contaminação por metais pesados é importante para avaliar os efeitos desses elementos nos parâmetros morfológicos e biométricos para a obtenção de mudas com maior vigor (Adrees et al., 2015; Seneviratne et al., 2017).

Altos teores de metais pesados no solo também causam a inibição de processos metabólicos e fisiológicos essenciais no estágio inicial de desenvolvimento das plantas, ocasionando danos tanto na parte radicular quanto na parte aérea (Cambrollé et al., 2013; Marques et al., 2019). Essas alterações no desenvolvimento e crescimento de raízes permitem avaliar o teor de sensibilidade e tolerância da espécie, podendo indicá-las para fitorremediação de ambientes contaminados (Souza et al., 2011).

As plantas com facilidade e rapidez de propagação, extenso sistema radicular e alto ganho de biomassa são indicadas para compor programas para recuperar áreas contaminadas por metais pesados (Kang et al., 2018). Neste caso, havendo inclusive comportamento das plantas “positivos” em resposta a presença de alguns elementos, de certa forma, isto pode ser considerado uma derivação do conceito de *hormese* (do grego “*hormaein*” que significa “excitar”), esta situação é definida como um comportamento bifásico, no qual a resposta do organismo é induzida por baixas concentrações de um composto, mas inibida por altas doses desse mesmo composto (Calabrese e Baldwin,

2001; Turturro et al., 2001). Altas concentrações de metais podem causar efeitos adversos, principalmente, na fase inicial de crescimento (Souza et al., 2012).

Elementos como chumbo (Pb), cádmio (Cd) e cobre (Cu) têm a capacidade de reduzir a taxa germinativa, inibir o crescimento e a produção de biomassa de diversas espécies agronômicas e florestais (Souza et al., 2012; Pereira et al., 2013; Silva et al., 2017; Frachia et al., 2022). E para minimizar esses efeitos deletérios, as plantas desenvolvem mecanismos de tolerância, visando acumular ou estabilizar esses elementos por meio de complexação ou compartimentalização, de modo a reduzir os danos na parte aérea e raízes, sendo uma característica importante na seleção e recomendação de espécies para fitorremediação (Pourrut et al., 2011; Shao et al., 2017).

Quanto à tolerância ao acúmulo de metais pesados, as plantas podem ser classificadas em hiperacumuladoras, acumuladoras, sensíveis e excludentes (Rascio e Navari-Izzo, 2011). O processo de tolerância das plantas aos metais é reconhecido pela possibilidade de aplicação prática e, assim, torna-se uma etapa essencial para a implementação de programas de fitorremediação (Hussain et al., 2017). Contudo, os estudos acerca dos efeitos dos metais pesados em espécies florestais da região amazônica em solos contaminados por metais ainda são limitados (Covre et al., 2020).

Na Amazônia, o cenário de contaminação por metais tóxicos e pesados vem aumentando nas últimas décadas em função da mudança do uso do solo e dos projetos de mineração (Capparelli et al., 2020; Paiva et al., 2020). Diante dessa realidade, o uso de espécies florestais amazônicas como *Schizolobium parahyba*, *Cedrela fissilis*, *Euterpe oleraceae* e *Khaya ivorensis* mostram-se promissoras para descontaminar elementos como Al, Cu, Pb e Zn nesses sítios (Souza et al., 2012; Asensio et al., 2019; Covre et al., 2020; Souza et al., 2020; Souza et al., 2022). No entanto, outras espécies podem ser incluídas nesta lista plantas aptas a ingressarem em programas de recuperação de áreas contaminadas desde que estudos ecofisiológicos possam identificar características efetivas para esta finalidade.

*Hymenaea courbaril* L. é uma espécie arbórea de ampla distribuição nas Américas do sul, central e no México (Shanley, 2005). Comumente chamada de jatobá, jutaí, jataí. Consiste numa espécie que possui potencial para utilização em áreas de regeneração e recomposição, devido o fruto ser atrativo da fauna silvestre (Rizzini, 1971; Almeida et al., 2011). O jatobá é uma espécie nativa classificada como secundária tardia a clímax,

demandante de luz (Lorenzi, 2012). As sementes de jatobá apresentam dormência, que é característica de espécies leguminosas, e têm comportamento ortodoxo (Carvalho et al., 2006; Busato et al., 2013).

Considerando a ampla distribuição da espécie nos biomas brasileiros e as características de crescimento da *H. courbaril*, que sugerem a possibilidade de seu uso em programas de fitorremediação cabe o esforço científico para preencher algumas lacunas acerca da tolerância e dos mecanismos destas espécies frente a toxicidade provocada por metais como o cádmio, cobre e chumbo. Nesse contexto, o objetivo desta pesquisa foi investigar parâmetros de germinação e alterações na biomassa de plântulas de *Hymenaea courbaril* submetidas a presença dos metais pesados cobre, cádmio e chumbo.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Condição experimental e material vegetal

A pesquisa foi conduzida na casa de vegetação do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Vegetal do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, em Manaus-AM, com coordenadas geográficas 3°05'34'' S e 59°59'18'' W. Segundo Köppen (1948), o clima é classificado como Am, com temperatura média anual de 27,4°C e pluviosidade média anual de 2415 mm.

Sementes de *Hymenaea courbaril*, coletas de árvores matrizes localizadas no Instituto Soka Amazônia, foram previamente submetidas à quebra de dormência em ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) durante 30 minutos e, em seguida, foram lavadas em água corrente por 5 minutos, com posterior trilhagem em água destilada.

No total foram estabelecidos quatro tratamentos sendo três destinados para a presença dos metais pesados (cádmio, chumbo e cobre) e o tratamento controle, mantendo apenas a solução padrão (Hoagland & Arnon, 1950) sem a adição dos metais pesados. O experimento foi realizado em oito caixas plásticas contendo 50 kg de areia lavada e esterilizada, sendo duas caixas para cada tratamento. Os metais pesados foram adicionados na forma de solução aquosa de sulfato de cobre II (CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O) na concentração de 10 µM, cloreto de cádmio (CdCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O) com 10 µM e nitrato de chumbo III (Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) na concentração de 5 µM. A definição da concentração de cada metal pesado foi estabelecida com base em estudos com esses elementos em espécies arbóreas e que os classificaram de acordo com a sua toxicidade. Após três dias da incubação da

solução de metal no substrato, a semeadura foi realizada com 50 sementes de *H. courbaril* em cada caixa.

Uma semana após o surgimento do eófilo foi aplicada solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950) (Tabela 1) com ¼ de força iônica nas caixas do tratamento sem adição de metal (controle). A solução foi renovada a cada 15 dias e o pH mantido na faixa entre 5,5 e 6,0 com adição de NaOH ou HCl 1M quando necessário o ajuste.

Tabela 1. Composição da solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950).

Composição	Concentração	ml/L
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	1M	5
KNO <sub>3</sub>	1M	5
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	1M	2
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1M	1
Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O	0,01M	10
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,05M	5
CaSO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,01M	20
Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	1M	2
Fe-EDTA	1M	1
Micronutrientes sem cobre	1M	1

## 2.2 Germinação

A germinação foi acompanhada diariamente em cada tratamento estabelecido e o critério adotado foi a emissão da radícula (5 mm) e para a emergência da plântula foi o surgimento do eófilo. As variáveis analisadas nos tratamentos foram a porcentagem de germinação (G%), índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo médio de germinação (TMG) conforme as equações 1, 2 e 3, respectivamente (Ranal e Santana, 2009).

Equação 1:

$$G(\%) = \frac{N}{A} \times 100$$

Onde:

G = porcentagem de germinação;

N = número de sementes germinadas;

A = número total de sementes colocadas para germinar.

Equação 2:

$$VG = \sum \frac{ni}{ti}$$

Onde:

IVG = índice de velocidade de germinação;

ni = número de sementes germinadas por dia;

t = tempo médio de germinação.

Equação 3:

$$TMG = \frac{\sum_{i=1}^k ni \cdot ti}{\sum_{i=1}^k ni}$$

Onde:

t = tempo médio de incubação;

ni = número de sementes germinadas por dia;

ti = tempo de incubação (dias).

### 2.3 Variáveis biométricas

A medição dos parâmetros de crescimento foi realizada em intervalos de 30 dias do início ao final do experimento, com a obtenção dos dados das seguintes variáveis: altura da parte aérea, diâmetro à altura do coleto (DAC) e número de folhas. Ao fim do experimento (90 dias) foram mensurados o comprimento da raiz e as massas (fresca e seca) das folhas, caules e raízes.

O diâmetro à altura do coleto foi mensurado com o auxílio de paquímetro digital modelo Mitutoyo Absolute AOS, o comprimento da parte aérea e da raiz principal foram avaliados com a utilização de fita métrica e o número de folhas por planta foi realizado através da contagem manual.

A determinação da biomassa da parte aérea e raiz foi feita em triplicata, após a separação das plantas em suas respectivas partes, e submetidas à secagem em estufa de

circulação forçada a 65°C até a obtenção de massa constante com o uso de balança analítica de precisão. Posteriormente, foi feita a relação raiz/parte aérea.

## 2.4 Delineamento experimental e análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), composto de quatro tratamentos: 1-) controle – solução de Hoagland & Arnon completa, 2-) cobre (Cu), 3-) cádmio (Cd) e 4-) chumbo (Pb), com vinte e cinco repetições. Após a conclusão dos experimentos. Os dados obtidos foram planilhados e submetidos aos testes de Shapiro-Wilk com a finalidade de verificar a normalidade e teste Levene para a homogeneidade das variâncias. Atendido estes pressupostos, os resultados foram submetidos as análises de estatística descritiva (CV%, valores mínimos, médios e máximos), análise de variância (ANOVA) e teste de médias de Tukey ( $p < 0,05$ ) com o auxílio do programa R (versão 4.0.2).

## 3 RESULTADOS

### 3.1 Germinação

Para o processo fisiológico da germinação é possível observar que as sementes submetidas aos tratamentos com Cu e Cd não diferiram do controle. Mas, os resultados para Pb foram superiores aos demais tratamentos e apresentaram porcentagem de germinação superior (Tabela 2). O Pb foi o principal metal que influenciou positivamente o tempo médio de germinação, pois as sementes germinaram, em média, de sete a oito dias após a semeadura, enquanto no tratamento controle, a germinação ocorreu de 13 a 14 dias após a semeadura. Por último, com relação ao índice de velocidade de germinação, embora com os valores absolutos maiores para o tratamento com Pb, os resultados não diferiram entre si.

Tabela 2. Porcentagem de germinação (%), tempo médio de germinação (dias) e índice de velocidade de germinação de sementes de *Hymenaea courbaril* submetidas a diferentes metais pesados.

Tratamento	G (%)	TMG (dias)	IVG
Controle	86 ± 1,8 b	13,8 ± 1,9 a	4,8 ± 0,9 a
Cobre	86,7 ± 1,4 b	12,1 ± 2,1 ab	4,8 ± 0,7 a
Cádmio	88 ± 1,1 b	8,7 ± 1,5 bc	5,3 ± 0,8 a
Chumbo	92 ± 0,8 a	7,8 ± 1,6 c	6,1 ± 1,1 a



Valores médios e respectivos desvios-padrão ( $n=25$ ). Letras minúsculas distintas indicam valores significativamente diferentes entre os tratamentos com presença e ausência de metal pesado pelo teste de Tukey ( $p<0,05$ ).

### 3.2 Biometria e crescimento de *H. courbaril*

A presença de metais pesados não proporcionou diferenças estatísticas entre os tratamentos quando comparado ao controle para o crescimento em altura e diâmetro nos indivíduos de *H. courbaril*. Em valores absolutos, ao final do experimento foi possível notar que as plantas do tratamento com o metal Cu apresentaram a maior média para altura enquanto o efeito do Pb reduziu o crescimento dos indivíduos nesse tratamento. As médias aos 90 dias variaram entre 45,2 e 49,5 cm e não foi possível notar diferenças significativas entre os tratamentos em nenhum dos períodos estudados (Tabela 3).

Tabela 3. Altura (cm) de plantas jovens de *Hymenaea courbaril* submetidas a tratamentos com diferentes metais pesados.

<b>Tratamento</b>	<b>30 dias</b>	<b>60 dias</b>	<b>90 dias</b>
Controle	37,1 ± 5,5 a	42,3 ± 6,8 a	47,6 ± 8,1 a
Cobre	34,1 ± 1,3 a	41,7 ± 1,7 a	49,5 ± 1,8 a
Cádmio	35,7 ± 3,7 a	42,4 ± 5,5 a	47,9 ± 7,1 a
Chumbo	37,3 ± 5,8 a	41,7 ± 5,7 a	45,2 ± 6,1 a

Valores médios e respectivos desvios-padrão ( $n=15$ ). Letras minúsculas distintas indicam valores significativamente diferentes entre os tratamentos com presença e ausência de metal pesado pelo teste de Tukey ( $p<0,05$ ).

Quanto ao crescimento do diâmetro a altura do coleto (DAC), a presença dos metais pesados também não afetou significativamente esta variável nas mudas de *H. courbaril* em nenhum dos períodos. Ao final do experimento, as plantas do tratamento com Cu apresentaram a menor média de DAC com 3,9 mm enquanto os indivíduos do controle apresentaram a maior média com 4,2 mm (Tabela 4).

Tabela 4. Diâmetro a altura do coleto (mm) de plantas jovens de *Hymenaea courbaril* submetidas a tratamentos com diferentes metais pesados.

<b>Tratamento</b>	<b>30 dias</b>	<b>60 dias</b>	<b>90 dias</b>
Controle	3,8 ± 0,5 a	4,0 ± 0,6 a	4,2 ± 0,6 a
Cobre	3,5 ± 0,3 a	3,6 ± 0,3 a	3,9 ± 0,3 a

Cádmio	3,7 ± 0,4 a	3,9 ± 0,4 a	4,2 ± 0,4 a
Chumbo	3,8 ± 0,3 a	3,8 ± 0,3 a	4,1 ± 0,8 a

Valores médios e respectivos desvios-padrão ( $n=15$ ). Letras minúsculas distintas indicam valores significativamente diferentes entre os tratamentos com presença e ausência de metal pesado pelo teste de Tukey ( $p<0,05$ ).

Para a contagem do número de pares de folhas por planta, nos dois intervalos estudados foram identificadas diferenças entre os tratamentos. Apenas para sugerir tendências sobre os efeitos dos metais a nível foliar, o tratamento controle apresentou o menor valor aos 30 dias e o maior valor foi encontrado nos indivíduos do tratamento com a presença de cobre. Entretanto, ao final do experimento (90 dias), as plantas do tratamento com Pb apresentaram em média 4 pares folhas e nos tratamentos com Cu, Cd e no controle os indivíduos apresentaram 3 pares folhas.

Tabela 5. Número de pares de folhas de plantas jovens de *Hymenaea courbaril* submetidas a tratamentos com diferentes metais pesados.

Tratamento	30 dias	90 dias
Controle	1,4 ± 0,50 b	3,4 ± 1,0 a
Cobre	2,1 ± 0,6 a	3,7 ± 0,9 a
Cádmio	1,9 ± 0,4 ab	3,7 ± 1,1 a
Chumbo	1,9 ± 0,7 ab	4,1 ± 1,1 a

Valores médios e respectivos desvios-padrão ( $n=15$ ). Letras minúsculas distintas indicam valores significativamente diferentes entre os tratamentos com presença e ausência de metal pesado pelo teste de Tukey ( $p<0,05$ ).

Na análise da produção de biomassa de *H. courbaril*, foi seguido a mesma linha de raciocínio em termos de tendências e valores absolutos, a presença dos metais não diferiu do controle no que se refere a massa seca foliar (MSF), mas os valores absolutos obedeceram a seguinte ordem: Cd > Pb > Cu > Controle (Tabela 6). A partir dos resultados notou-se que não houve variação entre os tratamentos com a presença dos metais pesados. Em contrapartida, na massa seca caulinar (MSC) destacou-se as plantas do tratamento com Pb que apresentou uma biomassa duas vezes maior que as plantas do tratamento com Cu, que obtiveram a menor média. Nos resultados da massa seca radicular (MSR) foi possível notar que os tratamentos com Cd e Pb se destacaram com a maior produção de biomassa de raiz quando comparado às plantas tratadas com Cu. Seguindo o

mesmo padrão da MSC, os indivíduos do tratamento com Cu apresentaram o menor valor, com redução de 60% da biomassa radicular, e esse decréscimo proporcionou diferenças estatísticas entre esse tratamento e os demais, a exceção do controle.

As plantas de *H. courbaril* que estavam presentes no tratamento com Cd apresentaram maior quantidade de massa seca total (MST) enquanto a presença do Cu reduziu a produção de biomassa dos indivíduos no tratamento supracitado. Entretanto, a presença dos metais pesados não afetou significativamente a MST das plantas. Na relação de massa seca da raiz e massa seca parte foliar verificou-se que os indivíduos do tratamento com Cu apresentaram o menor valor e as plantas dos demais tratamentos não diferiram não diferiram entre si.

Tabela 6. Massa seca foliar (MSF), massa seca caulinar (MSC), massa seca radicular (MSR), matéria seca total da planta (MST) e razão raiz parte aérea (MSR/MSF) em plantas jovens de *Hymenaea courbaril* submetidas a tratamentos com diferentes metais pesados.

<b>Tratamento</b>	<b>MSF</b>	<b>MSC</b>	<b>MSR</b>	<b>MST</b>	<b>MSR/MSF</b>
	(g planta <sup>-1</sup> )	(g planta <sup>-1</sup> )	(g planta <sup>-1</sup> )	(g planta <sup>-1</sup> )	(g planta <sup>-1</sup> )
Controle	1,2 ± 0,4 a	0,8 ± 0,25 a	0,4 ± 0,6 ab	2,4 ± 0,7 a	0,3 ± 0,05 a
Cobre	1,3 ± 0,3 a	0,5 ± 0,13 b	0,3 ± 0,7 b	2,2 ± 0,4 b	0,2 ± 0,04 b
Cádmio	1,4 ± 0,4 a	0,9 ± 0,37 ab	0,5 ± 0,2 a	2,3 ± 0,9 a	0,3 ± 0,1 a
Chumbo	1,4 ± 0,5 a	1,0 ± 0,31 a	0,4 ± 0,2 a	2,8 ± 0,7 a	0,3 ± 0,06 a

Valores médios e respectivos desvios-padrão (n=5). Letras minúsculas distintas indicam valores significativamente diferentes entre os tratamentos com presença e ausência de metal pesado pelo teste de Tukey (p<0,05).

Quanto ao comprimento das raízes de *H. courbaril*, os indivíduos dos tratamentos com os metais pesados apresentaram redução na mensuração desse parâmetro, mas não diferiram estatisticamente entre si. As plantas do tratamento controle apresentaram o maior comprimento (31,1 cm) enquanto os indivíduos do tratamento com Cd obtiveram o menor crescimento radicular (29,1 cm) (Tabela 7).

Tabela 7. Comprimento da raiz de plantas jovens de *Hymenaea courbaril* submetidas a tratamentos com diferentes metais pesados.

<b>Tratamento</b>	<b>Comprimento da raiz (cm)</b>
-------------------	---------------------------------

Controle	31,1 ± 3,1 a
Cobre	30,7 ± 1,5 a
Cádmio	29,1 ± 2,8 a
Chumbo	29,5 ± 2,4 a

Valores médios e respectivos desvios-padrão ( $n=15$ ). Letras minúsculas distintas indicam valores significativamente diferentes entre os tratamentos com presença e ausência de metal pesado pelo teste de Tukey ( $p<0,05$ ).

#### 4 DISCUSSÃO

Estudar parâmetros de germinação e o crescimento inicial de plantas de *H. courbaril* submetidas a presença de Cu, Cd e Pb, em dosagens tóxicas representa a possibilidade de investigar uma espécie arbórea da Amazônia em condições de estresse por metais pesados. Com isso, buscou-se compreender os efeitos desses elementos no processo de germinação e no crescimento inicial de *H. courbaril* visto que esse é um estágio sensível às alterações químicas e físicas que ocorrem no solo, especialmente, quando estes solos estão contaminados por metais tóxicos (Seneviratne al., 2017).

Na literatura, está relativamente bem esclarecido que a presença de metais pesados causa a inibição da germinação de diversas espécies (Liu et al., 2012; He et al., 2014; Baroni et al., 2020). Entretanto, na presente pesquisa, as sementes do tratamento com Pb apresentaram porcentagem de germinação maior que o tratamento controle indicando que a espécie possui tolerância a este metal para a germinação. Porém, visando aprofundar e detalhar essa tolerância, alguns autores sugerem que as razões da tolerância para sementes de algumas espécies dependem da análise de fatores, o tipo de dormência da semente e a concentração do elemento tóxico, além do tempo de exposição ao tratamento (Ahmad et al., 2012; Rossi et al., 2012). Adicionalmente, sabe-se que altas concentrações de metais pesados no solo contribuem não somente para limitar a germinação, mas também para a redução do crescimento de plantas, dos processos bioquímicos e fisiológicos (Gall e Rajakaruna, 2013). O fato de não apresentar sensibilidade para a presença do metal tóxico, pode sugerir um aspecto importante no uso da espécie em ambiente contaminados.

Do ponto de vista do tipo de metal pesado “especiação” presente no solo contaminado, alguns são mais danosos. O Cd é considerado um metal altamente tóxico, pois altera as taxas de germinação em função da inibição do metabolismo e fisiologia das sementes, principalmente, ao interferir no *status* hídrico causando desequilíbrio na osmorregulação (Bezini et al., 2019). Além disso, a toxicidade causada pelo Cd interfere

na permeabilidade da membrana celular e altera a mobilização de reserva do embrião ao reduzir a hidrólise enzimática do amido (Karmous et al., 2015; Caroli et al., 2020). Mas, aparentemente, estes resultados não aconteceram com *H. courbaril*, uma vez que não foram observadas diferenças na germinação entre sementes com Cd e o controle, ao menos no que se refere a percentagem de germinação propriamente dita e não para as características inerentes ao metabolismo. Entretanto, resultados similares ao encontrado no presente estudo também demonstraram que mesmo diferentes concentrações de Cd não afetaram significativamente a germinação e o índice de velocidade de germinação de *Schinus molle* e a presença de Cd e Pb, em algumas situações tiveram impacto positivo na germinação de *Ulmus pumila* (Dukic et al., 2014; Baroni et al., 2020).

No que se refere ao efeito do Pb, neste trabalho, foi possível identificar uma indução ao processo de germinação. A maior taxa de germinação das sementes de *H. courbaril* no presente estudo pode estar relacionada ao Pb ficar acumulado na porção distal do cotilédone, logo não sendo transportado para a região do meristema da radícula e do hipocótilo (Lane e Martin, 1977). Ademais, o chumbo em altas concentrações pode acelerar a germinação das espécies e ao mesmo tempo reduzir o comprimento da radícula e do hipocótilo como foi observado em *Elsholtzia argyi* (Islam et al., 2008). Por outro lado, a eventual toxicidade causada pelo Pb que não foi encontrada em sementes de *H. courbaril* tem sido atribuída a limitações na atividade de enzimas essenciais no processo de germinação de sementes, como é o caso das atividades das amilases e das proteases (Senger et al., 2009). Além da redução nos parâmetros de germinação, o Pb provoca redução no crescimento das raízes, alterações na permeabilidade da membrana celular e no estabelecimento da plântula (Sethy et al., 2013).

Diante do resultado observado na germinação de sementes de *H. courbaril* no tratamento com Pb, pode-se inferir que a espécie possua mecanismos para tolerar esse metal. Em contrapartida, a não inibição da germinação não indica que os processos metabólicos e o desenvolvimento da planta não serão afetados (Rucińska-Sobkowiak, 2016; Silva et al., 2017). Os estudos posteriores relacionados ao crescimento são importantes para compreender os sintomas de toxicidade e quais vias de tolerância a espécie utiliza em situações de estresse.

Diferentemente dos outros dois metais pesados estudados (Cd e Pb), o cobre é um micronutriente essencial para diversos processos fisiológicos do desenvolvimento da planta, porém em altas concentrações pode causar toxicidade e efeitos negativos (Farias

et al., 2018; Marques et al., 2018). Algumas espécies apresentam comportamento distinto e demonstram aumento na porcentagem e no índice de velocidade de germinação na presença de desse metal (Zhi et al., 2015; Litvin et al., 2020). Entretanto no presente trabalho, as sementes de *H. courbaril* tratadas com Cu apresentaram a porcentagem de germinação igual ao tratamento controle, indicando tolerância da espécie a presença deste metal na dosagem aplicada, em se tratando do processo germinativo. Portanto, a germinação de sementes é uma análise essencial para avaliar os efeitos tóxicos dos metais pesados, pois é o primeiro estágio da planta a entrar em contato com as alterações do solo que esses elementos provocam (Solanki e Dhankar, 2011; Kadudová et al., 2015).

No geral, estudos relacionados com a etapa germinativa são essenciais para entender como as alterações ambientais prévias nas plantas, devido aos metais pesados e outros contaminantes alterarem a morfologia e a fisiologia da semente, embrião e da plântula (Gordin et al., 2012). Mas, conforme já destacado, essas etapas não foram afetadas pela presença de Cu, Cd e Pb no substrato de crescimento da *H. courbaril*, demonstrando o potencial da espécie em germinar em locais com a presença desses elementos tóxicos. Adicionalmente, no presente estudo, o crescimento em altura, diâmetro e número de folhas nas mudas de *H. courbaril* também não foi comprometido na presença de alguns metais pesados estudados (Cd e Pb) quando comparado ao tratamento controle. As plântulas de *H. courbaril* do tratamento com Cu não diferiram do controle para as variáveis de altura e do diâmetro, mas reduziram as massas secas do caule (MSC, quando comparado com os demais tratamentos) e das raízes (MSR, quando comparado com o tratamento com Pb), também com tendência a diminuição na matéria seca total (MST). Estes resultados não corroboram a pesquisa que analisou o crescimento de mudas de *H. courbaril* em solo contaminado com Cu, na qual os indivíduos tiveram incremento em altura até a concentração de 200 mg kg<sup>-1</sup> (Marques et al., 2018). Esse comportamento pode ser justificado pelo fato de o cobre ser um micronutriente essencial e estar na concentração limite tolerável pela planta sem causar sintomas de toxicidade (Souza et al., 2014; Adrees et al., 2015; Ameh e Sayes, 2019).

O comportamento supracitado pode ser explicado pelo fenômeno de *hormese*, em que mesmo pequenas concentrações de metais pesados sem função para as plantas, beneficiaram e estimularam o crescimento dos indivíduos de *H. courbaril* (Calabrese e Baldwin, 2001; Brito et al., 2017). Os resultados para o efeito de “*hormese*” causado pelos metais pesados ainda são escassos, mas alguns estudos indicam que baixas

concentrações de cobre e cádmio induziram o crescimento e a síntese de clorofilas em *Brassica juncea* quando comparado às altas dosagens testadas de Cd que não influenciaram esses parâmetros (Seth et al., 2008). Esta indicação, sugere a necessidade de conhecer o efeito de *hormese* induzido por esses metais devido a importância do conhecimento acerca dos mecanismos de sinalização para tolerância contra os sintomas de estresse (Poschenrieder et al., 2013).

O crescimento dos indivíduos de *H. courbaril* submetidos a dosagem de 10  $\mu\text{M}$  de Cu indica que a espécie tem boa capacidade de adaptação em substratos contaminados por esse elemento, ao considerarmos o processo de germinação. O tempo de exposição ao cobre é um fator importante que interfere na sua capacidade de provocar danos a morfologia das plantas, uma vez que o cobre pode induzir atrofiamento dos indivíduos como relatado para *Cassia angustifolia* expostas a concentrações acima de 200  $\text{mg L}^{-1}$  de Cu (Nanda e Agrawal, 2018). Essa característica indica que maiores tempos de exposição de *H. courbaril* aos metais pesados utilizados pode permitir melhor entendimento sobre o comportamento da espécie.

Para as plantas submetidas ao tratamento com Cd não se observou diferenças para o crescimento em altura, diâmetro e número de folhas semelhantes entre os tratamentos sem adição de metal (controle) e para outros metais pesados estudados. Os resultados sugerem estabilidade de resposta para os parâmetros de crescimento, indicando que alguns processos funcionais como a fotossíntese sejam menos sensíveis na espécie *H. courbaril* e nas concentrações testadas. O fato é que os metais pesados, em geral, quando em concentrações tóxicas reduzem a condutância estomática, afetando as taxas de fotossíntese (Chaves e Souza, 2014). Além disso, devido a mobilidade do Cd nos tecidos vegetais, a parte aérea das plantas e seus processos fisiológicos são bastante afetados (Fuzhong et al., 2010; Saidi et al., 2013).

A semelhança dos outros metais, na análise do crescimento dos indivíduos sob tratamento com Pb notou-se que não houve redução na altura, no diâmetro a altura do coleto e no número de folhas das plantas que estavam nesse tratamento. Estudos que evidenciam que a presença do Pb não causa redução no crescimento de espécie, indicando tolerância a esse metal pesado (Silva et al., 2017a). Como o observado no presente estudo, o aumento da massa seca também foi relatado para *Inga uruguensis* em tratamento com Pb (Frachia et al., 2022). A alta produção de biomassa é um importante indicador do

potencial de fitorremediação da espécie, pois quanto maior a biomassa, maior a capacidade de acumular metal (Esringu et al., 2014; Huang et al., 2019).

As mudas de *H. courbaril* no tratamento com Cd apresentaram maior massa seca radicular e razão MSR/MSF quando comparada com o tratamento com a adição de Cu. Mas, não foi encontrado diferença para o tratamento controle, sugerindo tolerância da *H. courbaril* para Cd e Pb. Mas, em estudo realizado com *Amaranthus spinosus* verificou-se redução de 50% da biomassa de em concentração de 50 mg kg<sup>-1</sup> de Cd (Huang et al., 2019). O Cd geralmente reduz a produção de biomassa nas plantas devido aos danos no aparato fotossintético, na atividade enzimática e na síntese de carboidratos (Liu et al., 2017).

Já os indivíduos do tratamento com Cu apresentaram a menor média de massa seca total em valores absolutos, uma vez que obtiveram os menores valores para massa seca caulinar e radicular. Estudos têm demonstrado que sob altas concentrações de Cu (3-100 µM), as plantas apresentam redução na biomassa radicular e total, redução no tamanho das folhas e sintomas de clorose e necrose foliar (Yruela, 2009). Os resultados encontrados em pesquisa com mudas de *Khaya ivorensis* submetidas a 400 mg kg de cobre mostraram a redução da massa seca total dos indivíduos (Covre et al., 2020). Além disso, estudos com *H. courbaril* também foi demonstrado a redução no crescimento das raízes e na biomassa das plantas submetidas a 800 mg kg<sup>-1</sup> de Cu (Marques et al., 2018).

No que se refere a análise do comprimento da raiz nesta pesquisa, os resultados encontrados para Cd e Pb sugerem diminuição do comprimento quando comparado com o controle. Os resultados encontrados para a mesma espécie (*H. courbaril*) quando submetida a diferentes concentrações de cobre indicam que a redução do comprimento radicular foi mais acentuada em 800 mg kg<sup>-1</sup> de Cu (Marques et al., 2018). Provavelmente, para a presença do cobre, as diferenças de resultados estejam relacionadas as concentrações testadas. Esta variável permite inferir sobre a tolerância e capacidade de acúmulo de metais nesse órgão sendo um parâmetro importante em situações de estresse (Cai et al., 2014).

Diante do que analisado, é possível sugerir que a presença dos três metais pesados (Cu, Cd e Pb) nas concentrações estudadas não influenciaram decisivamente para inibir o crescimento das plantas e a produção de biomassa indicando a capacidade de acúmulo de metais e sobrevivência de *H. courbaril*. Por outro lado, no sentido de os tratamentos



estarem induzindo alguns processos fisiológicos, a exemplo da germinação, a afirmação também precisa ser cautelosa e, deve ser respaldada por mais análises complementares, sejam elas morfofisiológicas e bioquímicas.

## **5 CONCLUSÃO**

A espécie *Hymenaea courbaril* quando submetida a tratamentos com os metais pesados demonstrou apresentar tolerância no que se refere a processos basais da vida vegetal como é caso da germinação e o crescimento inicial não foi inibido de forma a limitar o estabelecimento das plantas, com exceção do cobre. Estes resultados relacionados ao crescimento dos indivíduos e a produção de biomassa de *H. courbaril* na presença dos metais pesados testados, assim como nas concentrações estudadas induziram respostas da espécie que foram atribuídas ao efeito de *hormese* nas plantas. Diante do exposto, a espécie apresentou boa capacidade para lidar com metais, podendo ser considerada para compor programas que visam recuperar ambientes contaminados pelos metais pesados estudados. No entanto, outros aprofundamentos com o metal cobre devem ser realizados.

## REFERÊNCIAS

- Ahmad, I.; Akhtar, M. J.; Zahir, Z. A.; Jami, A. 2012. Effect of cadmium on seed germination and seedling growth of four wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Pakistan Journal of Botany*, 44(5): 1569-1574.
- Ali, H.; Khan, E.; Ilahi, I. 2019. Environmental Chemistry and Ecotoxicology of Hazardous Heavy Metals: Environmental Persistence, Toxicity, and Bioaccumulation. *Journal of Chemistry*, 2019, 14 pages.
- Almeida, M. B.; Souza, W. C. O.; Gomes, E. C. S.; Villar, F. C. R. 2011. Descrição morfológica do fruto e semente do jatobá (*Hymenaea courbaril* L.). *Revista Semiárido De Visu*, 1(2): 107-115.
- Ameh, T.; Sayes, C. M. 2019. The potential exposure and hazards of Copper nanoparticles: A review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 71: 103220.
- Asensio, V.; Ruiz, F.; Perlatti, F. 2019. Screening of native tropical trees for phytoremediation in copper-polluted soils. *International Journal of Phytoremediation*, 20(14):1-8.
- Baroni, G. de R.; Pereira, M. P.; Côrrea, F. F.; Castro, E. M.; Pereira, F. J. 2020. Cadmium tolerance during seed germination and seedling growth of *Schinus molle* (Anacardiaceae). *Floresta e Ambiente [online]*, 27(2): e20170502.
- Bezini, E.; Abdelguerfi, A.; Nedjimi, B.; Touati, M.; Adli, B.; Yabrir, B. 2019. Effect of some heavy metals on seed germination of *Medicago arborea* L. (Fabaceae). *Agriculturae Conspectus Scientificus* 84: 357-364.
- Bewley, J. D. 1997. Seed germination and dormancy. *The Plant Cell*, 9(7), 1055.
- Brito, I. P. F. S.; Tropaldi, L.; Carbonari, C. A.; Velini, E. D. 2017. Hormetic effects of glyphosate on plants. *Pest Management Science*, 73(1): 1-7.
- Busatto, P. C.; Nunes, A. da S.; Colman, B. A.; Masson, G. de L. 2013. Superação de dormência em sementes de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.). *Revista Verde*, 8(1): 154-160.
- Cai, S., Xiong, Z., Li, L., Li, M., Zhang, L., Liu, C., Xu, Z-R. 2014. Differential responses of root growth, acid invertase activity and transcript level to copper stress in two contrasting populations of *Elsholtzia haichowensis*. *Ecotoxicology*, 23(1): 76-91.

- Calabrese Edward, J.; Baldwin Linda, A. 2001. Hormesis: A Generalizable and Unifying Hypothesis. *Critical Reviews in Toxicology*, 31:4-5, 353-424.
- Cambrollé, J., García Fernandez, J. L.; Ocete, R.; Figueroa, E., Cantos, M. 2013. Growth and photosynthetic responses to copper in wild grapevine. *Chemosphere*, 93: 294-301.
- Capparelli, M. V.; Moulatlet, G. M.; Abessa, D. M. de S.; Lucas-Solis, O.; Rosero, B.; Galarza, E.; Tuba, D.; Carpintero, N.; Ochoa-Herrera, V.; Cipriani-Avila, I. 2020. An Integrative Approach to Identify the Impacts of Multiple Metal Contamination Sources on the Eastern Andean Foothills of the Ecuadorian Amazonia. *Science of the Total Environment*, 709, 136088.
- Caroli, M.; Furini, A.; DalCorso, G.; Rojas, M.; Di Sansebastiano, G. P. 2020. Endomembrane reorganization induced by heavy metals. *Plants*, 9: 482.
- Carvalho, L. R. De; Silva, E. A. A. da; Davide, A. C. 2006. Classificação de sementes de espécies florestais quanto ao comportamento no armazenamento. *Revista Brasileira de Sementes*, 28 (2): 15-25.
- Chaves, L. H. G.; Souza, R. S. 2014. Crescimento, distribuição e acumulação de cádmio em plantas de *Jatropha curcas*. *Revista de Ciências Agrárias*, 37(3): 286-291.
- Covre, W. P.; Pereira, W. V. S.; Gonçalves, D. A. M.; Teixeira, O. M. M.; Amarante, C. B.; Fernandes, A. R. 2020. Phytoremediation potential of *Khaya ivorensis* and *Cedrela fissillis* in copper contaminated soil. *Journal of Environmental Management*, 268: 110733.
- Đukić M.; Đunisijević-Bojović D.; Samuilov S. 2014. The Influence of Cadmium and Lead on *Ulmus pumilal* L. Seed Germination and Early Seedling Growth. *Archives of Biological Sciences*, 66(1): 253-259.
- Esringü, A.; Turan, M.; Güneş, A.; Karaman, M. R. 2014. Roles of *Bacillus megaterium* in Remediation of Boron, Lead, and Cadmium from Contaminated Soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 45: 1741-1759.
- Farias, J. G.; Nunes, S. T.; Sausen, D.; Nunes, M. A.; Neis, F. A.; Garlet, L. C.; *et al.* 2018. Agricultural contamination: Effect of copper excess on physiological parameters of potato genotypes and food chain security. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 91: 249-259.

- Frachia, C. L.; Silva, V. N.; Paiva, W. S.; Barbosa, I. C. F.; Silva, M. B.; Souza, L. A.; Justino, G. C.; Camargos, L. S. 2022. *Inga uruguensis* response to lead: effects on growth and nitrogenous compounds. *Rodriguesia*, 73: e01652020.
- Fuzhong W., Wanquin Y., Zhang J., Liqiang, Z. 2010. Cadmium accumulation and growth responses of a poplar (*Populus deltoids* x *Populus nigra*) in cadmium contaminated purple soil and alluvial soil. *Journal of Hazardous Materials*, 177, 268.
- Gall, J. E.; Rajakaruna, N. 2013. The physiology, functional genomics, and applied ecology of heavy metal-tolerant Brassicaceae. In M. Lang (Ed.). *Brassicaceae: Characterization, functional genomics and health benefits*, p. 121–148.
- Ghori, N.-H.; Ghori, T.; Hayat, M. Q.; Imadi, S. R.; Gul, A.; Altay, V.; Ozturk, M. 2019. Heavy metal stress and responses in plants. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16:1807-1828.
- Gidlow, D. A. 2015. Lead toxicity. *Occup Med (Lond)*, 65(5):348-56.
- Gordin, C. R. B.; Marques, R. F.; Masetto, T. E.; Scalon, S. D. P. Q. 2012. Germinação, biometria de sementes e morfologia de plântulas de *Guizotia abyssinica* Cass. *Journal of Seed Science*, 34(4).
- Gupta, D. K.; Huang, H. G.; Corpas, F. J. 2013. Lead tolerance in plants: strategies for phytoremediation. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(4): 2150–2161
- Hatamzadeh, A.; Sharaf, A. R. N.; Vafaei, M. H.; Salehi, M.; Ahmadi, G. 2012. Effect of Some Heavy Metals (Fe, Cu and Pb) on Seed Germination and Incipient Seedling Growth of *Festuca rubra* ssp. *commutate* (Chewings fescue). *International Journal of Agriculture and Crop Science*, 4(15): 1068-1073.
- He, J., Ren, Y., Chen, X., Chen, H. 2014. Protective roles of nitric oxide on seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.) under cadmium stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 108: 114–119.
- Huang, Y.; Xi, Y.; Gan, L.; Johnson, D.; Wu, Y.; Ren, D.; Liu, H. 2019. Effects of lead and cadmium on photosynthesis in *Amaranthus spinosus* and assessment of phytoremediation potential, *International Journal of Phytoremediation*, 21:10, 1041-1049.

- Hussain, S.; Akram, M.; Abbas, G.; Murtaza, B.; Shahid, M.; Shah, N. S.; Bibi, I.; Niazi, N. K. 2017. Arsenic tolerance and phytoremediation potential of *Conocarpus erectus* L. and *Populus deltoides* L. *International Journal of Phytoremediation*, 19, 985–991.
- Islam, E.; Liu, D.; Li, T.; *et al.* 2008. Effect of Pb toxicity on leaf growth, physiology and ultrastructure in the two ecotypes of *Elsholtzia argyi*. *Journal of Hazardous Materials*, 154(1–3):914–926.
- Kang, W.; Bao, J.; Zheng, J.; Xu, F.; Wang, L., 2018. Phytoremediation of heavy metal contaminated soil potential by woody plants on Tonglushan ancient copper spoil heap in China. *International Journal of Phytoremediation*, 20: 1–7.
- Karmous, I.; Bellani, L. M.; Chaoui, A.; El Ferjani, E.; Muccifora, S. 2015. Effects of copper on reserve mobilization in embryo of *Phaseolus vulgaris* L. *Environmental Science and Pollution Research*, 22: 10159-10165.
- Khan, F.; Hussain, S.; Tanveer, M.; Khan, S.; Hussain, H. A.; Iqbal, B. Geng, M. 2018. Coordinated effects of lead toxicity and nutrient deprivation on growth, oxidative status, and elemental composition of primed and non-primed rice seedlings. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(21): 21185–21194.
- Kopittke, P. M.; Blamey, F. P. C.; Asher, C. J.; Menzies, N. W. 2010. Trace metal phytotoxicity in solution culture: a review. *Journal of Experimental Botany*, 61(4): 945-954.
- Kumar, A.; Prasad, M. N. V. 2018. Plant-lead interactions: transport, toxicity, tolerance, and detoxification mechanisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 166: 401-418.
- Kushwaha, A; Hans, N.; Kumar, S.; Rani, R. 2018. A critical review on speciation, mobilization and toxicity of lead in soil-microbe-plant system and bioremediation strategies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 147: 1035–1045.
- Lane, S. D., Martin, E. S. 1977. A histochemical investigation of lead uptake in *Raphanus sativus*. *New Phytologist*, 79:281-286.
- Liu, J.; Zhang, Y.; Shi, P.; Chai, T. 2012. Effect of cadmium on seed germination and antioxidative enzymes activities in cotyledon of *Solanum nigrum* L. *Journal of Agro-Environment Science*, 31(5): 880–884.

- Liu, H.; Zhang, C.; Wang, J.; Zhou, C.; Feng, H.; Mahajan, M. D.; Han, X. R. 2017. Influence and interaction of iron and cadmium on photosynthesis and antioxidative enzymes in two rice cultivars. *Chemosphere*, 171:240–247.
- Litvin, V. A.; Deriy, S. I.; Plakhotniuk, L. N.; Abi Njoh, R. 2020. Effects of humic substances on seed germination of wheat under the influence of heavy metal. *Cherkasy University Bulletin: Biological Sciences Series 1*: 42-52.
- Lorenzi, H. 2012. *Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas do Brasil*. Plantarum, 6ª ed., 2012, v. 1, 384p.
- Marques, D. M.; da Silva, A. B.; Mantovani, J. R.; Magalhães, P. C., de Souza, T. C. 2019. Root morphology and leaf gas exchange in *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. (Caesalpinioideae) exposed to copper-induced toxicity. *South African Journal of Botany*, 121: 186e192.
- Marques, D. M.; Júnior, V. V.; da Silva, A. B.; Mantovani, J. R.; Magalhães, P. C.; Souza, T. C. 2018. Copper toxicity on photosynthetic responses and root morphology of *Hymenaea courbaril* L. (Caesalpinioideae). *Water, Air & Soil Pollution*, 229: 138.
- Melania-Nicoleta, B.; Micle, V. 2015. Effects of copper-induced stress on seed germination of maize (*Zea mays* L.). *Agriculture – Science and Practice*, 3: 95-96.
- Mittal, N.; Vaid, P.; Avneet, K. 2015. Effect on amylase activity and growth parameters due to metal toxicity of iron, copper and zinc. *Indian Journal of Applied Research*, 5: 662-664.
- Nanda, R.; Agrawal, V. 2018. *Piriformospora indica*, an excellent system for heavy metal sequestration and amelioration of oxidative stress and DNA damage in *Cassia angustifolia* Vahl under copper stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 156: 409-419.
- Nas, F. S.; Ali, M. 2018. The effect of lead on plants in terms of growing and biochemical parameters: a review. *MOJ Ecology and Environmental Sciences*, 3(4):265–268.
- Paiva, P. F. P. R.; de Lourdes Pinheiro Ruivo, M.; da Silva Júnior, O. M.; de Nazaré Martins Maciel, M.; Braga, T. G. M.; de Andrade, M. M. N.; *et al.* 2020. Deforestation in protect areas in the Amazon: a threat to biodiversity. *Biodiversity and Conservation*, *Biodiversity and Conservation*, 29: 19-38.

- Park, S. C.; Boyanov, M. I.; Kemner, K. M.; O'Loughlin, E. J.; Kwon, M. J. 2021. Distribution and speciation of Sb and toxic metal (loid) s near an antimony refinery and their effects on indigenous microorganisms. *Journal of Hazardous Materials*, 403: 123625.
- Poschenrieder, C.; Cabot, C.; Martos, S.; Gallego, B.; Barceló, J. 2013. Do toxic ions induce hormesis in plants?. *Plant Science*, 212: 15–25.
- Pourrut, B.; Jean, S.; Silvestre, J.; Pinelli, E. 2011. Lead-induced DNA damage in *Vicia faba* root cells: potential involvement of oxidative stress. *Mutation Research /Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 726: 123–128.
- Rahman, S. U.; Xuebin, Q.; Kamran, M.; Yasin, G.; Cheng, H.; Rehim, A.; Riaz, L.; Rizwan, M.; Ali, S.; Alsahli, A. A. 2021. Silicon elevated cadmium tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) by endorsing nutrients uptake and antioxidative defense mechanisms in the leaves. *Plant Physiology and Biochemistry*, 166, 148–159.
- Rascio, N.; Navari-Izzo, F. 2011. Heavy metal hyperaccumulating plants: how and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Science*, 180: 169–181.
- Rizzini, C. T. 1971. Árvores e madeiras úteis do Brasil: Manual de dendrologia brasileira. São Paulo: Editora E. Blücher, 1971. 294p.
- Rossi, S. C.; Lagoa, A. M. M. A.; Schiavinato, M. A. 2012. Tolerance to cadmium in the germination and development of jack beans. *Revista de Ciências Agrárias*, 55(2): 142-147.
- Rucińska-Sobkowiak R. 2016. Water relations in plants subjected to heavy metal stresses. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38:257.
- Saidi, I.; Ayouni, M.; Dhieb, A.; Chtourou, Y.; Chaibi, W.; Djebali, W. 2013. Oxidative damages induced by short-term exposure to cádmium in bean plants: protective role of salicylic acid. *South African Journal of Botany*, 23: 32-38.
- Seneviratne, M.; Rajakaruna, N.; Rizwan, M.; Madawala, H. M. S. P.; Ok, Y. S.; Vithanage, M. 2017. Heavy metal-induced oxidative stress on seed germination and seedling development: a critical review. *Environmental Geochemistry Health*, 41:1813-1831.

- Sethy, S. K; Ghosh, S. 2013. Effects of heavy metals on seed germination. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine*, 4: 272-275.
- Seth, C. S.; Chaturvedi, P. K.; Misra, V. 2008. The role of phytochelatins and antioxidants in tolerance to Cd accumulation in *Brassica juncea* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71(1):76–85.
- Solanki, R.; Dhankhar, R. 2011. Biochemical changes and adaptive strategies of plants under heavy metal stress. *Biologia*, 66: 195-204.
- Shanley, P. 2005. Jatobá: *Hymenaea courbaril* L. In: Shanley, P.; Medina, G. (Ed.). *Frutíferas e plantas úteis na vida amazônica*. Belém, PA: CIFOR, 2005. p.105-113.
- Sharma, P.; Dubey, R. S. 2005. Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17: 35-52.
- Shao, J. F.; Yamaji, N.; Shen, R. F.; Ma, J. F. 2017. The key to Mn homeostasis in plants: regulation of Mn transporters. *Trends in Plant Science*, 22: 215-224.
- Silva, E.; Guilherme M. F.; Oliveira, H.; Viana, Z.; Santos, V. L. 2017. Caracterização morfométrica e efeitos ecotoxicológicos do chumbo na germinação de sementes de *Schinus terebinthifolius* Raddi. *Arquivos do Instituto Biológico*, 84: e0272016.
- Silva, S.; Silva, P.; Oliveira, H.; Gaivão, I.; Matos, M.; Pinto-Carnide, O.; Santos, C. 2017a. Pb low doses induced genotoxicity in *Lactuca sativa* plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 112, 109–116.
- Souza, L. A.; Andrade, S. A. L.; Souza, S. C. R.; Schiavinato, M. A. 2011. Tolerância e potencial fitorremediador de *Stizolobium aterrimum* associada ao fungo micorrízico arbuscular *Glomus etunicatum* em solo contaminado por chumbo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 35: 1441-1451.
- Souza, S. C. R; Andrade, A. S. L; Souza, L. A.; Schiavinato, M. A. 2012. Lead tolerance and phytoremediation potential of Brazilian leguminous tree species at the seedling stage. *Journal of Environmental Management*, 110: 299-307.
- Souza, V. L.; Almeida, A. A. F.; Souza, J. S.; Mangabeira, P. A. O.; Jesus, R. M.; Pirovani, C. P.; Ahnert, D.; Baligar, V. C.; Loguercio, L. L. 2014. Altered physiology, cell structure, and gene expression of *Theobroma cacao* seedlings subjected to Cu toxicity. *Environmental Science and Pollution Research*, 21: 1217–1230.



- Souza, S. C. R.; Souza, L. A.; Schianinato, M. A.; Oliveira Silva, F. M.; Andrade, S. A. L. 2020. Zinc toxicity in seedlings of three trees from the Fabaceae associated with arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 195, 110450.
- Souza, N. D.; Sant'Anna Neto, A.; Santos Junior, A. J.; Oliveira, A. C. L.; Sampaio, D. A.; Cupertino, G. F. M.; Gonçalves, A. N.; Dias Júnior, A. F. 2022. A Brazilian Amazon species with high potential to phytoextract potential toxic elements. *Floresta e Ambiente*, 29(1): e20210076.
- Swapna B.; Rama Gopal G. 2014. Interactive Effects between Water Stress and Heavy Metals on Seed Germination and Seedling Growth of Two Green Gram (*Vigna radiata* L. Wilzec) Cultivars. *Biolife*, 2(1): 291-296.
- Turturro, A.; Hass, B.; Hart, R.W. 2001. Does caloric restriction induce hormesis? *Nutrition*, 17, 78-82.
- Yruela, I. 2009. Copper in plants: acquisition, transport and interactions. *Functional Plant Biology*, 36(5):409-430.
- Zhi, Y.; Deng, Z.; Luo, M.; Ding, W.; Hu, Y.; Deng, J.; *et al.* 2015. Influence of heavy metals on seed germination and early seedling growth in *Eruca sativa* Mill. *American Journal of Plant Sciences*, 6: 582.

**METABOLISMO DO CARBONO E NITROGENADO EM PLANTAS JOVENS DE JATOBÁ (*Hymenaea courbaril* L.) SUBMETIDAS A DIFERENTES METAIS PESADOS**

Ana Caroline de Jesus de Castro<sup>1</sup>, Flávia Camila Schimpl<sup>2</sup>, Joelma Keith Rodrigues<sup>3</sup>, José Francisco de Carvalho Gonçalves<sup>4</sup>

## RESUMO

A toxicidade de metais pesados em plantas leva a diversas alterações morfológicas, fisiológicas bioquímicas e moleculares responsáveis pelo declínio no crescimento vegetal. Os metais pesados (essenciais e não essenciais) em concentrações elevadas promovem danos generalizados nas plantas podendo ocasionar a morte dos indivíduos. Estudos sobre os mecanismos de tolerância das plantas a presenças destes metais tem aumentado devido ao aumento das áreas poluídas crescerem substancialmente nos últimos anos. Processos fisiológicos, como a fotossíntese e algumas rotas metabólicas relacionadas ao ganho de biomassa quase sempre são o foco das pesquisas. Além, tem sido investigadas espécies florestais nativas para se compreender os mecanismos de ação desses metais nas árvores. O objetivo da pesquisa foi investigar aspectos fisiológicos e metabólicos de plantas de *Hymenaea courbaril* submetida a tratamentos com metais pesados. O estudo foi conduzido no Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Vegetal, no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Plantas jovens de *H. courbaril* foram analisadas para parâmetros de trocas gasosas, teor de pigmentos cloroplastídicos, açúcares solúveis, amido, aminoácidos, proteínas e prolinas. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC) com quatro tratamentos: 1-) controle – solução de Hoagland & Arnon completa (1/4 da força), 2-) cobre (Cu, 10  $\mu$ M), 3- cádmio (Cd, 10  $\mu$ M) e 4- chumbo (Pb, 5  $\mu$ M), com cinquenta repetições. Os dados foram submetidos às análises descritivas, análise variância (ANOVA) e teste médias de Tukey ( $p < 0,05$ ) com o auxílio do software R, versão 4.0.2. Os resultados mostraram que a presença dos metais pesados influenciou negativamente nas trocas gasosas de *H. courbaril* bem como na síntese de pigmentos cloroplastídicos indicando que a espécie possui maior capacidade de tolerar a presença de Cd e Pb quando comparado ao Cu. E quanto ao metabolismo do C e N, a espécie demonstrou capacidade de ajuste na síntese desses osmólitos que são importantes indicadores em situações de estresse, como o ocasionado por esses metais pesados. Dessa forma, a espécie apresentou capacidade de tolerar cádmio e chumbo devido ao bom desempenho fisiológico e a manutenção dos metabólitos essenciais.

**Palavras-chave:** Jatobá, metabolismo vegetal, metais tóxicos, pigmentos cloroplastídicos, trocas gasosas.

## ABSTRACT

Heavy metals toxicity in plants causes several morphological, physiological, biochemical and molecular effects that are responsible for decline in plant growth. Heavy metals (essential and non-essential) in high concentrations promote damages to plants and can lead to the death of individuals. The studies of plant's mechanisms to tolerate the presence of these metal have increased due to the increase of polluted areas substantially in recent years. Physiological processes such as photosynthesis and some metabolic pathways related to biomass gain are almost the focus of those research. In addition, native forest species have been investigated to understand which mechanisms these metals have on trees. The study was carried out at the Laboratory of Plant Physiology and Biochemistry, at the National Institute for Amazonian Research, through the evaluation of gas exchange parameters, determination of chloroplast pigment content, concentration of soluble sugars, starch, amino acids, proteins and prolines. The experiment was carried out using a completely randomized design (DIC) with the establishment of four treatments: 1-) control - a quarter of the strength of Hoagland & Arnon, 2-) cobre (Cu, 10  $\mu$ M), 3- cádmio (Cd, 10  $\mu$ M) e 4- chumbo (Pb, 5  $\mu$ M), with fifty repetitions. Data were submitted to descriptive statistical analysis, analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test of means ( $p < 0.05$ ) using R software, version 4.0.2. The results showed that the presence of heavy metals negatively influenced the gas exchange of *H. courbaril* as well as the synthesis of chloroplast pigments, indicating that the species has a greater ability to tolerate the presence of Cd and Pb when compared to Cu. And as for the metabolism of C and N, the species showed adjustment capacity in the synthesis of these osmolytes that are important indicators in stress situations, such as that caused by these heavy metals. Thus, the species showed the ability to tolerate cadmium and lead due to showed great physiologic processes adjustments and metabolism adjustment.

**Keywords:** Jatobá, plant metabolism, toxic metals, chloroplast pigments, gas exchange.

## 1 INTRODUÇÃO

O acúmulo de metais pesados, como cádmio, cobre e chumbo nos solos vem se intensificando devido ao uso em larga escala nas atividades industriais, de mineração e na agricultura afetando assim a qualidade do ar, do solo, da água e a saúde do ser humano, devido ao consumo de alimentos com concentrações elevadas destes metais (Ali et al., 2019; Hussain et al., 2021). A toxicidade, acumulação e natureza não-degradável desses elementos presentes no ecossistema impacta, principalmente, as plantas ao afetar o seu crescimento e desenvolvimento (Shawai et al., 2017; Zhang et al., 2019).

Os metais pesados são um grupo de elementos com alta densidade, ou seja, acima de 5 g/cm<sup>3</sup>. Estes incluem elementos metálicos (Mn, Zn, Cu, Hg e Cd) e metalóides (Se e As) que diferem dos metais por não apresentar suas propriedades características (Ex: eletropositividade). Metais pesados a exemplo do cádmio, cobre e chumbo induzem sintomas de toxicidade nas plantas primeiramente nas raízes, podendo ou não ser translocados para a parte aérea (Kushwaha et al., 2018). Em altas concentrações causam alterações morfológicas, bioquímicas e morfoanatômicas nas plantas e são importantes parâmetros para a recomendação de espécies com a finalidade de recuperar ambiente contaminados por esses elementos (Dubey et al., 2018; Zhang et al., 2019).

Dentre todos os processos afetados, os fisiológicos e bioquímicos estão entre os mais sensíveis aos estresses, especialmente, induzidos por metais pesados (Bidabadi et al., 2018). A toxicidade de metais pesados desencadeia e altera várias respostas fisiológicas nas plantas, incluindo redução do índice de área foliar, fotossíntese, rigidez da membrana e integridade, enquanto aumento da clorose foliar, lesão da parede celular e geração de radicais livres (Jamla et al., 2021; Raza et al. 2022).

Se considerarmos a fotossíntese, o principal sítio de ação dos metais pesados parece ser a maquinaria fotossintética propriamente dita, pois modifica a composição dos pigmentos e as proteínas das membranas fotossintéticas (Kumar et al., 2021). A presença desses elementos tóxicos nas folhas causa a diminuição da produção de biomassa vegetal além da síntese de carboidratos que são essenciais ao crescimento e desenvolvimento das plantas (Hussain et al., 2013). Assim como, os níveis elevados de metais pesados provocam danos a fotossíntese também pela desestruturação da organização do cloroplasto, que reduz tanto as reações fotoquímicas quanto a assimilação do carbono e o complexo de captação de luz. (He et al., 2018). Há a inibição da síntese de plastoquinona,

teores de clorofila *a* e *b*, carotenóides, redução da cadeia de transporte de elétrons, inibição das atividades de enzimas do ciclo de Calvin além da deficiência de CO<sub>2</sub> como resultado de fechamento estomático (Ozyigit et al., 2016; Gong et al., 2019).

As membranas do tilacóides sofrem modificações que provocam o estresse oxidativo nas células e reduz o transporte de elétrons e as atividades do fotossistema II (Xu et al., 2013; Rehman et al., 2020). O declínio na eficiência quântica do fotossistema II pode ser explicado pela redução da capacidade da planta em assimilar em CO<sub>2</sub> ou como resultado da fosforilação oxidativa (Marques et al., 2018).

A relação planta-água também é afetada na presença de metais pesados, pois o acúmulo de íons nos tecidos vegetais pode interferir na absorção de água e reduzir o teor de água nas raízes (Rucińska-Sobkowiak, 2016). Esses elementos causam a redução da plasticidade da parede das células, pois há perda de pressão de turgescência das células-guarda, ocasionando o fechamento dos estômatos (Rucińska-Sobkowiak et al., 2013; Bazihizina et al., 2014). A toxicidade provoca redução na condutância estomática, no tamanho das células e na densidade estomática na epiderme foliar (Abbas et al., 2017). Todo esse amplo espectro de toxicidade dos metais exige que plantas tolerantes desenvolvam diferentes mecanismos capazes de excluir, imobilizar e ou compartimentalizar os metais tóxicos. Adicionalmente, selecionar espécies capazes de tolerar os estresses provenientes dos metais pesados representam uma possibilidade real de usar estas plantas para descontaminar ambientes.

Diante do aumento do cenário de sítios contaminados, a fitorremediação surge como uma alternativa viável, sem altos custos e danos ambientais, isto é, sem efeitos colaterais, ajudando a recuperar as características físicas, químicas e biológicas do solo (Wang et al., 2017; Deng et al., 2019). Entretanto, essa técnica apresenta algumas restrições como limitação na biodisponibilidade dos contaminantes no solo, as espécies hiperacumuladoras possuem eficiência limitada devido apresentarem baixa produção de biomassa e ao lento crescimento, além do risco de contaminação da cadeia alimentar (Cameselle e Gouveia, 2019).

Com isso, surge a necessidade de recomendar espécies arbóreas que apresentem potencial para fitorremediar solos contaminados, pois esses indivíduos podem contribuir para a imobilização/fracionamento dos metais pesados, melhoria das condições do solo além de normalmente produzirem maior biomassa (Afzal et al., 2014). Diante desta

possibilidade, a flora arbórea do bioma Amazônico apresenta várias potenciais espécies candidatas.

A *Hymenaea courbaril* L. é uma espécie arbórea, semi-heliófila, clímax, pertencente à família Leguminosae – Caesalpiniaceae e de distribuição neotropical (Nascimento et al., 2014). No território brasileiro ocorre desde a Amazônia até o estado de São Paulo com alto valor comercial sendo utilizada principalmente no setor da construção civil e da movelaria (Alvino et al., 2005). Pesquisas recentes indicam o potencial dessa espécie para projetos de fitorremediação uma vez que possui características para recuperar áreas degradadas devido a tolerância e adaptação em distintos ambientes (Marques et al., 2018). Nesse contexto, o objetivo desta pesquisa foi investigar aspectos fisiológicos e metabólicos de plantas de *H. courbaril* submetida a tratamentos com metais pesados (Cu, Cd e Pb).

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Condição experimental e material vegetal

O experimento foi conduzido em regime de casa de vegetação do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Vegetal do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA, em Manaus-AM, com coordenadas geográficas 3°05'34'' S e 59°59'18'' W. Segundo Köppen (1948), o clima é classificado como Am, com temperatura média anual de 27,4°C e pluviosidade média anual de 2415 mm. Local onde foram realizadas todas as análises de fotossíntese e, em seguida, foram feitas coletas de material vegetal, as amostras foram liofilizadas e transportadas para a Unidade de Crescimento de Plantas – UCP na Universidade Federal de Viçosa – UFV, MG, onde todas as análises bioquímicas foram realizadas.

Após a etapa de germinação, foi realizado o acompanhamento do crescimento das mudas com a aplicação de solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950) (tabela 8) com ¼ de força iônica nas caixas do tratamento controle. A solução foi renovada a cada 15 dias e o pH mantido na faixa entre 5,5 e 6,0 com adição de NaOH ou HCl 1M quando necessário o ajuste.

Tabela 8. Composição da solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950).

Composição	Concentração	ml/L
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	1M	5
KNO <sub>3</sub>	1M	5

MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	1M	2
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1M	1
Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O	0,01M	10
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,05M	5
CaSO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,01M	20
Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	1M	2
Fe-EDTA	1M	1
Micronutrientes sem cobre	1M	1

## 2.2 Medidas de trocas gasosas

A avaliação das mudas para as análises fisiológicas ocorreu ao final do experimento (90 dias). A taxa fotossintética (A), condutância estomática (gs), transpiração (E), concentração interna de CO<sub>2</sub> foram avaliadas por meio do medidor portátil IRGA (Infra-red Gas Analyser/ADC equipments - mod. LCi 6400), de sistema aberto. Os dados da análise das trocas gasosas foram coletados entre 8 horas e 12 horas, em folhas expandidas e classificadas em bom estado fitossanitário. Para realizar esta medição foram selecionadas oito plantas e uma folha por planta de cada tratamento foi inserida dentro da câmara do IRGA, posicionada na região mediana foliar.

Para determinar os parâmetros das trocas gasosas, o equipamento foi ajustado a trabalhar com densidade de fluxo de fótons saturante (PPFD) de 1200  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , fluxo de 400  $\mu\text{mol s}^{-1}$  e a câmara foi ajustada em torno de  $400 \pm 1 \mu\text{mol}$  para concentração de CO<sub>2</sub>,  $31 \pm 1^\circ\text{C}$  para a variável temperatura e  $21 \pm 1 \text{ mmol mol}^{-1}$  para vapor de H<sub>2</sub>O.

Os dados da curva de resposta fotossintética à intensidade luminosa (A-I) foram obtidos para uma densidade de fluxo de fótons (PPDF) entre 0 e 2000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , em ordem decrescente, sendo posteriormente ajustados pelo modelo exponencial (Iqbal et al., 1997).

## 2.3 Eficiências no uso da água

A eficiência no uso da água (EUA) foi determinada pela relação entre as taxas de fotossíntese líquida e transpiração (A/E) e a eficiência intrínseca da água (EU<sub>i</sub>A) foi determinada por meio da relação fotossíntese e da condutância estomática (A/gs) (Ferreira et al., 2012).



## **2.4 Pigmentos cloroplastídicos**

Para determinar os teores de pigmentos cloroplastídicos, as folhas foram coletadas no período da manhã, acondicionadas em papel alumínio liofilizadas e maceradas com nitrogênio líquido no Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Vegetal (LFBV) no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). Posteriormente, as amostras foram enviadas para a Unidade de Crescimento de Plantas – UCP na Universidade Federal de Viçosa – UFV, MG, local onde foram realizadas as análises para os teores foliares de pigmentos cloroplastídicos (clorofila *a*, clorofila *b*, razão clorofila *a/b*, clorofila total e carotenóides). A metodologia utilizada foi a de Arnon (1950) a partir de 0,1 g de material vegetal fresco macerado em 10 mL de acetona (80% v/v) e MgCO<sub>3</sub> (0,5% p/v) com o extrato sendo filtrado em papel filtro nº 2. Na etapa seguinte, o volume do material foi aferido para 15 mL com a mesma solução. Para determinar esses teores, foi utilizado o espectrofotômetro (UV/Visível Ultrospec 2100 pro, Armesham Biosciences) nos comprimentos de onda  $\lambda = 663, 645$  e 480 nm para clorofila *a*, clorofila *b* e, respectivamente (Lichtenthaler e Wellburn, 1983).

## **2.5 Determinação dos teores de carboidratos não estruturais**

Para quantificar o teor de açúcares solúveis e amido, as folhas, raízes e caule foram coletadas no período da manhã, entre 9h e 12 h. Posteriormente, as amostras foram acondicionadas em papel alumínio, liofilizadas e maceradas com nitrogênio líquido no Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Vegetal (LFBV) no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) e, encaminhadas para a Unidade de Crescimento de Plantas – UCP na Universidade Federal de Viçosa – UFV, MG, para a realização das análises metabólicas.

Cerca de 10 mg do material vegetal liofilizado de cada tecido vegetal foi macerado e extraído em metanol, água e clorofórmio de acordo com Lisec et al. (2006), exceto pela adição de ribitol. As concentrações de glicose, frutose e sacarose foram quantificadas na fração solúvel de acordo com Fernie et al. (2001) enquanto na fração insolúvel foram determinados os teores de amido (Fernie et al., 2001).

## **2.6 Determinação do teor de proteínas totais**

Para determinar o teor de proteínas, as amostras liofilizadas contendo 10 mg de material vegetal macerados foram extraídos em metanol, água e clorofórmio, conforme previamente descrito por Lisec et al., (2006), exceto pela adição de ribitol. Na fração

insolúvel foram quantificadas as proteínas de acordo com Bradford (1976), com a retirada de uma alíquota de 0,1 mL de amostra e 5,0 mL do reagente de Bradford (solução filtrada de 100 mg de coomassie brilliant G em 50 mL de etanol 95%, 100 mL de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 85% p/v e água destilada). As leituras foram realizadas após 10 minutos a 595 nm.

## **2.7 Determinação do teor de aminoácidos**

A fim de determinar a influência dos tratamentos no conteúdo de aminoácidos na planta, os indivíduos foram seccionados em folha, caule e raiz e acondicionados em papel alumínio, liofilizados, macerados em nitrogênio líquido e encaminhados para o Laboratório de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa. Os aminoácidos foram quantificados a partir de amostras de 10 mg de cada tecido vegetal macerado extraídas em metanol, água e clorofórmio, conforme previamente descrito (Lisec et al., 2006). O teor de aminoácidos foi determinado na fração solúvel em metanol com leitura a 570 nm (Yemm et al., 1955).

## **2.8 Determinação do teor de prolina**

Para obter o conteúdo de prolina nos tecidos vegetais foi utilizado o mesmo material macerado extraído em metanol, água e clorofórmio (Lisec et al. 2006). As alíquotas foram retiradas da fração solúvel e as leituras realizadas a 520 nm (Carillo e Gibon, 2011).

## **2.9 Delineamento experimental e análise estatística**

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC) com quatro tratamentos: 1-) controle – solução de Hoagland & Arnon completa (1/4 da força), 2-) cobre (Cu, 10 µM), 3- cádmio (Cd, 10 µM) e 4- chumbo (Pb, 5 µM), com vinte e cinco repetições. Após a conclusão dos experimentos. Os dados obtidos foram planilhados e submetidos aos testes de Shapiro-Wilk com a finalidade de verificar a normalidade e teste Levene para a homogeneidade das variâncias. Atendido estes pressupostos, os resultados foram submetidos as análises de estatística descritiva (CV%, valores mínimos, médios e máximos), análise de variância (ANOVA) e teste de médias de Tukey ( $p < 0,05$ ) com o auxílio do programa R (versão 4.0.2).

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Trocas gasosas

Os parâmetros de trocas gasosas de mudas de *Hymenaea courbaril* foram significativamente reduzidos na presença dos metais pesados (Cu, Cd e Pb) testados na presente pesquisa, verificando-se decréscimos em todas as variáveis analisadas.

A fotossíntese, condutância estomática e a transpiração apresentaram as maiores reduções no tratamento com presença de Cu (Figura 6a, b). Ao comparar o valor médio da fotossíntese de *H. courbaril* no tratamento controle com as plantas dos tratamentos com os metais houve percentual de redução de 128% para o Cu, 34,8% para o Cd e 53,7% para o Pb. Esse decréscimo foi mais acentuado na análise da condutância dos estômatos e da transpiração. Para condutância estomática foi possível notar diferenças estatísticas entre os três tratamentos com presença de metal quando comparado ao controle da ordem de 240% para o Cu, 88,9% para o Cd e 112,5% para o Pb. Esses resultados evidenciam os efeitos prejudiciais nas trocas gasosas das plantas na presença desses elementos (Figura 1b).

Devido as interrelações dos fluxos de CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O, especialmente em ambientes estressantes comuns em áreas contaminadas por metais pesados, vale destacar que os resultados observados para a transpiração (E) foram semelhantes aos da fotossíntese e condutância estomática (Figura 1a, b, d). Nos tratamentos com metais pesados, as plantas de *H. courbaril* exibiram os seguintes valores de médios de 0,93 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, 2,1 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e 1,89 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> para o Cu, Cd e Pb, respectivamente. O maior padrão de redução nas variáveis de fotossíntese, condutância estomática e transpiração na presença de 10 µM de cobre evidencia que pequenas concentrações já causam alterações fisiológicas relacionadas a assimilação do carbono. Quando comparado ao tratamento controle, o percentual de redução foi de 280,5% para o Cu, 68,6% para o Cd e 87,3% para o Pb.

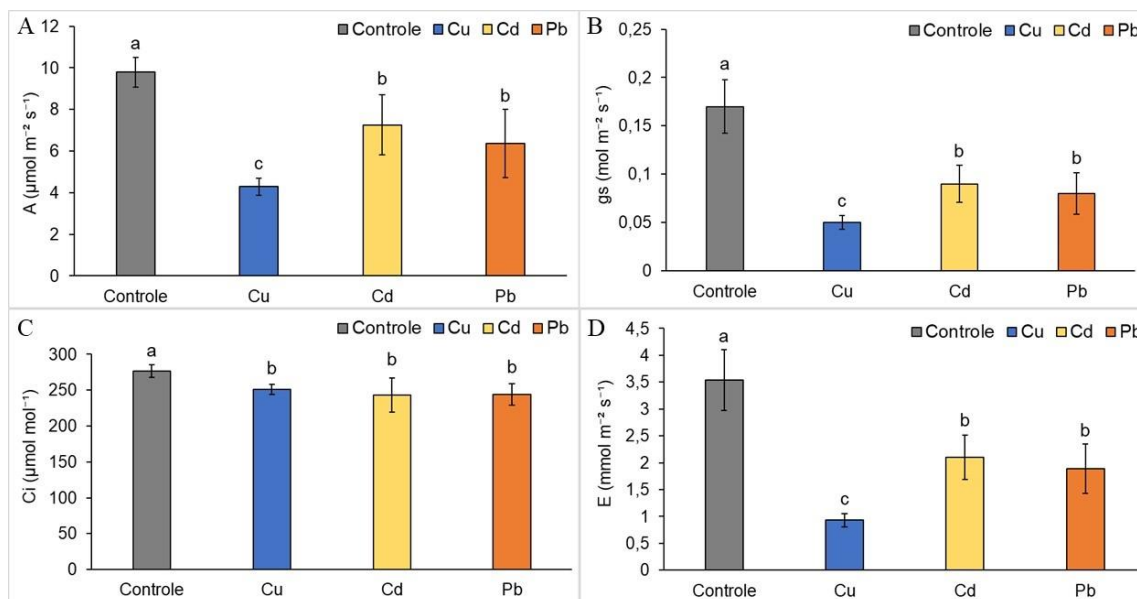


Figura 1. (a) Fotossíntese (A), (b) condutância estomática (gs), (c) concentração interna de CO<sub>2</sub> (Ci), transpiração (E) em plantas jovens de *Hymenaea courbaril* expostas a tratamentos com metais pesados. Letras minúsculas distintas indicam valores significativamente diferentes entre os tratamentos com metais pesados pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Média  $\pm$  desvio padrão, n = 8.

Outra observação importante relaciona-se a concentrações internas de CO<sub>2</sub>, uma vez que não foi possível notar diferenças significativas nos tratamentos com a presença dos metais pesados. O percentual de redução foi de 10,3% para o Cu, 13,7% para o Cd e 13,4% para o Pb quando comparado as plantas que estavam no tratamento sem metal pesado

### 3.2 Eficiências no uso da água

A eficiência no uso da água divergiu das demais variáveis fisiológicas analisadas, pois as mudas de *H. courbaril* apresentaram maior desempenho na presença dos metais pesados (Figura 1a). As plantas do tratamento com Cu exibiram a maior média (4,61 mol CO<sub>2</sub> mol H<sub>2</sub>O<sup>-1</sup>) entre todos os tratamentos. Esse comportamento pode estar diretamente relacionado com a condutância estomática que apresentou baixo valor na presença de cobre (Figura 6b), indicando que a redução da gs promove o aumento da EUA.

A eficiência intrínseca do uso da água aumentou nos tratamentos com presença de metal pesado, exibindo diferenças significativa quando comparados com o tratamento controle, no qual as plantas de *H. courbaril* apresentaram o menor valor médio (Figura 2b). Seguindo o padrão da eficiência do uso da água, salienta-se que o aumento dos

valores dessas variáveis é importante para identificar característica de tolerância das plantas em condições de estresse devido a pouca disponibilidade de água no ambiente.

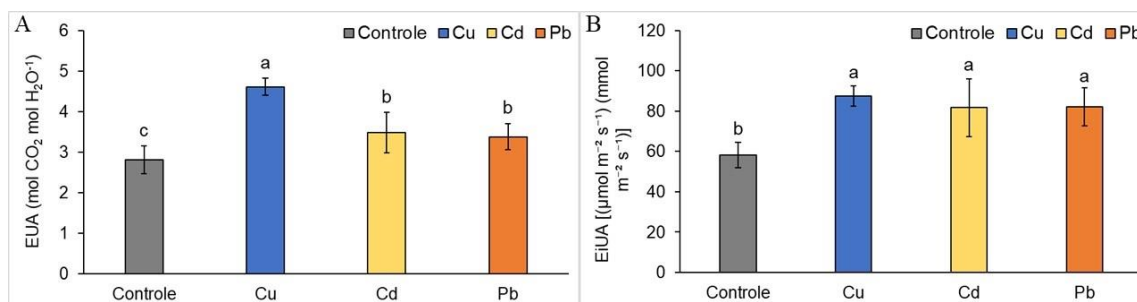


Figura 2. Eficiência do uso da água (EUA) e eficiência intrínseca do uso da água (EiUA) em plantas jovens de *Hymenaea courbaril* expostas a tratamentos com metais pesados. Letras minúsculas distintas indicam valores significativamente diferentes entre os tratamentos com metais pesados pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Média  $\pm$  desvio padrão,  $n = 8$ .

### 3.3 Pigmentos cloroplásticos

Os teores dos pigmentos fotossintetizantes apresentaram alterações na presença dos três metais pesados testados na presente pesquisa. No tratamento com presença de Cu foi possível notar que a degradação do teor de clorofila *a* foi maior quando comparado com o controle, exibindo percentual de redução da ordem de 47,5% (Figura 3a). Por outro lado, nos tratamentos com Cd e Pb, embora não haja diferença do controle, sugere-se que houve tendência de acréscimo.

Na análise para o da clorofila *b*, as mudas do tratamento com Cu também exibiram maior percentual de redução com 35,4%, em relação ao tratamento com ausência de metal pesado (Figura 3b). Conseqüentemente, o conteúdo total de clorofila nas plantas de jatobá submetidas ao tratamento com Cu apresentou o menor valor médio (Figura 3d).

A razão clorofila *a/b* diferiu entre os tratamentos na presença de Cu, que apresentou a menor média (1,64) quando comparada com os tratamentos com os metais pesados Cd e Pb. A presença desse elemento também reduziu em 46,5% o conteúdo de carotenoides nas folhas de *H. courbaril*, e o tratamento com Cu promoveu diferenças significativas quando comparado com todos os demais tratamentos. Na análise do teor de carotenóides, os indivíduos do tratamento com cobre apresentou a menor média e diferiu dos demais. E quanto a razão chl/car a presença dos metais pesados não causou diferença entre os tratamentos.

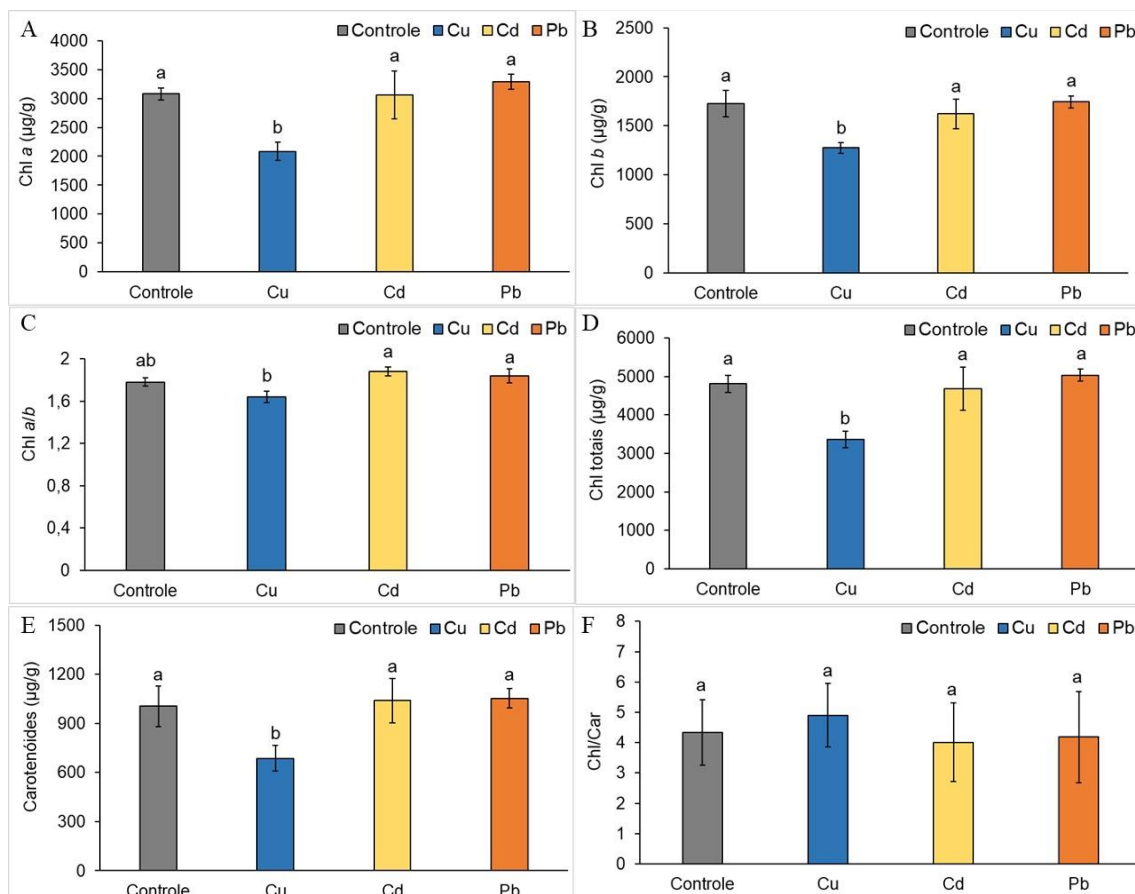


Figura 3. Teores de clorofila a (a), clorofila b (b), razão de clorofila a/b (c), clorofila total (d), carotenóides (e) e razão de clorofila/carotenóides (f) em  $\mu\text{g/g}$  de massa fresca de *Hymenaea courbaril* expostas a tratamentos com metais pesados. Letras minúsculas distintas indicam valores significativamente entre os tratamentos com metais pesados pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Média  $\pm$  desvio padrão,  $n = 5$ .

### 3.4 Carboidratos não estruturais

Em geral, as concentrações de açúcares diminuem em plantas expostas a metais pesados devido as alterações na síntese desses carboidratos. No presente trabalho observou-se que dentre as variáveis relacionadas ao metabolismo do carbono, as concentrações de glicose e frutose, de fato, diminuíram nas raízes, mas aumentaram nos caules e nas folhas de *H. courbaril* na presença de Cu, Cd e Pb (Figura 4a, b).

Nas folhas, o maior teor de glicose foi observado no tratamento com Cu ( $31,7 \mu\text{mol/g}$ ), o que representou aumento de  $55,8\%$  quando comparado ao tratamento com ausência de metal ( $20,34 \mu\text{mol/g}$ ) proporcionando diferenças estatísticas entre os tratamentos com os três metais e o controle. No caule, as plantas do tratamento com Cd e Cu apresentaram os maiores valores médios para esse açúcar correspondendo a um aumento de  $176,7\%$  para o Cd e  $56,9\%$  para o Cu em relação ao tratamento controle.

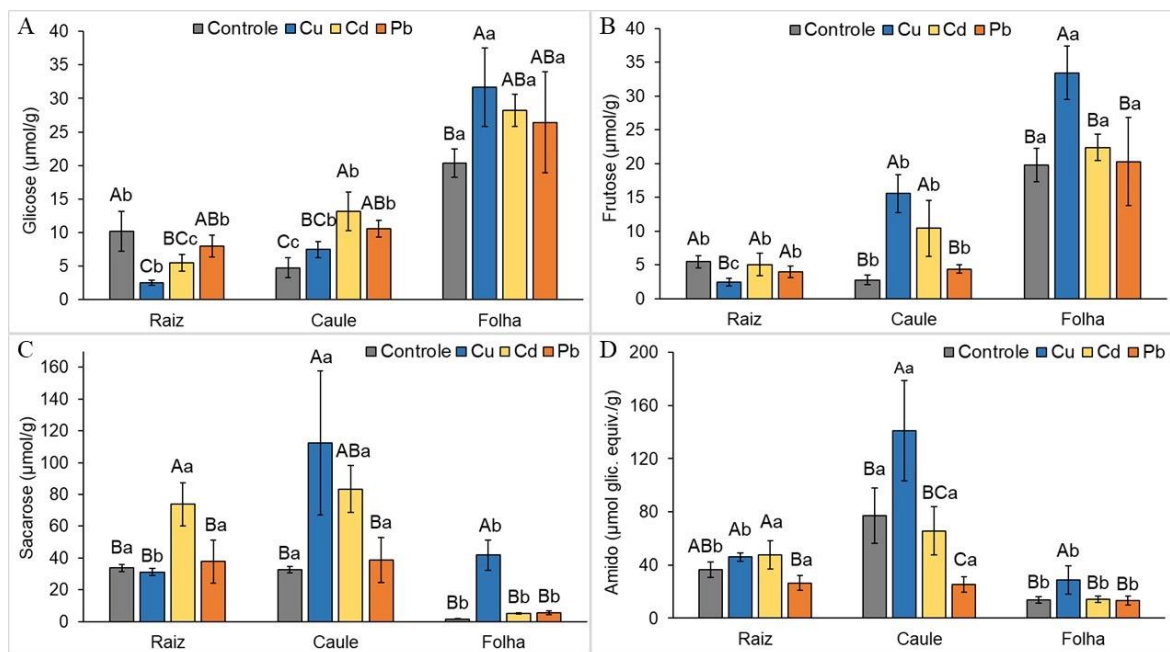


Figura 4. Concentração de glicose (A), frutose (B), sacarose (C) e amido (D) em plantas jovens de *Hymenaea courbaril* submetidas a tratamentos com metais pesados. Letras maiúsculas distintas indicam valores significativamente diferentes entre tratamentos com metais pesados; letras minúsculas distintas indicam valores significativamente diferentes entre tecidos vegetais no tratamento com o mesmo metal pesado pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Média  $\pm$  desvio padrão,  $n = 5$ .

Conforme já mencionado acima, o padrão da concentração de glicose nas raízes foi o inverso ao dos outros tecidos, uma vez que as plantas do tratamento controle exibiram o maior valor médio (10,2  $\mu\text{mol/g}$ ). Nos tratamentos com presença de Cu, Cd e Pb foram observadas reduções da ordem de 302,8%, 85,7% e 28,5%, respectivamente (Figura 4a). O teor de frutose aumentou significativamente tanto no caule quanto nas folhas de *H. courbaril* submetidas aos metais pesados. Nas folhas, a maior concentração de 33,4  $\mu\text{mol/g}$  foi encontrada no tratamento com Cu, o que representou aumento de 69,2% quando comparada ao tratamento controle. Na análise da frutose caulinar, as plantas do tratamento com Cu também apresentaram a maior concentração com 15,6  $\mu\text{mol/g}$  que foi equivalente ao aumento de 464,1% em comparação ao controle, tratamento que apresentou a menor média (Figura 4b).

Na análise das raízes, as mudas de *H. courbaril* que estavam nos tratamentos com presença dos metais apresentaram redução no conteúdo de frutose em relação ao controle (Figura 4b). O percentual de redução foi de 125%, 8,7% e 37,9% para as plantas do tratamento com Cu, Cd e Pb, respectivamente.

A concentração de sacarose nos tecidos de *H. courbaril* aumentou significativamente no caule quando comparado as folhas e raízes em todos os tratamentos (Figura 4c). Nas folhas, a maior concentração de sacarose (41,8  $\mu\text{mol/g}$ ) foi encontrada nas plantas do tratamento com Cu, representando aumento de 25 vezes em relação ao controle que exibiu a menor média (1,51  $\mu\text{mol/g}$ ).

No caule, a maior e menor concentração de sacarose foram observadas nas plantas do tratamento com Cu e controle, com 112,3  $\mu\text{mol/g}$  e 32,6  $\mu\text{mol/g}$ , respectivamente, com um aumento de 244,5% quando comparado ao tratamento sem adição do metal. Entretanto, na análise do teor de sacarose nas raízes, as plantas do tratamento com Cd destacaram-se ao apresentar a maior concentração (73,8  $\mu\text{mol/g}$ ), mostrando aumento de 119,3% em comparação ao tratamento controle.

Com relação ao teor de amido, verificou-se aumentou em todos os tecidos do tratamento com Cu e reduziu nas plantas que estavam presentes no tratamento com Pb. Além disso, o teor de amido na presença de metais pesados foi menor nas folhas de *H. courbaril* quando comparado ao caule e a raiz em todos os tratamentos (Figura 4d).

Nas folhas, a maior concentração de amido foi observada no tratamento com Cu (28,9  $\mu\text{mol glic. equiv./g}$ ) e a menor no tratamento com Pb (13,3  $\mu\text{mol glic. equiv./g}$ ) (Figura 1a). No caule, a maior e a menor concentração de amido também foram observadas nas plantas dos tratamentos com Cu e Pb, com 141  $\mu\text{mol glic. equiv./g}$  e 25,3  $\mu\text{mol glic. equiv./g}$ , respectivamente, destacando que diferentes metais interferiram de maneiras distintas no acúmulo desse carboidrato de reserva no mesmo tecido (Figura 4d).

Nas raízes de *H. courbaril* notou-se que a presença dos metais induziu aumento do teor de amido nos tratamentos com Cu e Cd e reduziu nas plantas que estavam no tratamento com Pb (Figura 1d). As maiores concentrações de amido foram observadas nos indivíduos do tratamento com Cd e Cu, 47,53  $\mu\text{mol glic. equiv./g}$  e 45,99  $\mu\text{mol glic. equiv./g}$ , respectivamente, e esse aumento foi de 30,57% e 26,34% em relação ao controle.

### **3.5 Proteínas**

A exposição das plantas aos metais Cd e Pb influenciou no aumento dos teores de proteínas nas folhas de *H. courbaril*, mas as mudas do tratamento com Cu apresentaram redução de proteínas nesse tecido em relação tratamento controle (Figura 5). Esse comportamento distinto dos metais testados na pesquisa deve-se a forma de absorção e



interferência de cada elemento na inibição da atividade proteica. O percentual de aumento foi de 19,7% para o tratamento com Cd e 24,4% para o tratamento com Pb, e esse padrão proporcionou diferenças estatísticas entre os tratamentos com metais pesados e o controle (Figura 5).

O caule e as raízes das mudas de jatobá apresentaram valores médios semelhantes no teor de proteínas tanto nos tratamentos com os metais pesados quanto no controle. Na análise caulinar, as plantas do tratamento com Cd e Cu exibiram a maior e menor média 197,8  $\mu\text{mol/g}$  e 175  $\mu\text{mol/g}$ , respectivamente, não sendo possível notar diferenças significativas entre os tratamentos. No sistema radicular houve uma redução da concentração de proteína em todos os tratamentos com os metais pesados, com 13,47% para o Cu, 8,61% para o Cd e 16,03% para o Pb em relação ao controle (Figura 5).

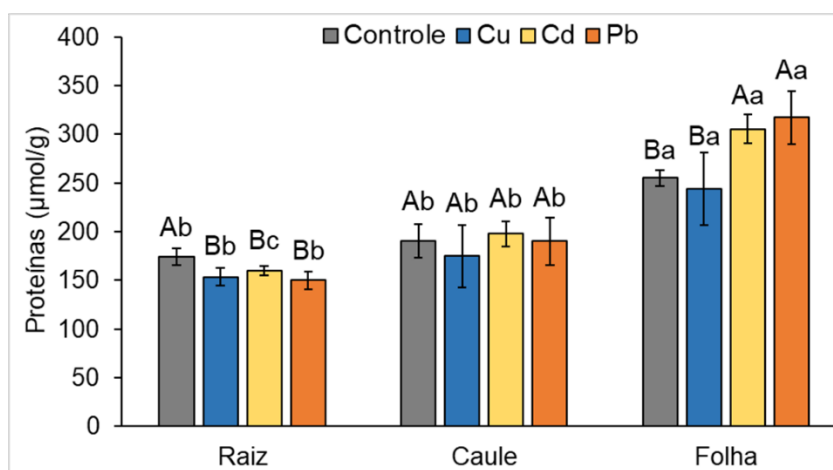


Figura 5. Concentração de proteínas ( $\mu\text{mol/g}$ ) em plantas jovens de *Hymenaea courbaril* submetidas a tratamentos com metais pesados. Letras maiúsculas distintas indicam valores significativamente diferentes entre tratamentos com metais pesados; letras minúsculas distintas indicam valores significativamente diferentes entre tecidos vegetais no tratamento com o mesmo metal pesado pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Média  $\pm$  desvio padrão,  $n = 5$ .

### 3.3 Aminoácidos

Para os teores de aminoácidos, a concentração foi maior em todos os tecidos no tratamento sem a presença de metais, exceto para o Pb que foi igual estatisticamente (Figura 6). Nas folhas, as plantas do tratamento com Cu e Cd apresentaram as menores concentrações com 53,8  $\mu\text{mol/g}$  e 77,5  $\mu\text{mol/g}$ , respectivamente. Esse comportamento representou redução de 91,5% e 33,1% quando comparado ao controle, indicando um efeito mais intenso dos metais cobre e cádmio sobre o metabolismo do nitrogênio em nível foliar.

Quanto ao caule observou-se o mesmo padrão de concentração encontrado nas folhas. A presença dos metais afetou negativamente o teor de aminoácidos, de forma que houve redução de 54,7% para o Cu, 26,9% para o Cd e 24,7% para o Pb em relação ao tratamento controle (Figura 6).

Na análise das raízes das mudas de *H. courbaril*, os valores médios dos teores de aminoácidos encontrados foram menores quando comparados aos teores dos demais tecidos analisados (caule e folha). Entretanto, notou-se que a presença dos metais pesados não reduziu significativamente o teor de aminoácidos nas raízes. Os indivíduos que estavam nos tratamentos com Cd e Pb apresentaram redução de 8,6% e 11,4% quando comparados ao controle (Figura 6).

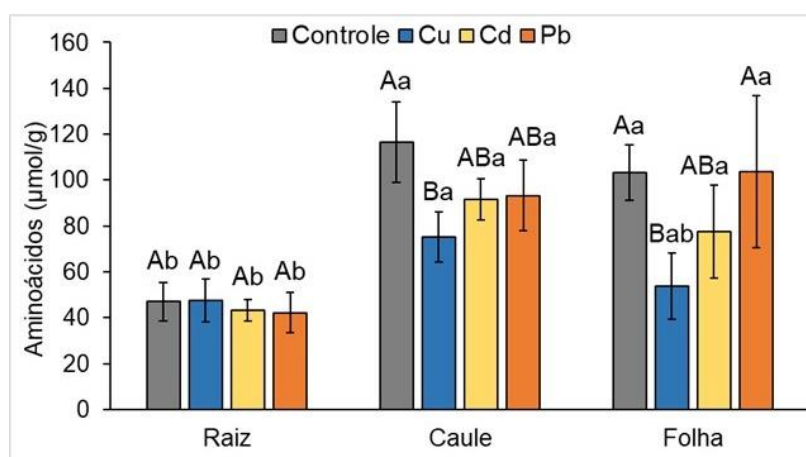


Figura 6. Concentração de aminoácidos ( $\mu\text{mol/g}$ ) em plantas jovens de *Hymenaea courbaril* submetidas a tratamentos com metais pesados. Letras maiúsculas distintas indicam valores significativamente diferentes entre tratamentos com metais pesados; letras minúsculas distintas indicam valores significativamente diferentes entre tecidos vegetais no tratamento com o mesmo metal pesado pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Média  $\pm$  desvio padrão,  $n = 5$ .

### 3.5 Prolina

A maior concentração de prolina foi observada nas folhas de *H. courbaril* quando comparada ao caule e raiz, destacando o tratamento com Cu que apresentou a maior média em todos os tecidos analisados (Figura 7).

Na análise foliar, as plantas do tratamento com a presença de Cu apresentaram teor de prolina ( $6,8 \mu\text{mol/g}$ ) cerca de quatro vezes maior quando comparado as plantas do tratamento controle ( $1,5 \mu\text{mol/g}$ ). No caule, a maior concentração desse iminoácido foi nas plantas submetidas ao tratamento com Cu ( $1,7 \mu\text{mol/g}$ ) e a menor foi no tratamento

com Cd (0,6  $\mu\text{mol/g}$ ). As raízes obtiveram o mesmo padrão de concentração de prolina que o caule, com as plantas do tratamento com Cu apresentando o maior teor do aminoácido (2,6  $\mu\text{mol/g}$ ) e a menor concentração foi observada no controle (1,3  $\mu\text{mol/g}$ ) (Figura 7). No entanto, também foi observado que os valores referentes aos teores de prolina foram invertidos entre raiz e caule quando as plantas foram submetidas às presenças de Cd e de Pb. Sendo que na raiz o Cd induziu maior teor de prolina e no caule o Pb proporcionou maior teor deste iminoácido.

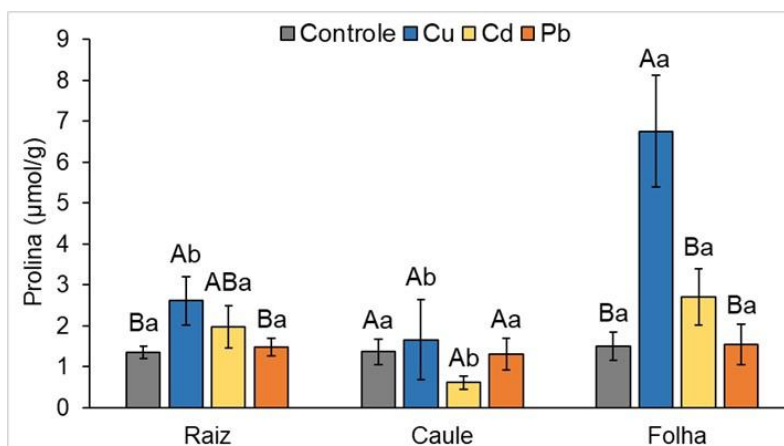


Figura 7. Concentração de prolina ( $\mu\text{mol/g}$ ) em raiz, caule e folha de *Hymenaea courbaril* submetida a tratamento com diferentes metais pesados. Letras maiúsculas distintas indicam valores significativamente diferentes entre tratamentos com metais pesados; letras minúsculas indicam valores significativamente diferentes entre tecidos vegetais no tratamento com o mesmo pesado pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Média  $\pm$  desvio padrão,  $n = 5$ .

#### 4 DISCUSSÃO

Os tratamentos com os metais pesados e resposta de *H. courbaril* quanto à capacidade fotossintética permitiu destacar os indivíduos do tratamento com Cu e aqueles sob tratamento com Cd que apresentaram a menor e maior taxa de fotossíntese, respectivamente, quando comparado ao tratamento controle. A redução na taxa fotossintética dos indivíduos do tratamento com Cu pode ser relacionada com a baixa condutância estomática das plantas desse tratamento e com a consequente redução de entrada de  $\text{CO}_2$  e taxa de transpiração. Altas concentrações de cobre causam modificações no conteúdo do cloroplasto, na membrana do tilacóide e desestruturam proteínas, como a plastocianina, que participa do fluxo de transporte de elétrons entre o PSII e o PSI, na fase bioquímica, o que pode justificar a redução da fotossíntese dos indivíduos desse tratamento (Gonzalez-Mendoza et al., 2013; DalCorso et al., 2014; Adrees et al., 2015).

Em estudo sobre as respostas fotossintéticas de *H. courbaril* submetida a dosagens de cobre, foi observado que altas concentrações (200 mg.kg) desse elemento aos 100 dias promoveram a maior taxa de fotossíntese, condutância estomática e eficiência da carboxilação (Marques et al., 2018). Neste experimento foi possível observar que mesmo em concentrações consideradas tóxicas, o aparato fotossintético dos indivíduos de *Hymenaea courbaril* nesse tratamento, aparentemente, se ajustou a presença do metal e apresentou melhor desempenho. O conjunto desses resultados pode indicar uma tolerância de *H. courbaril* a dosagem de cobre testada, podendo recomendar a espécie *H. courbaril* para integrar o rol de espécie com potencial para programas de fitorremediação com esse metal.

O cádmio também causou a inibição da atividade fotossintética ao reduzir a condutância estomática dos indivíduos de *H. courbaril*. Em geral, a toxicidade do Cd altera o tamanho das células, a densidade dos estômatos presentes na epiderme foliar e influencia a divisão celular e a síntese de clorofila que afetam a fotossíntese (Abbas et al., 2017). Além disso, esse elemento também afeta os fotossistemas I e II e o complexo para a captação de luz (Hasan et al., 2009; Shu et al., 2012). Neste trabalho, as plantas de *H. courbaril* parecem ser mais sensíveis ao cádmio na etapa de assimilação de carbono do que de captura de energia, uma vez que as trocas gasosas foram afetadas e a síntese de pigmentos cloroplastídicos não apresentou diferença quando comparada com o controle.

Os resultados demonstram que além da inibição da fotossíntese, houve também a redução da condutância estomática, da concentração interna de CO<sub>2</sub> e da taxa de transpiração quando comparado ao tratamento controle. A alteração no processo fotossintético e de transpiração estão relacionadas com a atividade estomática devido essas células possuírem um importante papel na regulação na entrada de CO<sub>2</sub> no mesófilo e na perda de água (Pereira, 2013).

Nesse contexto de maior efeito do cádmio sobre *H. courbaril* estar associado mais as trocas gasosas sugere-se a possibilidade de ampliar investigações de plantas que assimilam e alocam mais carbono diante do estresse ocasionado por variações edafoclimáticas relacionados ao estresse hídrico e não necessariamente lumínico, devido ao menor efeito do Cd sobre pigmentos absorvedores de luz das mudas de *H. courbaril*. As plantas dispõem de diferentes mecanismos em resposta aos metais pesados, principalmente, no que diz respeito à fotossíntese, que pode resultar em diversos efeitos tóxicos incluindo os danos fotooxidativos (Giannakoula et al., 2021). Dessa forma, com

o aprofundamento dos estudos relacionados a sobreposição de estresses pode-se compreender a capacidade de respostas e ajustes de *H. courbaril* frente às alterações provocadas pelo cádmio, cobre e chumbo na sua morfofisiologia, buscando-se indicadores da toxicidade causada por esses elementos tóxicos.

A presença do chumbo também impactou negativamente as trocas gasosas de *H. courbaril* como foi possível observar na redução dos parâmetros analisados. A toxicidade causada pelos íons de Pb provocou redução na taxa de fotossíntese em função da redução da condutância dos estômatos, assim como ocorreu nos outros tratamentos com Cu e Cd. Além disso, a diminuição na síntese de clorofila, carotenoides, obstrução da cadeia de transporte de elétrons também são resultados relacionados a toxicidade de Pb (Khan et al., 2015). Mas, estes resultados associados a captura de energia não foram afetados pelo Pb em plantas jovens de *H. courbaril*, a semelhança do que foi descrito acima para o Cd.

A transpiração também apresentou padrões de redução parecidos com a fotossíntese e a condutância estomática nos tratamentos com Cu, Cd e Pb. Os tratamentos com metais pesados alteram a abertura dos estômatos, promovendo a diminuição da condutância quando comparados com o tratamento controle. Provavelmente, este fato seja devido ao aumento no potencial osmótico das folhas. Os resultados aqui apresentados corroboram com o estudo da resposta fisiológica de *Eucalyptus camaldulensis* em dosagens de Cd, que observaram redução na taxa de transpiração devido os efeitos desse metal nos estômatos e na menor produção de matéria seca (Barceló e Poschenreider, 1990; Marques et al., 2011).

A presença dos metais pesados influenciou o parâmetro de eficiência no uso da água nas plantas jovens de *H. courbaril*. Este conceito relaciona a efetividade da espécie em assimilar CO<sub>2</sub> enquanto ocorre menor transpiração (Zhao, 2004). Os maiores valores de EUA e EUAi nos indivíduos do tratamento com Cu, indicando que a presença desse elemento causou ajustes nos processos relacionados às trocas gasosas e pode também ser atribuída a, proporcionalmente, mais baixa taxa de transpiração das plantas nesse tratamento (Figura 1).

No presente estudo, as variáveis relacionadas ao conteúdo clorofilas *a* e *b* apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos corroborando com a afirmação de que a degradação da clorofila ocorre devido o cloroplasto ser o sítio primário dos metais pesados nas folhas (Sewelam et al., 2016). Os pigmentos fotossintéticos são

altamente sensíveis à estresses ambientais, o que interfere na captação e utilização de energia na fotossíntese e na proteção dos fotossistemas I e II (Zhang et al., 2016).

As plantas do tratamento com Cu apresentaram as menores concentrações de clorofila *a* e *b*, indicando que *H. courbaril* é sensível a presença desse elemento na concentração testada. A redução no teor de clorofila na presença de Cu, quase sempre tem sido atribuída a substituição do  $Mg^{+2}$  na molécula de clorofila, e assim, pode afetar a capacidade fotossintética das plantas, sendo considerada uma variável importante para analisar a produção de biomassa vegetal e um indicador do estresse causado por metais pesados (Huang et al., 2015; Taiz et al., 2017). Estudos também indicam que a redução nos teores de clorofila está associada a diminuição dos níveis de ferro e fósforo nas folhas, que é prejudicada na presença de cobre (Ambrosini et al., 2017).

Para o Cd, a redução do teor de clorofilas não foi estatisticamente significativa quando comparado ao tratamento controle. Os resultados diferiram de pesquisas com espécies arbóreas como *Cedrela alata* e *Virola surinamensis* que apresentaram redução no conteúdo de clorofila quando submetidas a concentrações de 22  $\mu M$  e 15  $mg L^{-1}$  de Cd, respectivamente (Silva et al., 2017; Andrade Junior et al., 2019). Dessa forma, o comportamento de *H. courbaril* nesse tratamento com Cd (10  $\mu M$ ) indica que a espécie é capaz de tolerar a concentração estudada desse elemento sem causar efeitos adversos no sistema fotossintético.

Com relação ao Pb, os indivíduos de *H. courbaril* apresentaram os maiores teores de clorofila *a* e *b*, contrariando estudos de espécies submetidas a esse metal que apontam maiores efeitos o Pb na redução do conteúdo de clorofila *b* (Nas e Ali, 2018; Petrovic e Krivokapic, 2020). O chumbo assim como o Cu e o Cd inibem a síntese de clorofila ao interferir na absorção de elementos essenciais a exemplo do Fe e do Mg, além de substituir elementos importantes para as vias metabólicas pelo metal (Burzynski, 1987; Fu e Wang, 2015). Quando acumulado nas raízes, esse comportamento representa um mecanismo utilizado para reduzir o impacto da toxicidade do Pb nas folhas e, em particular, sobre pigmentos absorvedores de luz, havendo compartimentalização do Pb nas raízes, limitando a translocação total para a parte aérea (Frachia et al., 2022).

O comportamento dos carotenoides foi o mesmo apresentado pelas clorofilas em todos os tratamentos, sendo que a maior inibição ocorreu nas plantas na presença de Cu. A partir disso, foi possível notar que a redução desse conteúdo sugere que as folhas de *H.*

*courbaril* são mais sensíveis à toxicidade causada pelo cobre quando comparado ao Cd e Pb. Limitações na síntese de carotenóides remete ao papel crítico destes pigmentos na captura de energia e na efetividade dos fotossistemas (Cazzaniga et al., 2012).

Os estudos com Pb e Cd relatam que esses elementos tendem a inibir a produção dos pigmentos fotossintéticos em concentrações de 100 a 400  $\mu\text{mol}$  (He et al., 2018; Ozyigit et al., 2016). Sendo assim, aumento na síntese dos carotenoides nas plantas expostas aos metais pesados (Cd e Pb) sugere que os carotenoides em conjunto com outras vias antioxidantes têm a capacidade de atenuar a toxicidade desses elementos no metabolismo dos indivíduos (Davies et al., 2018).

Os carboidratos não estruturais (glicose, frutose, sacarose e amido) desempenham um papel importante na estrutura e no metabolismo das plantas, pois estão envolvidos em variados processos de crescimento, fotossintéticos e de demanda de energia assim como uma resposta frente a ambientes com estresses bióticos e abióticos (Hartmann e Trumbore, 2016).

Diante disso, o aumento na concentração de açúcares solúveis nas folhas e caule de *H. courbaril* expostas a presença de Cu, Cd e Pb é justificada pelo fato desses carboidratos atuarem como regular osmótico, ajudando na manutenção do estado hídrico da planta (Singh et al., 2016). Além disso, o alto acúmulo de açúcares redutores nas folhas deve-se a importância na respiração celular e no metabolismo da fotossíntese (Salisbury; Ross, 1992). Entretanto a baixa concentração de açúcares redutores nas raízes de *H. courbaril* nos tratamentos com os metais pode ser explicado pelo efeito inibitório do Cd, Pb e Cu no crescimento e desenvolvimento desse órgão, que limita a translocação desses elementos para a parte aérea (Ferreira, 2013). Esse comportamento indica que os metais podem ter afetado o sistema de transporte de assimilados de *H. courbaril* e a respiração celular radicular, sendo essas alterações no metabolismo dos carboidratos uma resposta das plantas ao estresse causado pelos metais pesados (Wang et al., 2012; Shah et al., 2017).

A alta concentração de sacarose nas raízes de *H. courbaril* no tratamento com Cd está relacionada com a redução do metabolismo desse carboidrato no local de síntese (folhas), sendo exportado em maior quantidade para as raízes e convertidos em outros açúcares (Badr, 2015). Metais pesados como os utilizados no estudo interferem na atividade enzimática da fosfoglicomutase que alteram a concentração de carboidratos e

sugerem que o metabolismo da planta pode regular diferentes enzimas para suprir a produção energética (Wang et al., 2012; Singh et al., 2016; Anand et al., 2017). O aumento do teor desse dissacarídeo em *H. courbaril* exposto aos metais pesados pode ser explicado pela inibição da invertase, que interfere no metabolismo do carbono e nitrogênio (Martins et al., 2016). Além disso, os efeitos negativos da sacarose atingem a atividade e quantidade da enzima Rubisco afetando também os processos fotossintéticos (Badr et al., 2015).

O aumento nos teores de sacarose na presença do Cu, principalmente, pode ser explicado devido a conversão de outros carboidratos nesse açúcar, indicando também um bom estado regulatório da planta ao estresse causado por esse elemento (Kapoor et al., 2016). Em pesquisa com *Virola surinamensis* na presença de 15 mg.L<sup>-1</sup> de Cd foi possível observar o aumento no acúmulo de sacarose tanto nas folhas quanto na raízes dos indivíduos ao contribuir na manutenção do status hídrico da planta, sendo considerado um mecanismo de tolerância da espécie ao metal pesado (Andrade Junior et al., 2021).

A diminuição de amido, principalmente, nas folhas está relacionada com a redução da taxa fotossintética e da condutância estomática, uma vez que a entrada de CO<sub>2</sub> é limitada, sendo este o principal constituinte para a síntese de amido que ocorre no cloroplasto (Nogueira, 2015). Sendo assim, as maiores taxas de fotossíntese das plantas refletem na maior síntese e acúmulo de amido no tecido foliar (Martínez-Vilalta et al., 2016). Os resultados encontrados no presente estudo foram superiores aos avaliados por Sousa et al. (2019) em plantas jovens de *Khaya ivorensis* submetidas a doses de cádmio, que observaram valores na ordem de 0,51 para o amido.

Nos que se refere ao metabolismo proteico nas plantas de *H. courbaril* submetido aos tratamentos com os metais pesados Cu, Cd e Pb, verificou-se que os maiores conteúdos de proteínas foram encontrados nas folhas dos indivíduos de *H. courbaril* nos tratamentos com metais pesados, com a seguinte ordem: Pb > Cd > Cu sendo superiores ao conteúdo de proteína encontrado em folhas de *Virola surinamensis* submetida ao Cd (Andrade Junior et al., 2021). Os resultados sugerem que potenciais alterações ambientais, como a contaminação por metais pesados, as plantas de *H. courbaril* podem superar, ao menos parcialmente, o dano a proteínas importantes no metabolismo, devido a capacidade de sintetizar novas proteínas que desempenham função de detectar e sinalizar, por exemplo, as espécies reativas de oxigênio que causam danos às próprias moléculas de proteínas e prejudicam o crescimento da planta (Hasanuzzaman



et al., 2019). Nas folhas, por ser o órgão de maior atividade metabólica e sítio primário de ação dos metais pesados, ocorrem modificações e/ou degradações protéicas e expressão gênica devido a toxicidade desses elementos ao entrar nas vias metabólicas determinantes do metabolismo celular (Jócsák et al., 2022). Kabir et al. (2016) investigaram a expressão de genes relacionados ao estresse induzido por Cd, atividade enzimática e os níveis de metabólitos em alfafa, este estudo revelou que 1 mM de Cd reduziu o nível de proteínas solúveis totais e aumentou o vazamento de eletrólitos, atividade de quelato de redutases do ferro e os níveis totais de fitoquelatina, citrato e malato em raízes e brotos de plântulas de alfafa com 7 dias de idade, confirmando as alterações não somente nas proteínas, mas também no metabolismo celular como um todo. Devido ao estresse por Cd, a atividade enzimática de catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX) e superóxido dismutase (SOD) nas raízes de alfafa tolerante diminuiu significativamente em linhas intolerantes, enquanto o teor de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> aumentou como sinal de estresse oxidativo.

Na análise radicular notou-se que a presença dos metais reduziu o teor de aminoácidos quando comparado ao caule e a folha. Na presença do Cu, os indivíduos apresentaram redução no teor de aminoácidos, o que pode ser justificado pela função que esse elemento possui no metabolismo do nitrogênio e na síntese de proteínas (Kumar et al., 2019). Os aminoácidos são substâncias de baixo peso molecular e conhecidos também como solutos compatíveis que possuem a função de sinalizadores de inúmeros processos do metabolismo da planta relacionados ao crescimento e adaptação às condições de estresse, a exemplo dos metais pesados (Hasanuzzaman et al., 2019).

No presente estudo, os maiores valores de prolina foram encontrados no tratamento com cobre em todos os órgãos vegetais indicando a tolerância de *H. courbaril*, o que corrobora com pesquisas que apontam a maior eficácia do Cu na indução do acúmulo de prolina quando comparado ao Cd e ao Pb (Schat et al., 1997). O maior teor de prolina na parte aérea indica que a espécie é uma boa acumuladora de prolina sob estresse, pois atua como um estabilizador das proteínas e quelante dos metais ao reduzir a toxicidade (Sharma e Dubey, 2005). Também indicam uma relação positiva entre o acúmulo de prolina e a tolerância da planta à estresses abióticos (Aslam et al. 2017; Konotop et al., 2017). Com relação ao iminoácido, a prolina é um dos mais sensíveis em condições de estresse, sendo um indicador da toxicidade causada por metais pesados, além de induzir a formação de fitoquelatinas que atuam na redução da toxicidade desses

elementos (Aslam et al., 2017; Hayat et al., 2012). Ademais, é um relevante constituinte do sistema de defesa antioxidante não enzimático das plantas e entre os grupos de aminoácidos é encontrada em altas concentrações (Konotop et al., 2017; Sharma e Dietz, 2006). O aumento na concentração desse aminoácido está relacionado a manutenção e eficiência do ajuste osmótico de plantas quando submetidas a estresse abiótico (Marijuan e Bosch, 2013; Yaish, 2015). O acúmulo de prolina nas células das plantas em condições de estresse por metais pesados pode ser utilizado como fonte de energia para o reestabelecimento das atividades fisiológicas da planta (Nascimento, 2017).

## 5 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos pode-se concluir que a espécie *Hymenaea courbaril* tem capacidade para tolerar Cd e Pb devido ao bom desempenho fisiológico e a capacidade de produção de metabólitos essenciais para o crescimento e desenvolvimento tanto na parte aérea quanto na raiz. Mas na presença do cobre, a espécie apresentou sintomas de toxicidade que resultaram na redução dos parâmetros fisiológicos da fotossíntese, assim como no metabolismo do carbono e do nitrogênio. Mesmo assim, a espécie possui potencial e pode ser indicada com candidata a compor lista de espécies aptas a participar de programas de fitorremediação.

## REFERÊNCIAS

- Abbas, T.; Rizwan, M.; Ali, S.; Adrees, M.; Zia-ur-Rehman, M.; Qayyum, M. F.; Ok, Y. S.; Murtaza, G. 2017. Effect of biochar on alleviation of cadmium toxicity in wheat (*Triticum aestivum* L.) grown on Cd-contaminated saline soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 25: 25668–25680.
- Adrees, M., Ali, S.; Rizwan, M.; Ibrahim, M.; Abbas, F.; Farid, M.; Zia-ur-Rehman, M.; Irshad, M. K.; Bharwana, S. A. 2015. The effect of excess copper on growth and physiology of important food crops: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 8148-8162.
- Afzal, M.; Khan, Q. M.; Sessitsch, A. 2014. Endophytic bacteria: Prospects and applications for the phytoremediation of organic pollutants. *Chemosphere*, 117: 232-242
- Ali, H. Khan, E.; Ilahi, I. 2019. Environmental Chemistry and Ecotoxicology of Hazardous Heavy Metals: Environmental Persistence, Toxicity, and Bioaccumulation. *Journal of Chemistry*, 2019, 14p.

Alvino, P. O.; Silva, M. F. F.; Rayol, B. P. 2005. Potencial de uso das espécies arbóreas de uma floresta secundária, na zona Bragantina, Pará, Brasil. *Acta Amazônica*, 35(4): 413-420.

Ambrosini, V. G.; Rosa, D J.; Basso, A.; Borghezan, M.; Pescador, R.; Miotto, A.; Bastos de Melo, G. W.; Soares, C. R. F. S.; Comin, J. J.; Brunetto, G. 2017. Liming as an ameliorator of copper toxicity in black oat (*Avena strigosa* Schreb.), *Journal of Plant Nutrition*, 40(3): 404-416.

Anand, M.; Kumar, B.; Sheel, R. 2017. Effect of heavy metals on biochemical profile of *Azolla filiculoides*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(10):3629–53

Andrade Júnior, W. V.; C. F. Oliveira Neto, C. F.; Santos Filho, B. G.; E. D. Cruz, E. D.; Amarante, C. B.; Vinícius, S. F.; Nogueira, G. A. S.; Nascimento, V. R.; Sousa, D. J. P.; Teixeira, J. S. S. 2021. Biochemical metabolism of young plants of Ucuúba (*Virola surinamensis*) in the presence of cadmium. *BMC Plant Biology*, 21:151.

Aslam, M.; Saeed, M. S.; Sattar, S.; Sajad, S.; Sajjad, M.; Adnan, M.; Iqbal, M.; Sharif, M. T. 2017. Specific role of proline against heavy metals toxicity in plants. *International Journal of Pure and Applied Bioscience*, 5: 27–34.

Barceló, J.; Poschenrieder, C. 1990. Plant water relations as affected by heavy metal stress: A review. *Journal of Plant Nutrition*, 13(1): p.1-37.

Badr, A.; Angers, P.; Desjardins, Y. 2015. Comprehensive analysis of in vitro to ex vitro transition of tissue cultured potato plantlets grown with or without sucrose using metabolic profiling technique. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 122: 491-508.

Bazihizina, N.; Taiti, C.; Marti, L.; Rodrigo-Moreno, A.; Spinelli, F.; Giordano, C.; Caparrotta, S.; Gori, M.; Azzarello, E.; Mancuso, S. 2014. Zn<sup>2+</sup>-induced changes at the root level account for the increased tolerance of acclimated tobacco plants. *Journal of Experimental Botany*, 65:4931–4942.

Bidabadi, S. S.; Abolghasemi, R.; Zheng, S. J. 2018. Grafting of watermelon (*Citrullus lanatus* cv. Mahbubi) onto different squash rootstocks as a means to minimize cadmium toxicity. *International Journey of Phytoremediation*, 20(7): 730–738.

Bradford, M. M. 1976. *Analytical Biochemistry*, 12: 248-254.

- Burzynski, M. 1987. The influence of lead and cadmium on the absorption and distribution of potassium, calcium, magnesium and iron in cucumber seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 9: 229–239.
- Cameselle, C.; Gouveia, S.; Urréjola, S. 2019. Benefits of phytoremediation amended with DC electric field. Application to soils contaminated with heavy metals. *Chemosphere*, 229: 481–488.
- Carillo, P.; Gibon, Y. 2011. Protocol: Extraction and determination of proline. *Prometheus Wiki Contributors*.
- Cazzaniga, S.; Li, Z.; Niyogi, K. K.; Bassi, R.; Dall’Osto, L. 2012. The Arabidopsis *szl1* mutant reveals a critical role of b-carotene in photosystem I photoprotection. *Plant Physiology*, 159:1745–1758.
- Dubey, S.; Shri, M.; Gupta, A.; Rani, V.; Chakrabarty, D. 2018. Toxicity and detoxification of heavy metals during plant growth and metabolism. *Environmental Chemistry Letters*, 16: 1169–1192.
- Fernie, A. R.; Roscher, A.; Ratcliffe, R. G.; Kruger, N. J. 2001. Fructose 2,6-bisphosphate activates pyrophosphate: fructose-6-phosphate 1-phosphotransferase and increases triose phosphate cycling in heterotrophic cells. *Planta*, 212: 250-263.
- Ferreira, M. J.; Carvalho, J. F. C.; Silva, J. B. F. 2012. Crescimento e eficiência do uso da água de plantas jovens de Castanheira-da-Amazônia em área degradada e submetidas à adubação. *Ciência Florestal*, 22(2): 393-401.
- Giannakoula, A.; Therios, I.; Chatzissavvidis, C. 2021. Effect of lead and copper on photosynthetic apparatus in Citrus (*Citrus aurantium* L.) plants. The role of antioxidants in oxidative damage as a response to heavy metal stress. *Plants*, 10, 155.
- Gong, Q.; Wang, L.; Dai, T.; Zhou, J.; Kang, Q.; Chen, H.; Li, K.; Li, Z. 2019. Effects of copper on the growth, antioxidant enzymes and photosynthesis of spinach seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 171: 771-780.
- Hartmann, H.; Trumbore, S. 2016. Understanding the roles of nonstructural carbohydrates in forest trees – from what we can measure to what we want to know. *New Phytologist*, 211: 386- 403.

- Hasan, S. AM.; Fariduddin, Q.; Ali, B.; Hayat, S.; Ahmad, A. 2009. Cadmium: Toxicity and tolerance in plants. *Journal of Environmental Biology*, 30(2): 165-174.
- Hasanuzzaman, M., Alhathloul, H. A. S., Parvin, K., Bhuyan, M. H. M., Tanveer, M., Mohsin, S. M., et al. 2019. Polyamine action under metal/metalloid stress: regulation of biosynthesis, metabolism, and molecular interactions. *International Journal of Molecular Sciences*. 20:3215.
- Hayat, S.; Hayat, Q.; Alyemeni, M. N.; Wani, A. S.; Pichtel, J.; Ahmad, A. 2012. Role of proline under changing environments. *Plant Signaling & Behavior*, 7: 1–11.
- He, B.; Gu, M.; Wang, X.; He, X. 2018. The effects of lead on photosynthetic performance of waxberry seedlings (*Myrica rubra*). *Photosynthetica*, 56(4): 1147-1153.
- Hoagland, D. R.; Arnon, D. I. 1950. The Water-culture Method for Growing Plants without Soil. Californian Agricultural Experimental Station. Circular No. 347; University of California: Berkeley, CA, USA.
- Hussain, B.; Ashraf, M. N.; Shafeeq-ur-Rahman, A.; Li, J.; Farooq, M. 2021. Cadmium stress in paddy fields: Effects of soil conditions and remediation strategies. *Science of the Total Environment*, 754: 142188.
- Iqbal, R. M.; Rao, A. R.; Rasul, E.; Wahid, A. 1997. Mathematical models and response functions in photosynthesis: an exponential model. In: Pessaraki, M. (Ed.). *Handbook of photosynthesis* Marcel Dekker Inc., New York, p.803-810.
- Jamla, M.; Khare, T.; Joshi, S.; Patil, S.; Penna, S.; Kumar, V. 2021. Omics approaches for understanding heavy metal responses and tolerance in plants. *Current Plant Biology*, 27: 100213.
- Jócsák, I.; Knolmayer, B.; Szarvas, M.; Rabnecz, G.; Pál-Fám, F. 2022. Literature Review on the Effects of Heavy Metal Stress and Alleviating Possibilities through Exogenously Applied Agents in Alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plants*, 11, 2161.
- Kabir, A. H.; Hossain, M. M.; Khatun, M. A.; Mandal, A.; Haider, S. A. 2016. Role of Silicon Counteracting Cadmium Toxicity in Alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Frontiers in Plant Science*, 7: 1117.

- Kapoor, D.; Rattan, A.; Bhardwaj, R.; Kaur, S. 2016. Photosynthetic efficiency, ion analysis and carbohydrate metabolism in *Brassica juncea* plants under cadmium stress. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 5(3): 279–86.
- Khan, A.; Khan, S.; Khan, M. A.; Qamar, Z.; Waqas, M. 2015. The uptake and bioaccumulation of heavy metals by food plants, their effects on plants nutrients, and associated health risk: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(18): 13772-13799.
- Konotop, Y.; Kovalenko, M.; Matusikova, I.; Batsmanova, L.; Taran, N. 2017. Proline application triggers temporal redox imbalance, but alleviates cadmium stress in wheat seedlings. *Pakistan Journal of Botany*, 49: 2145–2151.
- Koppen, W. 1948. *Climatologia: con un estudio de los climas de la tierra*. México: Fondo de Cultura Economica, 478p.
- Kumar, V.; Sharma, A.; Kohli, S. K.; Yadav, P.; Bali, S.; Bakshi, P.; Parihar, R. D.; Yuan, H.; Yan, D.; He, Y.; Wang, J.; Yang, Y.; Bhardwaj, R.; Thukral, A. K.; Zheng, B. 2019. Amino acids distribution in economical important plants: a review. *Biotechnolgy Research and Innovation*, 3:2, 197-207.
- Kumar, V., Pandita, S., Sidhu, G. P. S., Sharma, A., Khanna, K., Kaur, P., et al. 2021. Copper bioavailability, uptake, toxicity and tolerance in plants: a comprehensive review. *Chemosphere*, 262: 127810.
- Kushwaha, A; Hans, N.; Kumar, S.; Rani, R. 2018. A critical review on speciation, mobilization and toxicity of lead in soil-microbe-plant system and bioremediation strategies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 147: 1035–1045.
- Lefèvre, I.; Vogel-Mikus, K.; Jeromel, L.; Vavpetic, P.; Planchon, S.; Arçon, I.; Elteren, J.T.V.; Lepoint, G.; Gobert, S.; Renaut, J.; Pelicon, P.; Lutts, S. 2014. Differential cadmium and zinc distribution in relation to their physiological impact in the leaves of the accumulating *Zygophyllum fabago* L. *Plant, Cell and Environment*, 37(6): 1299-1320.
- Lichtenthaler, H. K.; Wellburn, A. R. 1983. Determination of Total Carotenoids and Chlorophyll a and b of Leaf Extracts in Different Solvents. *Biochemical Society Transactions*, 603, 591-603.

- Lisec, J.; Schauer, N.; Kopka, J.; Willmitzer, L.; Fernie, A. R. 2006. Gas chromatography mass spectrometry-based metabolite profiling in plants. *Nature Protocols*, 1: 387-396.
- Ma, C. C.; Gao, Y. B.; Guo, H. Y.; Wang, J. L. 2004. Photosynthesis, transpiration and water use efficiency of *Caragana microphylla*, *C. intermedia* and *C. korshinskii*. *Photosynthetica*, 42 (1): 65-70.
- Marijuan, M. P.; Bosch, S. M. 2013. Ecophysiology of invasive plants: osmotic adjustment and antioxidants. *Trends in Plant Science*, 18: 660-666.
- Martins, J. P. R.; Martins, A. D.; Pires, M. F.; Braga, R. A. J.; Reis, R. O.; Dias, G. M. G.; Pasqual, M. 2016. Anatomical and physiological responses of *Billbergia zebrina* (Bromeliaceae) to copper excess in a controlled 53 microenvironment. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 126: 43-57.
- Marques, T. C. L. L. de S de M.; Soares, A. M.; Gomes, M. P.; Martins, G. 2011. Respostas fisiológicas e anatômicas de plantas jovens de eucalipto expostas ao cádmio. *Revista Árvore [online]*, 35(5): 997-1006.
- Marques, D. M., Júnior, V. V., Silva, A. B., Mantovani, J. R., Magalhães, P. C., Souza, T. C. 2018. Copper toxicity on photosynthetic responses and root morphology of *Hymenaea courbaril* L. (Caesalpinioideae). *Water, Air & Soil Pollution*, 229: 138.
- Nascimento, H. H. C.; Pacheco, C. M.; Lima, D. R. M. de; Silva, E. C.; Nogueira, R. J. M. C. 2014. Ecophysiological aspects of *Hymenaea courbaril* L. seedlings in response to N, P, K suppression. *Scientia Forestalis*, 42(103): 315-328.
- Ozyigit, I. I.; Dogan, I.; Igdelioglu, S.; Filiz, E.; Karadeniz, S.; Uzunova, Z. 2016. Screening of damage induced by lead (Pb) in rye (*Secale cereale* L.) - a genetic and physiological approach. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 30 (3): 1-8.
- Pereira, A. C. C. 2013. *Parkia gigantocarpa* Ducke (Fabaceae-Mimosoideae) sob deficiência hídrica no solo: respostas fisiológicas, bioquímicas e de crescimento. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Rural Da Amazônia. 105p.
- Petrovic, D.; Krivokapic, S. 2020. The Effect of Cu, Zn, Cd, and Pb accumulation on biochemical parameters (Proline, Chlorophyll) in the water caltrop (*Trapa natans* L.), Lake Skadar, Montenegro. *Plants*, 9, 1287.

Raza, A.; Tabassum, J.; Zahid, Z.; Charagh, S.; Bashir, S.; Barmukh, R.; Khan, R. S. A.; Barbosa Jr, F.; Zhang, C.; Chen, H. 2022. Advances in “Omics” approaches for improving toxic metals/metalloids tolerance in plants. *Frontiers in Plant Science*, 2949.

Rehman, A. U.; Bashir, F.; Ayaydin, F.; Kóta, Z.; Páli, T.; Vass, I. 2020. Proline is a quencher of singlet oxygen and superoxide both in *in vitro* systems and isolated thylakoids. *Physiologia Plantarum*, 1-12.

Rucińska-Sobkowiak, R.; Nowaczyk, G.; Krzesłowska, M.; Rabęda, I.; Jurga, S. 2013. Water status and water diffusion transport in lupine roots exposed to lead. *Environmental and Experimental Botany*, 87: 100–109.

Rucińska-Sobkowiak, R. 2016. Water relations in plants subjected to heavy metal stresses. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38: 257.

Schat, H.; Sharma, S. S.; Vooijs, R. 1997. Heavy metal induced accumulation of free proline in a metal-tolerant and a non-tolerant ecotype of *Silene vulgaris*. *Physiologia Plantarum*, 101: 477-482.

Sewelam, N.; Kazan, K.; Schenk, P. M. 2016. Global plant stress signaling: reactive oxygen species at the cross-road. *Frontiers in Plant Science*, 7: 1-21.

Singh, S.; Parihar, P.; Singh, R.; Singh, V. P.; Prasad, S. M. 2016. Heavy metal tolerance in plants: role of transcriptomics, proteomics, metabolomics, and Ionomics. *Frontiers in Plant Science*, 6:1–36.

Shah, K.; Mankad, A. U.; Reddy, M. N. 2017. Cadmium accumulation and its effects on growth and biochemical parameters in *Tagetes erecta* L. *Journal of Pharmacognosy*, 6(3):111–5.

Sharma, S. S.; Dietz, K-J. 2006. The importance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. *Journal of Experimental Botany*, 57(4): 711-726.

Sharma, P.; Dubey, R.S. 2005. Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17: 35-52.

Shawai, S. A. A.; Mukta, H. I.; Bataiya, A. G.; Abdullahi, I. I.; Shamsuddin, I. M.; Yahaya, A. S.; Suleiman, M. 2017. A Review on Heavy Metals Contamination in Water



and Soil: Effects, Sources and Phytoremediation Techniques. *International Journal of Mineral Processing and Extractive Metallurgy*, 2(2): 21-27.

Shu, X.; Yin, L.; Zhang, Q.; Wang, W. 2012. Effect of Pb toxicity on leaf growth, antioxidant enzyme activities, and photosynthesis in cuttings and seedlings of *Jatropha curcas* L. *Environmental Science and Pollution Research*, 19: 893–902.

Sousa, J. C. M. 2018. Fitorremediação de cádmio por *Khaya ivorensis* A. Chev. Modulações ecofisiológicas e bioquímicas. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Rural da Amazônia, 73f.

Taiz, L.; Zeiguer, E.; Moller, I. M.; Murphy, A. 2017. *Physiology and plant development*. 6. ed. Porto Alegre: Artmed 858.

Wang, Y.; Wang, R.; Fan, L.; Chen, T.; Bai, Y.; Yu, Q.; Liu, Y. 2017. Assessment of multiple exposure to chemical elements and risks among residents near Huodehong lead-zinc mining area Yunnan, Southwest China. *Chemosphere*, 174: 613-627.

Wang, Y.; Hu, H.; Zhu, L.Y.; Li, X. X. 2012. Response to nickel in the proteome of the metal accumulator plant *Brassica juncea*. *Journal of Plant Interactions*, 7: 230-237.

Yaish, M. W. 2015. Proline accumulation is a general response to abiotic stress in the date palm tree (*Phoenix dactylifera* L.). *Genetics and Molecular Research*, 14(3): 9943-50.

Yemm, E. W.; Cocking, E. C.; Ricketts, R. E. 1955. The determination of amino-acids with ninhydrin. *Analyst*, 80: 209-214.

Zhang, H. H.; Zhong, H. X.; Wang, J. F.; et al. 2016. Adaptive changes in chlorophyll content and photosynthetic features to low light in *Physocarpus amurensis* Maxim and *Physocarpus opulifolius* “Diabolo”. *Peer J*, 4 (3): e2125.

Zhang, Q.; Yu, R.; Fu, S.; Wu, Z.; Chen, H. Y. H.; Liu, H. 2019. Spatial heterogeneity of heavy metal contamination in soils and plants in Hefei, China. *Scientific Reports*, 9(1).

Zhao, B.; Kondo, M.; Maeda, M.; Ozaki, Y.; Zhang, J. 2004. Water-use efficiency and carbon isotope discrimination in two cultivars of upland rice during different developmental stages under three water regimes. *Plant and Soil*, 261: 61-75.

## CONCLUSÃO GERAL

De modo geral, estudar as respostas ecofisiológicas relacionadas a toxicidade de espécies arbóreas induzidas por metais pesados representa avanços no tema sobre plantios e tratos silviculturais em área contaminadas devido a urgência do tema para a elaboração de protocolos e soluções em função do aumento exponencial das áreas contaminadas em todo o mundo. Estes resultados devem subsidiar as tomadas de decisão sobre quais espécies devem compor os protocolos dos programas de descontaminação ambiental por meio da técnica de fitorremediação.

Os protocolos devem obedecer a recomendações hierárquicas que seguem diferentes etapas do ciclo de vida das plantas a serem selecionadas. Portanto, estudos sobre a germinação, o crescimento inicial e a tolerância de plantas jovens exibem grande relevância por diagnosticar possibilidades de sucesso do programa de descontaminação ambiental nos primeiros estádios de crescimento e desenvolvimento das plantas.

Neste trabalho, verificou-se que as sementes e plantas jovens de *Hymenaea courbaril* L. podem ser induzida, de forma positiva, no início do estresse. Considerando-se a possibilidade de recomendar a espécie para compor protocolos de descontaminação de áreas poluídas com cádmio e chumbo.

*Hymenaea courbaril* L. apresentou bom desempenho fisiológico na presença de cádmio e chumbo, mas o cobre induziu sintomas de toxicidade que refletiram na redução da fotossíntese e na síntese de pigmentos cloroplastídicos.

Apesar disso, recomenda-se a espécie com potencial para integrar programas de fitorremediação devido a espécie germinar e crescer relativamente bem na presença dos metais cádmio e chumbo. Não se recomendando o uso da espécie para áreas contaminadas com cobre devido a sua baixa tolerância ao metal.