

RUI TARCISO BARBOSA JUNIOR

**POTENCIAL FITORREMEIADOR DE *Paspalum densum* EM AMBIENTE COM
EXCESSO DE FERRO CONTAMINADO POR METAIS PESADOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários, para a obtenção do título de *Magister Scientiae*.

FLORESTAL
MINAS GERAIS - BRASIL
2019

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca da Universidade Federal
de Viçosa - Câmpus Florestal**

T

B238p
2019
Barbosa Junior, Rui Tarciso, 2019-
Potencial fitorremediador de *Paspalum densum* em
ambiente com excesso de ferro contaminado por metais pesados
/ Rui Tarciso Barbosa Junior. – Florestal, MG, 2019.
x, 38f : il. ; 29 cm.

Orientador: Eduardo Gusmão Pereira.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Fitorremediação. 2. Mineração. 3. Cádmió. 4. Cromo.
5. Ferro. 6. Solos-teor de metais pesados. I. Universidade Federal
de Viçosa. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Mestrado
em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários.
II. Título.

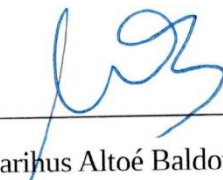
628.5

RUI TARCISO BARBOSA JUNIOR

POTENCIAL FITORREMEIADOR DE *Paspalum densus* EM AMBIENTE COM EXCESSO DE FERRO CONTAMINADO POR METAIS PESADOS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários, para a obtenção do título de *Magister Scientiae*.

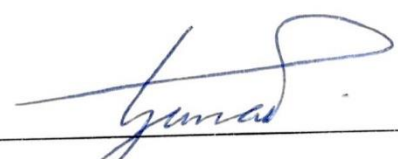
APROVADA: 31 de julho de 2019.



Marinho Altoé Baldotto



Inácio Luduvico



Eduardo Gusmão Pereira
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha Mãe, meu Pai, a Deus e a tantos outros com quem me encontrei nesta jornada vivência, nesta jornada experiência que muito me ensina e onde tenho a oportunidade de me tornar uma pessoa melhor. Agradeço aos amigos de labuta na parte prática do mestrado, Bruno, Gustavo e Tíago. Às orientações do Advânio, a Ana Elisa, aos amigos do trabalho, à amiga/irmã Shirle, por ouvir pacientemente minhas reclamações. E uma gratidão enorme pela companhia incondicional de meus amigos/irmãos de quatro patas, Diego, Max, Mila, Mafalda e Lobinha. À empresa VALE S.A. pelo aporte financeiro que permitiu a realização das análises e compra de reagentes. Já ia me esquecendo! Ao Eduardo Gusmão também, coitado, deve ter se arrependido amargamente do dia em que aceitou ser meu orientador no mestrado e para piorar as coisas, ainda é meu amigo fora da vida acadêmica. É o que eu chamo de um ultra-mega-enorme resgate cármico! rss Obrigado meu amigo. 😊

Gratidão

“Fé inabalável é somente aquela que pode encarar a razão face a face, em todas as épocas da humanidade.”

Allan Kardec

BIOGRAFIA

Rui Tarciso Barbosa Junior, nascido na cidade de Janaúba - MG, Brasil, em 13 de setembro de 1974. Filho de Marinete Cordeiro da Silva Barbosa e Rui Tarcisio Barbosa. Em dezembro de 1995, concluiu o ensino médio Técnico como Técnico em Química, pelo Centro Federal de Educação Tecnológica – CEFET – MG. Em setembro de 2013, finalizou o curso de Química – Licenciatura, pela Universidade Federal de Viçosa – UFV – *Campus Florestal* – MG. Em 2014, finalizou o curso de Especialização em Gestão Ambiental pela Universidade Cândido Mendes – UCAM, RJ . Em março de 2017, iniciou os estudos no curso de Mestrado em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários, na Universidade Federal de Viçosa – *Campus Florestal* – MG.

RESUMO

BARBOSA JUNIOR, Rui Tarciso, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2019. **Potencial fitorremediador de *Paspalum densum* em ambiente com excesso de ferro contaminado por metais pesados.** Orientador: Eduardo Gusmão Pereira. Coorientadora: Juliana Cristina Tristão.

As ações antrópicas sobre o meio ambiente têm sido cada vez mais ostensivas em termos de degradação ambiental. Conseqüentemente, a necessidade do desenvolvimento de ações mitigadoras do dano, com o uso de espécies vegetais fitorremediadoras se faz essencial na recuperação do meio ambiente. Estudos anteriores verificaram a resistência da *Paspalum densum* ao excesso de ferro (Fe) em ambientes degradados por mineração. Entretanto, são necessárias novas abordagens sobre a ação fitorremediadora desta espécie para os metais pesados Cr e Cd, comumente encontrados em ambientes com elevadas concentrações de composição química de origem férrica. O presente estudo teve por objetivo avaliar o potencial fitorremediador da gramínea *P. densum*, em relação aos metais pesados cromo (Cr) e cádmio (Cd) em meios com excesso de Fe. Inicialmente a gramínea foi cultivada em solução nutritiva de Hoagland com diferentes concentrações de Cr e Cd: 0, 5, 10, 20 e 40 mg L⁻¹. Em uma segunda fase, foram avaliadas as interações químicas entre o Cr, Cd e as concentrações de Fe (1,0 mg L⁻¹ e 391,0 mg L⁻¹) e seus efeitos sobre a capacidade fitorremediadora da *P. densum*. Foram determinados os teores dos metais Cd, Cr e Fe, via espectrofotometria de Absorção Atômica. Avaliadas a eficiência fotoquímica e determinação dos teores de malonaldeído (MDA) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂), teores dos respectivos metais além de trocas gasosas. A espécie vegetal avaliada apresentou respostas significativas em termos de absorção em relação aos metais avaliados. Foi constatado que *P. densum* apresenta maior tolerância ao Cd que em relação ao Cr, ausência de danos oxidativos em resposta ao excesso dos metais além da ação do excesso de Fe (391,0 mg L⁻¹) atenuar os efeitos tóxicos e o acúmulo de Cr e Cd na parte aérea das plantas.

ABSTRACT

BARBOSA JUNIOR, Rui Tarciso, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2019. **Phytoremediator potential of *Paspalum densum* in environment with excess of iron contaminated by heavy metals.** Adviser: Eduardo Gusmão Pereira. Co-adviser: Juliana Cristina Tristão.

Anthropogenic actions on the environment have become more and more ostensible in terms of environmental degradation, consequently the need for actions aimed at the mitigation of environmental disasters. Plant species have been studied as natural mitigating agents. The objective of the present study was to evaluate the potential of phytoremediation in *Paspalum densum* grass in comparison with heavy metals chromium (Cr) and Cadmium (Cd) in media with excess iron (Fe). Previous studies have verified the resistance of *P. densum* in excess Fe environments degraded by mining. However, there are new approaches about the phytoremediator activity in this species with the heavy metals Cr and Cd, commonly found in environments with high concentrations of chemical composition of iron origin. Initially the grass was cultivated in Hoagland nutrient solution with different concentrations of Cr and Cd: 0, 5, 10, 20 and 40 mg L⁻¹. In a second phase, they were evaluated as chemical interactions between Cr, Cd and iron concentrations Fe (1,0 mg L⁻¹ and 391,0 mg L⁻¹) and their effects about properties on the phytoremediate of *P. densum*. The contents of the metals Cd, Cr and Fe were selected by Atomic Absorption spectrophotometry. They were evaluated in their photochemistry efficiency, determination of malonaldehyde contents (MDA) and hydrogen peroxide (H₂O₂). The evaluated plant species presented significant responses in terms of absorption in relation to the evaluated metals. It was verified that *P.densum* presents a higher tolerance to Cd than Cr, absence of oxidative damages in response to excess of metals besides the action of excess Fe (391,0 mg L⁻¹) to attenuate the toxic effects and the accumulation of Cr and Cd in the aerial part of the plants.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 01:** Teores de Cr e Cd na parte aérea (A e B) e na raiz (C e D) da espécie vegetal *Paspalum densum*, submetida a diferentes concentrações desses metais em solução nutritiva por 7 dias. Os dados representam médias \pm erro padrão de cinco repetições. Letras iguais não apresentam diferença estatística significativa de acordo com teste Tukey a 5% de probabilidade. Os dados foram tratados via regressão não linear polinomial cúbica figuras (A) e (C) e regressão não linear polinomial linear (B) e (D) 25
- Figura 02:** Índices de clorofila (A e B) e eficiência quântica máxima do FSII (F_v/F_m , C e D) da espécie *Paspalum densum* em resposta às concentrações de Cr (A e C) e Cd (B e D) em solução nutritiva por 7 dias. Os dados representam os valores médios \pm erro padrão de cinco repetições. Letras iguais, indicam ausência de variabilidade estatística de acordo com teste Tukey a 5% de probabilidade. Os dados foram tratados via regressão não linear polinomial cúbica figuras (A) e (B) e regressão não linear polinomial linear (C) e (D)..... 27
- Figura 03:** Teores de peróxido de hidrogênio (H_2O_2 , A e B) e de malonaldeído (MDA, C e D), da espécie *Paspalum densum* em resposta à concentrações de Cr em solução nutritiva por 7 dias. Os dados representam as médias \pm erro padrão de cinco repetições. Letras iguais indicam ausência de variabilidade estatística de acordo com teste Tukey a 5% de probabilidade. Os dados de (A) e (B) foram tratados via regressão polinomial quadrática, em (C) e (D) foram aplicados tratamentos onde os resultados foram não significativos..... 28
- Figura 04:** Teores de peróxido (H_2O_2 , A e B) de malonaldeído (MDA, C e D) da espécie *Paspalum densum* expostas ao Cd em diferentes concentrações na solução nutritiva por 7 dias. Os dados representam as médias \pm erro padrão de cinco repetições. Letras iguais indicam ausência de variabilidade estatística de acordo com teste Tukey a 5% de probabilidade. Aos valores em (A) e (C) foram aplicados tratamentos de regressão não linear polinomial quadrática, em (B) e (D) foram aplicados tratamentos onde os resultados foram não significativos 29

Figura 05: Teores de Cr na parte aérea (A e B) e raiz (C e D) de *Paspalum densum* exposta às diferentes tratamentos em solução nutritiva com Fe 1,0 mg L⁻¹ (A e C) e Fe 391,0 mg L⁻¹ (B e D). As médias ± erro padrão de cinco repetições são representadas por barras. Letras iguais não apresentam variabilidade estatística segundo teste Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam diferentes tratamentos em um mesmo gráfico e letras maiúsculas comparam os tratamentos em distintas concentrações de Fe na mesma parte da espécie vegetal avaliada. 30

Figura 06: Teores de Cd na parte aérea (A e B) e raiz (C e D) de *Paspalum densum* exposta a diferentes tratamentos em solução nutritiva com Fe 1,0 mg L⁻¹ (A e C) e com Fe 391,0 mg L⁻¹ (B e D). As médias ± erro padrão de cinco repetições representadas por barras. Letras iguais não apresentam variabilidade estatística segundo teste Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam diferentes tratamentos em um mesmo gráfico e letras maiúsculas comparam os tratamentos em distintas concentrações de Fe e na mesma parte da espécie vegetal avaliada..... 32

Figura 07: Teores de Fe na parte aérea (A e B) e raiz (C e D) de *Paspalum densum* exposta a diferentes tratamentos em solução nutritiva com Fe 1,0 mg L⁻¹ (A e C) e com Fe 391,0 mg L⁻¹ (B e D). As médias ± erro padrão de cinco repetições representadas por barras. Letras iguais não apresentam variabilidade estatística segundo teste Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam diferentes tratamentos em mesmo gráfico e letras maiúsculas comparam os tratamentos em distintas concentrações de Fe e na mesma parte da espécie vegetal avaliada..... 33

Figura 08: Índice de Clorofila (A e B) e eficiência quântica máxima do FSII (F_v/F_m , C e D) em plantas de *Paspalum densum* expostas à diferentes tratamentos em solução nutritiva com Fe 1,0 mg L⁻¹ (A e C) e Fe 391,0 mg L⁻¹ (B e D). As barras correspondem às médias ± erro padrão de cinco repetições. Letras iguais não apresentam variabilidade estatística segundo teste Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam diferentes tratamentos em mesmo gráfico e letras maiúsculas comparam tratamentos em concentrações de Fe distintas..... 34

Figura 09: Fotossíntese líquida (A, A e B), condutância estomática (gs, C e D) transpiração (E, E e F) e razão entre a concentração de CO₂ dos meios interno e externo (Ci/Ca, G e H) em plantas de *Paspalum densum* expostas à diferentes tratamentos em solução nutritiva com Fe 1,0 mg L⁻¹ (A, C, E, G) e 391,0 mg L⁻¹ (B, D, F, H). As barras correspondem às médias ± erro padrão de cinco repetições. Letras iguais não apresentam diferença estatística segundo teste Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam diferentes tratamentos em mesmo gráfico e letras maiúsculas comparam tratamentos em concentrações de Fe distintas..... **36**

Figura 10: Massa Seca parte aérea (A e B), massa seca raiz (C e D) e massa seca total (E e F) em plantas de *Paspalum densum* expostas à diferentes tratamentos com Fe 1,0 mg L⁻¹ (A, C, E) e 391,0 mg L⁻¹ (B, D, F) . As barras indicam a médias ± erro padrão. Letras iguais não apresentam diferença estatística segundo o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam diferentes tratamentos em um mesmo gráfico. Letras maiúsculas comparam tratamentos em concentrações de Fe distintas..... **38**

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

- A = Fotossíntese
- $C_6H_5FeO_7 \cdot xH_2O$ = Citrato de ferro
- Ca = Cálcio
- Cd = Cádmio
- $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ = Nitrato de cádmio tetrahidratado
- C_i/C_a = Razão entre a concentração de CO_2 meio interno e externo
- Cr = Cromo
- E = Transpiração
- EAA = Espectrofotometria de Absorção Atômica
- F_0 = Fluorescência inicial
- Fe = Ferro
- F_m = Fluorescência máxima
- FS I = Fotossistema I
- FS II = Fotossistema II
- F_v/F_m = Eficiência quântica máxima do FS II
- g_s = Condutância estomática
- H_2O_2 = Peróxido de hidrogênio
- HCl = Ácido clorídrico
- $K_2Cr_2O_7$ = Bicromato de potássio
- MDA = Malonaldeído
- Mg = Magnésio
- $NADP^+$ = Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
- nm = Nanômetros
- Zn = zinco

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1. Mineração e contaminação ambiental.....	2
2.2. Metais pesados: Cr e Cd.....	4
2.3. Fitorremediação de ambientes contaminados por metais pesados	6
3. MATERIAIS E MÉTODOS	7
3.1. Área de estudo.....	7
3.2. Material vegetal e condições experimentais	7
3.5. Variáveis avaliadas	9
3.5.1. Determinação dos teores de cádmio, cromo e ferro em tecidos vegetais.....	9
3.5.2. Índices de clorofila e eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II.....	9
3.5.3. Avaliação das trocas gasosas.....	10
3.5.4. Determinação dos teores de peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂).....	10
3.5.5. Determinação dos teores de malonaldeído (MDA).....	10
3.5.6. Determinação de massa seca	11
3.5.7. Delineamento experimental e análise estatística	11
4. RESULTADOS.....	12
5. DISCUSSÃO.....	24
6. CONCLUSÃO	31
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

1. INTRODUÇÃO

A contaminação por metais pesados é um problema ambiental em nível mundial. Metais pesados como arsênio (As), mercúrio (Hg), chumbo (Pb), cádmio (Cd), zinco (Zn), cobre (Cu), níquel (Ni) e cromo (Cr) podem intoxicar animais, inibir o crescimento de espécies vegetais e consequentemente promover riscos à saúde humana (CHEN *et al.*, 2018; SHAHID *et al.*, 2017; LI *et al.*, 2014, ZHAO *et al.*, 2012). Metais pesados são elementos naturalmente encontrados no solo, normalmente associados de forma estável a outros elementos químicos, formando estruturas minerais compostas ou não, que podem ser explorados economicamente. A atividade do setor de mineração com processos de extração e beneficiamento mineral pode resultar no revolvimento e contaminação do solo por metais pesados expondo estes ao ambiente, levando a possíveis contaminações também da água e da biota terrestre e aquática (HU e CHENG, 2013; CHEN *et al.*, 2015).

Estratégias de fitorremediação, que consistem na remoção ou estabilização do contaminante, são alternativas de baixo custo em função da necessidade de reduzir a contaminação destes metais pesados no meio ambiente (LIU *et al.*, 2018). Entretanto, poucas plantas possuem a capacidade de extrair, translocar, acumular, quelar e estabilizar metais pesados (SALT *et al.*, 1995). A fitorremediação pode ocorrer via mecanismos de translocação de metais do solo para a parte aérea das plantas, como fitoextração; extração do poluente e remoção da espécie vegetal e fitovolatilização; extração e posterior volatilização via fluxo transpiratório (LIU *et al.*, 2018; MAHMOOD *et al.*, 2015). As plantas fitoextratoras com maior tolerância ao estresse causado por metais pesados tendem a apresentar maior potencial de acúmulo com o menor ou nenhum dano oxidativo ou prejuízos as suas condições fisiológicas (SARWAR *et al.*, 2017). A capacidade de acúmulo dos metais pesados, ou o tipo de órgão ou tecido onde este acúmulo ocorre, pode variar entre espécies vegetais. A espécie *Vigna unguiculata*, por exemplo, é mais efetiva na acumulação de Cr no caule do que *Vigna radiata*, que possui maior capacidade de acumulação na região radicular (CHANDRA *et al.*, 2010). Em *Phragmites australis*, o Cd fica retido principalmente nos vacúolos e em células do parênquima do sistema radicular (CHANDRA *et al.*, 2010; EDERLI *et al.*, 2004).

Embora existam diversos relatos na literatura sobre o potencial fitorremediador de diversas espécies vegetais em relação ao Cd (SONG *et al.*, 2016; REZANIA *et al.*, 2016; CHANDRA *et al.*, 2010; AHMAD *et al.*, 2016) e Cr (CHEN *et al.*, 2014; CHANDRA *et al.*,

2010; LI *et al.*, 2017; VAN OOSTEN *et al.*, 2015), estudos sobre possíveis interações químicas entre os metais pesados e os seus reflexos sobre o processo de fitorremediação são escassos. Solos contaminados com múltiplos metais como Fe, Cr e Cd, ocorrem em áreas degradadas por ações antropogênicas, tendo a mineração como exemplo (SOUZA, 2011).

Algumas espécies de gramíneas tropicais, com destaque para a *Paspalum densum* (Poir), têm apresentado respostas promissoras no processo de revegetação de ambientes impactados pela mineração de Fe (DE ARAUJO, *et al.*, 2015; RIOS, *et al.*, 2017; SIQUEIRA-SILVA *et al.*, 2019). Entretanto, pouco se sabe sobre como essa espécie pode auxiliar na fitorremediação de outros metais como o Cd e Cr, comuns em áreas de mineração associadas ao ferro (Fe).

Os mecanismos de resistência ao excesso de Fe apresentados pela gramínea *P. densum* envolvem a eliminação e redução na formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), e o controle do processo de translocação do elemento Fe para a parte aérea (RIOS *et al.*, 2017; SIQUEIRA-SILVA *et al.*, 2019), minimizando assim danos à planta. Desta forma, a hipótese a ser verificada nesse estudo consiste na confirmação do potencial fitorremediador de *P. densum* em função de sua capacidade de acúmulo dos metais Cd e Cr mesmo em ambientes com excesso de Fe. Espera-se, em função de seu mecanismo de tolerância, por meio do controle dos danos oxidativos, que a espécie apresente também ajustes nos processos fotossintéticos, sem perda considerável de biomassa quando exposta a combinação dos metais Cd, Cr e Fe em excesso na solução nutritiva. O objetivo do presente trabalho é determinar o nível de tolerância da gramínea em função do acúmulo dos metais pesados Cd e Cr em seus tecidos, e avaliar como a interação entre estes metais pesados em meio com excesso de Fe afeta seu acúmulo, os processos fotossintéticos e o ganho de biomassa.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Mineração e contaminação ambiental

As perturbações das ações industriais têm se intensificado no meio ambiente, proporcionando o aumento de uma série de estruturas químicas contaminantes sintéticas e naturais. Diversas contaminações do solo e recursos hídricos por metais pesados ocorrem em função do revolvimento e beneficiamento das reservas minerais no solo. Este processo resulta na liberação de estruturas químicas nocivas, que antes se encontravam associadas na forma de minerais estáveis no meio ambiente. Determinados setores de mineração e metalurgia são necessários para o desenvolvimento da sociedade moderna. Entretanto, juntamente com a síntese

e beneficiamento de produtos químicos, o uso indiscriminado de agentes químicos agrícolas (pesticidas e herbicidas), atuam impactando negativamente a biosfera (BHARGAVA *et al.*, 2012). Isso gera uma reação em cadeia, agindo no solo, águas superficiais e subterrâneas, fauna, flora, mas também sobre a saúde humana (BOLAN *et al.*, 2014). A contaminação do ambiente com elevadas concentrações de metais pesados se agrava, pois estes não são biodegradados de forma natural como certos poluentes orgânicos, mas podem ser transferidos para níveis tróficos superiores e serem acumulados pela biota (REZANIA *et al.*, 2016).

A contaminação do ambiente por metais pesados é um problema em escala mundial. Na china, contaminações por metais pesados nos solos em função das atividades industriais, agrícolas e de mineração elevam significativamente em níveis tóxicos as concentrações dos metais pesados cobre (Cu), zinco (Zn), arsênio (As) e cádmio (Cd). Este último com teores excedendo em 13 vezes os níveis máximos aceitos para solos agrícolas chineses (LI *et al.*, 2014; LIU *et al.*, 2005). São relatadas também a acumulação de Cd em pastagens na Nova Zelândia afetando assim a dinâmica alimentar dos rebanhos animais e tornando-os inadequados para consumo humano (BOLAN *et al.*, 2014). No Brasil, durante o desastre ambiental ocorrido em novembro de 2015 na cidade de Mariana localizada no estado de Minas Gerais (MG), o rompimento de uma barragem de contenção de rejeitos de minério de ferro liberou cerca de 34 milhões de m³ de lama, com elevados teores de Fe, Mn e Si. A movimentação do rejeito revolveu e deixou em suspensão material sedimentado contaminado com Al, As, Cd, Cu, Cr, Mn e Ni (ANA, 2016). Mais de 650 Km de malha hídrica do manancial hidrográfico da Bacia do Rio Doce, que fornecia água para os estados de MG e Espírito Santo (ES), foram convertidas em lamaçal. Em janeiro de 2019, outra tragédia envolvendo o setor de mineração ocorreu em MG, desta vez na cidade de Brumadinho. Em função da ruptura da barragem de minério de ferro da mina Córrego do Feijão, cerca de 13 milhões de m³ de rejeitos que foram lançados sobre áreas operacionais da mineradora Vale, afetando a cidade de Brumadinho, principalmente a população localizada aos arredores do Rio Paraopeba. Cerca de 300 pessoas foram estimadas entre mortos e desaparecidas, de forma mais precisa, até julho de 2019, havia 248 mortos e 23 desaparecidos. Em termos de contaminação ambiental gerada segundo resultados de análises em águas elaborados como informativo de parâmetros da qualidade (ANA, 2019; COPASA, 2019; CPRM, 2019; IGAM, 2019) foram encontrados teores acima dos limites permitidos dos metais, Fe dissolvido, Mn, Al, Hg, Ni entre o dia posterior ao acidente até abril de 2019. Os rejeitos de mineração, agora como contaminantes ambientais nocivos, necessitam da ação de pesquisas com potencial mitigador para a recuperação de todas as áreas afetadas (HATJE *et al.*, 2017; SILVEIRA *et al.*, 2019).

2.2. Metais pesados: Cr e Cd

Os metais pesados são quimicamente definidos em função de suas densidades elevadas. Para alguns autores são aqueles que apresentam densidade maior que 4 g cm^{-3} (HASHIM *et al.*, 2011; DURUIBE *et al.*, 2007), para outros uma densidade superior a 5 g cm^{-3} (LI *et al.*, 2014; OVES *et al.*, 2012). Metais pesados são elementos naturalmente encontrados no solo, mas normalmente associados a outros elementos químicos, gerando assim estruturas minerais compostas ou não, que podem ser explorados economicamente (CHEN *et al.*, 2015; HU e CHENG, 2013).

O cromo (Cr) é um metal potencialmente tóxico que não apresenta funções metabólicas essenciais para as plantas. A dinâmica do cromo no sistema solo/planta e sua acumulação em diferentes órgãos vegetais variam em função de sua estrutura química, propriedades físico-químicas do substrato e espécie vegetal (SHAHID *et al.*, 2017). O Cr é naturalmente encontrado nas formas das estruturas químicas trivalente (Cr^{3+}) e hexavalente (Cr^{6+}), em função do seu estado de oxidação. Esta variação de cargas presentes no Cr lhe proporciona distinções em termos de reatividade química no que tange a mobilidade no meio, a toxicidade e biodisponibilização (PANDA e CHOUDHURY, 2005). O Cr^{6+} apresenta potencial de toxidez mais elevado para espécies vegetais, em comparação com sua estrutura trivalente. A ação tóxica do Cr^{6+} gera um impacto negativo na fisiologia das plantas em processos relacionados à germinação, crescimento, além da indução à clorose foliar (CHEN *et al.*, 2014; SHANKER *et al.*, 2005).

O cromo tanto na sua forma hexavalente quanto trivalente são absorvidos pelas plantas, o mecanismo de absorção deste metal ainda é desconhecido, observa-se que não há uma especificidade de estruturas que interagem com tal metal (OLIVEIRA, 2012; SINGH *et al.*, 2013; GOMES *et al.*, 2017). A forma Cr^{6+} juntamente com a Cr^{3+} , são as mais estáveis no meio ambiente (ELZINGA e CIRMO, 2010; SHAHID *et al.*, 2017). Aparentemente a absorção ocorre via estruturas transportadoras variáveis, o que vai depender da estrutura química do íon metálico presente e da espécie de planta a interagir com os respectivos íons. Em termos de espontaneidade de absorção o Cr^{3+} , apresenta mecanismo de absorção passivo, não requerendo gasto energético (SHANKER *et al.*, 2005). A estrutura do Cr^{6+} demanda gasto energético, via mecanismo ativo, sendo o mecanismo transportador de sulfatos ou fosfatos frequentes nesta interação (OLIVEIRA, 2012). Estudos também demonstram que o fator genético pode interferir na predisposição ao acúmulo dos metais em uma região ou outra da planta. Pesquisas realizadas com arroz, onde suas variantes genótípicas foram tratadas com concentrações distintas de Cr apresentaram variações, o

aumento dos teores indicou uma resposta mais efetiva de acúmulo do metal na região das raízes (ZENG *et al.*, 2010). O cromo até a presente data não é considerado como um micronutriente atuante no desenvolvimento e manutenção da homeostase das plantas (SHAHID *et al.*, 2017).

O cádmio (Cd), em sua estrutura química divalente Cd^{2+} , é reconhecido como metal pesado de considerável risco à contaminação do ar, solo e água e, conseqüentemente, prejudicial a todas as formas de vida presentes no meio ambiente contaminado. Os efeitos do Cd em seres humanos são crônicos, causando insuficiência pulmonar, câncer, distúrbios renais, lesões ósseas, e hipertensão (MARTINS *et al.*, 2014; LEE e WHITE, 2007). A acumulação de Cd nas espécies vegetais acarreta alterações fisiológicas, bioquímicas e genéticas. Os sintomas mais observados são a inibição na etapa germinativa, supressão do crescimento, degeneração da clorofila, gerando clorose foliar, perda do controle estomático em função da alteração do equilíbrio hídrico da planta. (ALVES *et al.*, 2017; AHMAD *et al.*, 2016).

Em estudos realizados, o Cd apresenta efeitos tóxicos sobre as plantas desde a fase de germinação, elevadas concentrações de cádmio sobre sementes em estado germinativo amilases α e β , tem sua atividade enzimática comprometida, agindo diretamente sobre a respiração das espécies vegetais (CHUGH e SAWHNEY, 1996). A ação do Cd sobre a atividade enzimática e proteica é significativa, gerando efeitos variados (LÖSCH, 2010), de forma geral interage quimicamente com grupos sulfidril (SH) existentes em certas enzimas e proteínas. As ligações dissulfeto presentes são rompidas por processos oxidativos gerados na interação com o Cd^{2+} , o reflexo desta reação de oxirredução causa a desnaturação proteica, inibindo assim a atividade enzimática. (SHAW *et al.*, 2010; GUIMARÃES *et al.*, 2008).

As biomoléculas mais frequentes em plantas que apresentam potencial quelante são as glutationas e fitoquelatinas, estas atuam como agente de desintoxicação vegetal. O potencial acumulador para os metais Cr e Cd nas raízes, pode ser justificado pela presença de ácidos orgânicos liberados via sistema radicular, possivelmente as interações químicas metal – ácido atuem como limitador na translocação para parte aérea (CHANDRA *et al.*, 2010). O sistema de transporte do Cd nas plantas ocorre nas raízes, caule e folhas pelas vias apoplásticas, movimentação dos íons inorgânicos e da água em direção à endoderme também pode ocorrer via apoplástica, atravessando paredes de celulose e vias simplásticas, atravessando membranas celulares. A absorção do Cd ocorre via membrana plasmática das células da epiderme radicular, onde o ácido carbônico (H_2CO_3), formado na respiração da planta, se dissocia nos íons H^+ e

HCO₃⁻ (bicarbonato). A acidez do meio permite a absorção do Cd²⁺ na superfície das células epidérmicas das raízes (YAMAGUCHI, 2011; SONG, 2016).

A presença de Cd no meio de desenvolvimento vegetal acarreta elevada toxidez mesmo em baixas concentrações, causando este uma série de efeitos deletérios nas plantas como a desnaturação proteica, alterações metabólicas, queda na atividade fotossintética, clorose, dentre outros fatores (GUIMARÃES *et al.*, 2008). O cádmio atua inibindo o fluxo de elétrons na cadeia fotossintética transportadora de elétrons, a intensidade desta ação depende da relação concentração do metal x tempo de exposição (CHUGH e SAWHNEY, 1999) (MYŚLIWA-KURDZIEL, 2010).

O cádmio causa uma série de efeitos nocivos junto às atividades enzimáticas das plantas (LÖSCH, 2010), em estudos realizados foi constatado que em certas espécies de plantas, como *Cajanus cajan*, *Phaseolus vulgaris* e a *Triticum aestivum* a estrutura da ribulose-1,5-bifosfato carboxilase oxigenase (Rubisco); enzima mais abundante nas plantas; interage quimicamente com Cd, rompendo sua estrutura molecular em suas subunidades (KURDZIEL *et al.*, 2004; SHEORAN *et al.*, 1990).

2.3. Fitorremediação de ambientes contaminados por metais pesados

A elevação dos teores de metais pesados presentes no solo e nas águas tem gerado a necessidade de mecanismos essenciais para recomposição da qualidade ambiental e para atenuação destas contaminações do meio ambiente. Algumas espécies vegetais apresentam mecanismos de estabilização e absorção de íons metálicos, além de estruturas fitoquímicas com potencial quelante (SONG *et al.*, 2016).

A fitorremediação tem sido empregada com a finalidade de mitigar as contaminações de metais pesados presentes no meio. Esta técnica se baseia na utilização de espécies vegetais (com ou sem microrganismos associados a estas) que sejam comprovadamente eficientes no processo de remover, conter, estabilizar ou tornar inofensivas as estruturas químicas nocivas ao meio ambiente e à saúde, como os metais pesados, pesticidas, policloreto bifenilos e hidrocarbonetos aromáticos polinucleares convertendo-os para metabólitos com baixo ou nenhum potencial contaminante para o meio (MAHAR *et al.*, 2016). A fitorremediação também pode ser aplicada com a finalidade de extração de metais com benefício financeiro, como o Níquel (Ni) e o Tálcio (Tl), entre outros (VANGRONSVELD *et al.*, 2009). No processo de descontaminação de solos e águas já são conhecidas um número significativo de espécies vegetais que apresentam ação

fitorremediadora efetiva (REZANIA *et al.*, 2016). Diversas espécies de gramíneas apresentam características, como elevada produção de massa seca e extenso sistema radicular, associado com efetiva absorção de metais pesados, que lhes conferem o título de plantas hiperacumuladoras, possibilitando sua utilização em ações remediadoras na descontaminação do ambiente por metais pesados (RABELO e BORGIO, 2016). A seleção de espécies resistentes a tais condições ambientais proporciona eficiente mecanismo de ação fitorremediadora (RIOS *et al.*, 2017). Algumas espécies de gramíneas tropicais, onde se destaca a *Paspalum densum* (Poir), tem apresentado respostas significativas na revegetação de ambientes impactados por mineradoras de ferro (RIOS *et al.*, 2017; DE ARAUJO *et al.*, 2015). Entretanto, existe a necessidade de estudos cada vez mais aprofundados no intuito de melhor compreender o potencial fitorremediador em relação a outros metais além do Fe, como o Cd e Cr.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Área de estudo

O estudo foi conduzido em casa de vegetação, no *Campus* da Universidade Federal de Viçosa – UFV, localizado na cidade de Florestal – MG (19°52'35.0"S e 44°24'49.1"W), O clima da região é classificado como tropical, apresentando precipitação média anual de 1500 mm, com estações do ano bem definidas: verão (chuvas) e inverno (seco), com variação de temperatura entre 15°C e 30°C (Clima tempo, 2018).

3.2. Material vegetal e condições experimentais

A espécie vegetal estudada foi a gramínea *Paspalum densum* (Poir), Poaceae. Em estudos anteriores (SOUZA, 2016; RIOS, 2017; RIOS *et al.*, 2017; SIQUEIRA-SILVA *et al.*, 2019) esta gramínea demonstrou ótimo desenvolvimento em ambientes com elevados teores de Fe e com potencial resistência em meio contaminado com metais pesados cromo e cádmio. As sementes, provenientes de matrizes existentes no *Campus* UFV Florestal, foram semeadas em bandejas plásticas contendo areia lavada umedecida. Cerca de 60 dias após a germinação as plântulas foram transferidas para vasos contendo solução nutritiva de Hoagland (HOAGLAND e ARNON, 1950) a 50% e pH 5,0, durante cerca de 60 dias. Posteriormente, as plantas foram transferidas individualmente para vasos com capacidade de 2 litros revestidos internamente com sacos plásticos, com a finalidade de evitar a contaminação do recipiente com metais pesados. Foi adicionado a estes solução nutritiva de Hoagland (100%), para período de aclimação de 7 dias.

A pesquisa foi realizada em duas etapas, a primeira consistiu na avaliação do acúmulo de Cr e Cd em *Paspalum densum* e a segunda etapa avaliou a interação entre estes metais em meio com excesso de ferro, conforme descrição a seguir.

3.3. Capacidade de acúmulo de Cr e Cd pela gramínea *Paspalum densum*

Após período de aclimação, foram adicionadas à solução nutritiva de Hoagland (100%) as concentrações de 0, 5, 10, 20 e 40 mg L⁻¹ de Cr e Cd isoladamente. Estas concentrações foram estabelecidas com base nos estudos de Peralta (2001) e Chen (2014). O composto químico utilizado com fonte de cromo hexavalente (Cr⁶⁺) foi o bicromato de potássio (K₂Cr₂O₇). Já a estrutura catiônica do cádmio (Cd²⁺) foi obtida a partir do sal de nitrato de cádmio (Cd(NO₃)₂.4H₂O). Foram realizados experimentos independentes para cada metal pesado (Cr e Cd). O tempo de exposição da espécie vegetal aos metais foi de 7 dias.

Foram avaliados os índices de clorofila e eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II (F_v/F_m) diariamente ao longo do período de exposição. No sétimo e último dia, as plantas foram separadas em raízes e folhas para a determinação da concentração de Cr e Cd por Espectrofotometria de Absorção Atômica (EAA). Uma pequena porção de raízes e folhas conservadas em nitrogênio líquido foi utilizada na determinação de teores de malonaldeído (MDA) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂). As análises foram feitas conforme descrito na seção “Variáveis avaliadas”.

3.4. Interação entre Cr, Cd e excesso de ferro sobre a gramínea *Paspalum densum*

O experimento consistiu na exposição da gramínea aos metais Cr e Cd (20 mg L⁻¹ isoladamente) e da exposição simultânea desses metais com excesso de Fe (390,9 mg L⁻¹ em solução nutritiva de Hoagland (100%, pH 5,0). Desta forma, foram determinados os tratamentos: 1) Fe 1,0 mg L⁻¹ (Fe; controle), 2) Fe 1,0 mg L⁻¹ + Cd 20 mg L⁻¹, 3) Fe 1,0 mg L⁻¹ + Cr 20 mg L⁻¹, 4) Fe 1,0 mg L⁻¹ + combinação de Cd e Cr 20 mg L⁻¹, 5) Fe 391,0 mg L⁻¹ (Fe em excesso), 6) Fe 391,0 mg L⁻¹ + Cd 20 mg L⁻¹, 7) Fe 391,0 mg L⁻¹ + Cr 20 mg L⁻¹, 8) Fe 391,0 mg L⁻¹ + combinação de Cd e Cr 20 mg L⁻¹. O tempo de exposição de 9 dias e as concentrações dos metais pesados Cr e Cd utilizadas (20 mg L⁻¹) e as de Fe (1,0 mg L⁻¹ - controle e 391,0 mg L⁻¹ - excesso de ferro), foram determinados a partir dos resultados obtidos na primeira fase e com base na literatura (MULLER *et al.*, 2015; CHEN *et al.*, 2014; MARTINS *et al.*, 2014; STRITSIS e CLASSEN, 2013; PERALTA *et al.*, 2001). A estrutura química do ferro, em sua forma trivalente (Fe³⁺), foi obtida a partir do composto citrato de ferro (III) (C₆H₅FeO₇.xH₂O).

Foram feitas avaliações dos índices de clorofila e F_v/F_m , após nono dia da contaminação dos metais Cr e Cd adicionados aos meios com Fe. As medições de trocas gasosas foliares (fotossíntese, condutância estomática, transpiração e razão entre a concentração interna e externa de CO₂ no mesofilo foliar) foram realizadas após sétimo dia de exposição aos tratamentos. Ao término do experimento, as plantas foram separadas em raízes e folhas. O material foi seco em estufa para a determinação dos valores de massa seca e utilizado para quantificação dos teores de Fe, Cd e Cr por EAA, conforme descrição na seção a seguir.

3.5. Variáveis avaliadas

3.5.1. Determinação dos teores de cádmio, cromo e ferro em tecidos vegetais

As determinações dos teores dos metais Cd, Cr e Fe foram obtidas a partir de material radicular e foliar obtido ao final dos experimentos. As raízes lavadas com solução de HCl 0,1 mol L⁻¹ (ALVES *et al.*, 2008) para remoção dos metais Cr e Cd aderidos à superfície. As amostras foram secas em estufa de ventilação e aquecimento a temperatura 75°C, por período de 72 horas. Na sequência o material foi pesado em balança e moído para melhor homogeneização das amostras e aumentar a eficiência nos processos posteriores. As amostras (0,5 g) foram acondicionadas em frascos de vidro estéreis. O processo de digestão nitroperclórica foi feito com a adição de 10 mL da mistura de ácido nítrico e ácido perclórico na proporção 4:1 em bloco digestor pré-aquecido a 80°C, com elevação gradativa de temperatura até 200°C (SARRUGE e HAAG, 1974). A determinação dos metais foi feita em espectrofotômetro de absorção atômica (Agilent Technologies 240FS, série AA).

3.5.2. Índices de clorofila e eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II

Os índices de clorofila total foram obtidos com medidor portátil de clorofila ClorofilOG (Falker, Brasil). As medidas foram realizadas na terceira folha completamente expandida de cada indivíduo e caracterizadas pelo valor médio de três medições realizadas na região central.

O fluômetro de pulso modulado Mini-PAM (Heinz Walz, Effeltrich, Germany) foi utilizado para as medições de F_v/F_m . Após aclimação da folha ao escuro por no mínimo 30 minutos, foram obtidas assim medidas da fluorescência inicial (F_0) e fluorescência máxima (F_m), por meio da luz de medição (0,15 $\mu\text{mol. m}^{-2} \cdot \text{S}^{-1}$) e do pulso luminoso saturante (12000 $\mu\text{mol. m}^{-2}$).

s⁻¹), respectivamente. A partir destes valores encontrados foi determinada a eficiência quântica máxima do fotossistema II (FSII): $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ (GENTY *et al.*, 1989).

3.5.3. Avaliação das trocas gasosas

As medições de trocas gasosas (taxa fotossintética líquida (A), condutância estomática (g_s), transpiração (E) e razão entre a concentração interna e externa de CO₂ (C_i/C_a)) foram realizadas na terceira folha totalmente expandida para cada indivíduo. Foi utilizado o aparelho analisador de gases no infravermelho, modelo LI-6400xt (Li-Cor Inc., Lincol, Nebraska, EUA). A luz (1500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), fornecida por LEDs localizados na câmara foliar (modelo 6400-02B, Li-Cor Inc.), área de 6 cm². Foi utilizado nas avaliações um sistema de controle de CO₂ (modelo 6400-01, LiCor Inc.) apresentando uma concentração de 400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$, com temperatura constante em 30°C e umidade relativa do ar média de 60%.

3.5.4. Determinação dos teores de peróxido de hidrogênio (H₂O₂)

A avaliação dos teores de H₂O₂ foi realizada com base na metodologia estabelecida por Velikova *et al.* (2000). Foram coletadas de forma aleatória e acondicionadas em nitrogênio líquido 3 folhas completamente expandidas e raízes de cada indivíduo. 0,1 g de material vegetal foi macerado em nitrogênio líquido em almofariz e pistilo mantidos em baixa temperatura e adicionado 1 mL de TCA 0,1% (ácido tricloroacético). Na sequência as amostras foram centrifugadas (Thermo scientific, megafuge 16R) durante 15 minutos a 12.000g a 4°C. Em seguida 0,250 mL de TCA 0,1% e 1 mL de iodeto de potássio 1 mol L⁻¹ foram adicionados a 0,250 mL do sobrenadante. As leituras foram feitas em espectrofotômetro (Shimadzu, UV-1800) no comprimento de onda de 390 nm, Os teores de peróxido de hidrogênio foram determinados a partir de curva padrão (Velikova *et al.* 2000).

3.5.5. Determinação dos teores de malonaldeído (MDA)

Os teores de MDA foram determinados com base na metodologia de Du e Bramlage *et al.* (1992). Foram coletadas de forma aleatória 3 folhas adultas completamente expandidas, e partes das raízes da planta estudada. Na sequência as amostras foram acondicionadas em nitrogênio líquido para a preservação. 0,1 g de tecido foliar e de raiz foram maceradas em nitrogênio líquido em almofariz e pistilo mantidos em baixa temperatura, contendo 1 mL de álcool etílico 80%. As amostras foram homogeneizadas em aparelho vortex (Phoenix, modelo AP54) e encaminhadas para banho ultrassônico refrigerado (Elmasonic, S30H) por 15 minutos. Na sequência as amostras

foram centrifugadas (Thermo scientific, megafuge 16R) durante 10 minutos a 10.000g, à 4°C e o volume do sobrenadante foi coletado. O procedimento de extração foi repetido por mais duas vezes. Foi coletado 1 mL do extrato resultante e adicionado a tubos de ensaio rosqueados contendo 1 mL de solução TBA+ (ácido tricloroacético a 20%, hidroxitolueno butilado à 0,01 % e 0,65% de ácido tiobarbitúrico). Outro 1 mL de amostra foi adicionado à 1 mL da solução TBA- (ácido tricloroacético à 20%, hidroxitolueno butilado a 0,01%.) Os tubos foram colocados em banho maria (Ethik technology, 521-3D) pelo tempo de 25 minutos à 95°C e posteriormente acondicionados em banho de gelo por 10 minutos. Na sequência as amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 25°C e 10.000g. Foram realizadas as leituras em espectrofotômetro (Shimadzu, UV-1800) nos comprimentos de onda de: 440 nm, 532 nm e 600 nm. A realização dos cálculos foi feita conforme a equação: $\{[(A_{532} - A_{600}) - [(A_{440} - A_{600}) (MA \text{ de sacarose a } 532 \text{ nm} / MA \text{ de sacarose a } 440\text{nm})] / 157000]10^6\}$, onde A é o valor da absorbância, MA a absorbância molar e 157000 o coeficiente de extinção molar (Du *et al.*, 1992).

3.5.6. Determinação de massa seca

As plantas foram coletadas e separadas em raízes e parte aérea. As amostras foram acondicionadas em sacos de papel tipo pardo e levadas para estufa à temperatura de 75°C até atingirem condições de peso constante. Na sequência, a massa seca da raiz e da parte aérea foi determinada em balança de precisão. A massa seca total foi obtida pelo somatório da massa seca da raiz e massa seca da parte aérea em cada indivíduo.

3.5.7. Delineamento experimental e análise estatística

A primeira fase avaliada foi realizada aplicando-se delineamentos independentes, cinco concentrações (0, 5, 10, 20, 40 mg L⁻¹) correspondente aos metais avaliados (Cr e Cd), com cinco repetições, totalizando 25 amostras para cada um dos metais avaliados. Os dados equivalentes à primeira fase foram utilizados para análises de regressão não linear: polinomial cúbica e polinomial linear, além da análise de variância (ANOVA) e teste de média (Tukey p < 0,05) utilizando o programa STATISTICA.

Os dados da segunda fase foram obtidos em esquema fatorial 4x2, sendo quatro condições de interação entre os metais (Fe, Fe Cd, Fe Cr e Fe Cd Cr) e duas concentrações de Fe (1,0 mg L⁻¹ e 391,0 mg L⁻¹) para cada uma das condições. O estudo foi conduzido com 5 repetições para cada tratamento, total de 40 unidades experimentais. Os dados obtidos foram submetidos a ANOVA e teste de média (Tukey p < 0,05), utilizando o programa estatístico STATISTICA.

4. RESULTADOS

Os teores de cromo na parte aérea de *Paspalum densum* apresentaram incremento significativo a partir da dose de 20 mg L⁻¹ de Cr, atingindo valores na ordem de 1400 mg kg⁻¹ na maior dose, diferindo significativamente dos demais tratamentos (Fig. 1A). Os teores de Cr nas raízes (Fig. 1C) apresentaram valores superiores aos teores de Cr na parte aérea, sendo significativamente superiores ao controle a partir da dose de 5 mg L⁻¹ do metal. A maior absorção de Cr nas raízes, com teores em torno de 6000 mg kg⁻¹ de Cr, ocorreu nos tratamentos de 20 e 40 mg L⁻¹ (Fig. 1C). Os teores de Cd tanto na parte aérea (Fig. 1B) quanto nas raízes (Fig. 1D), apresentam incremento linear. Na parte aérea, os teores praticamente duplicam nas concentrações de 10 mg L⁻¹ para 20 mg L⁻¹, da mesma forma que de 20 mg L⁻¹ para 40 mg L⁻¹. A absorção de Cd nas raízes foi mais significativa, em relação à concentração de 20 mg L⁻¹ a absorção do metal foi cerca de 7 vezes maior nas raízes em relação a parte aérea.

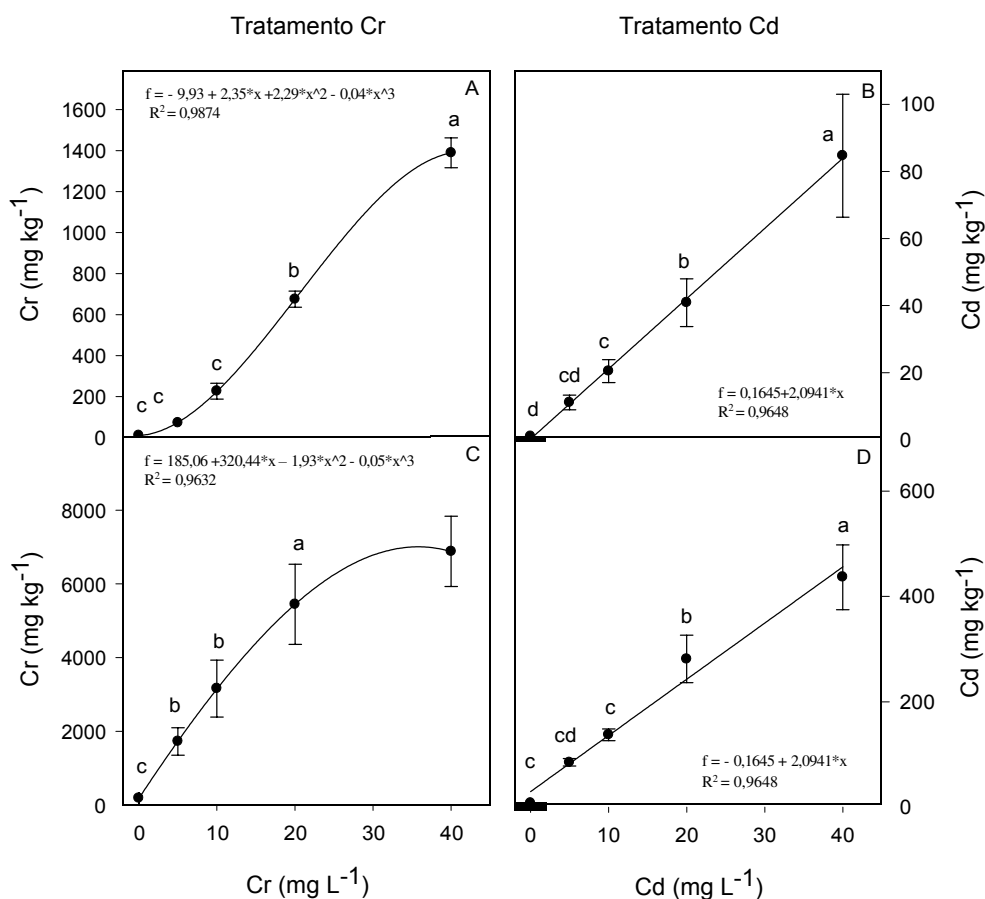


Figura 1: Teores de Cr e Cd na parte aérea (A e B) e na raiz (C e D) da espécie vegetal *Paspalum densum*, submetida a diferentes concentrações desses metais em solução nutritiva por 7 dias. Os dados representam médias \pm erro padrão de cinco repetições. Letras iguais não apresentam diferença estatística significativa de acordo com teste Tukey a 5% de probabilidade. Os dados foram tratados via regressão não linear polinomial cúbica figuras (A) e (C) e regressão polinomial linear (B) e (D).

O índice de clorofila total apresentou diminuição significativa a partir da dose de 10 mg L⁻¹ de Cr em solução nutritiva, sem alteração significativa da dose de 20 em relação à de 40 mg L⁻¹ (Fig. 2A). Ocorreu diminuição gradativa do índice de clorofila em relação ao aumento da concentração de cádmio, porém com valores significativos em relação ao controle somente na maior dose (40 mg L⁻¹) de Cd em solução nutritiva (Fig. 2B). A eficiência quântica máxima do fotossistema II (F_v/F_m) apresentou decréscimo linear em função do aumento das concentrações de cromo na solução nutritiva (Fig. 2C). Sendo que a variabilidade estatística foi significativa entre os tratamentos 20 e 40 mg L⁻¹ e entre 20 e as doses de 0 e 5 mg L⁻¹. Com o aumento da concentração de cádmio, não houve alterações significativas nos valores de F_v/F_m (Fig. 2D).

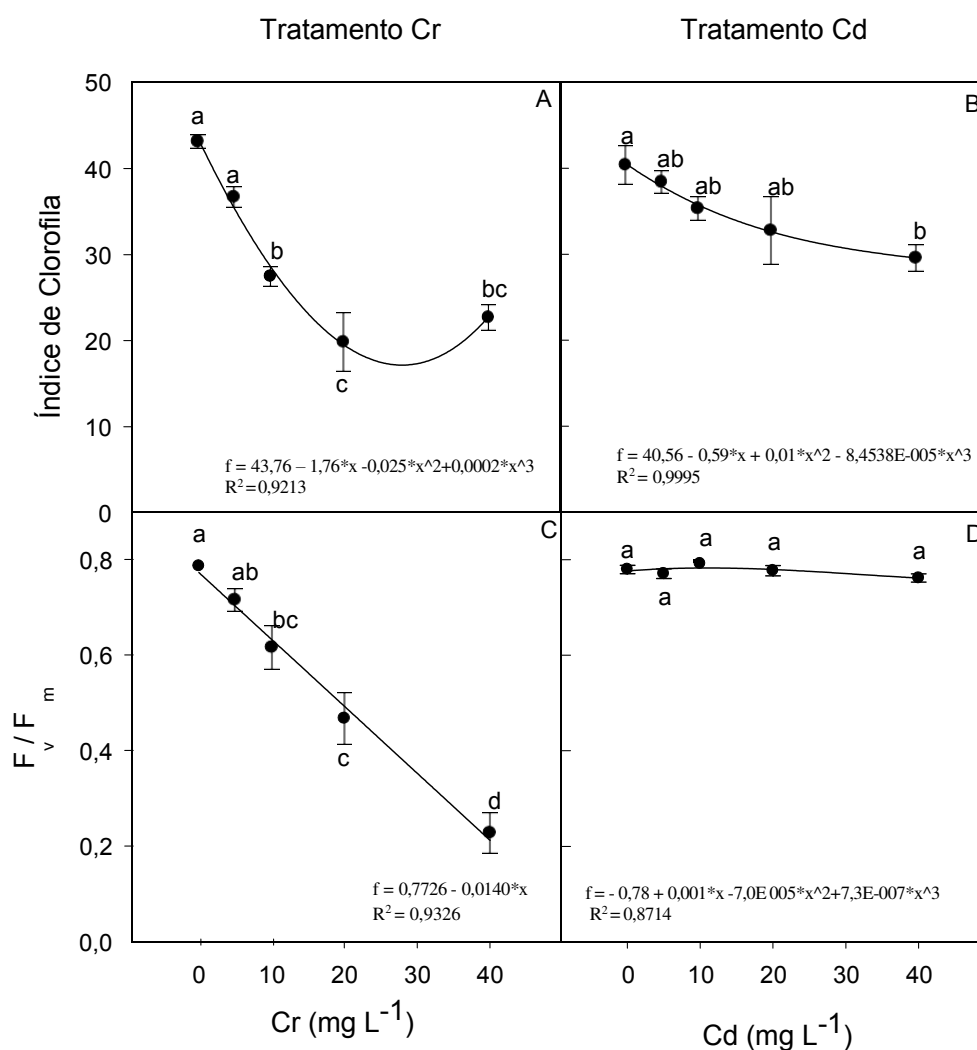


Figura 2: Índices de clorofila (A e B) e eficiência quântica máxima do FSII (F_v/F_m , C e D) da espécie *Paspalum densusum* em resposta às concentrações de Cr (A e C) e Cd (B e D) em solução nutritiva por 7 dias. Os dados representam os valores médios \pm erro padrão de cinco repetições. Letras iguais indicam ausência de variabilidade estatística de acordo com teste Tukey a 5% de probabilidade. Os dados foram tratados via regressão não linear polinomial quadrática figuras (A) e (B) e regressão polinomial linear (C) e (D).

Os teores de peróxido de hidrogênio na parte aérea de *Paspalum densum* exposta ao Cr (Fig. 3A) apresentou incrementos significativos em relação ao controle a partir da dose de 10 mg L⁻¹. Nas raízes (Fig. 3B), os teores de H₂O₂ não apresentaram variação estatística significativa. Da mesma forma, os teores de MDA na parte aérea e na raiz de *Paspalum densum* não apresentaram variação significativa em resposta aos tratamentos com Cr (Fig. 3C e 3D).

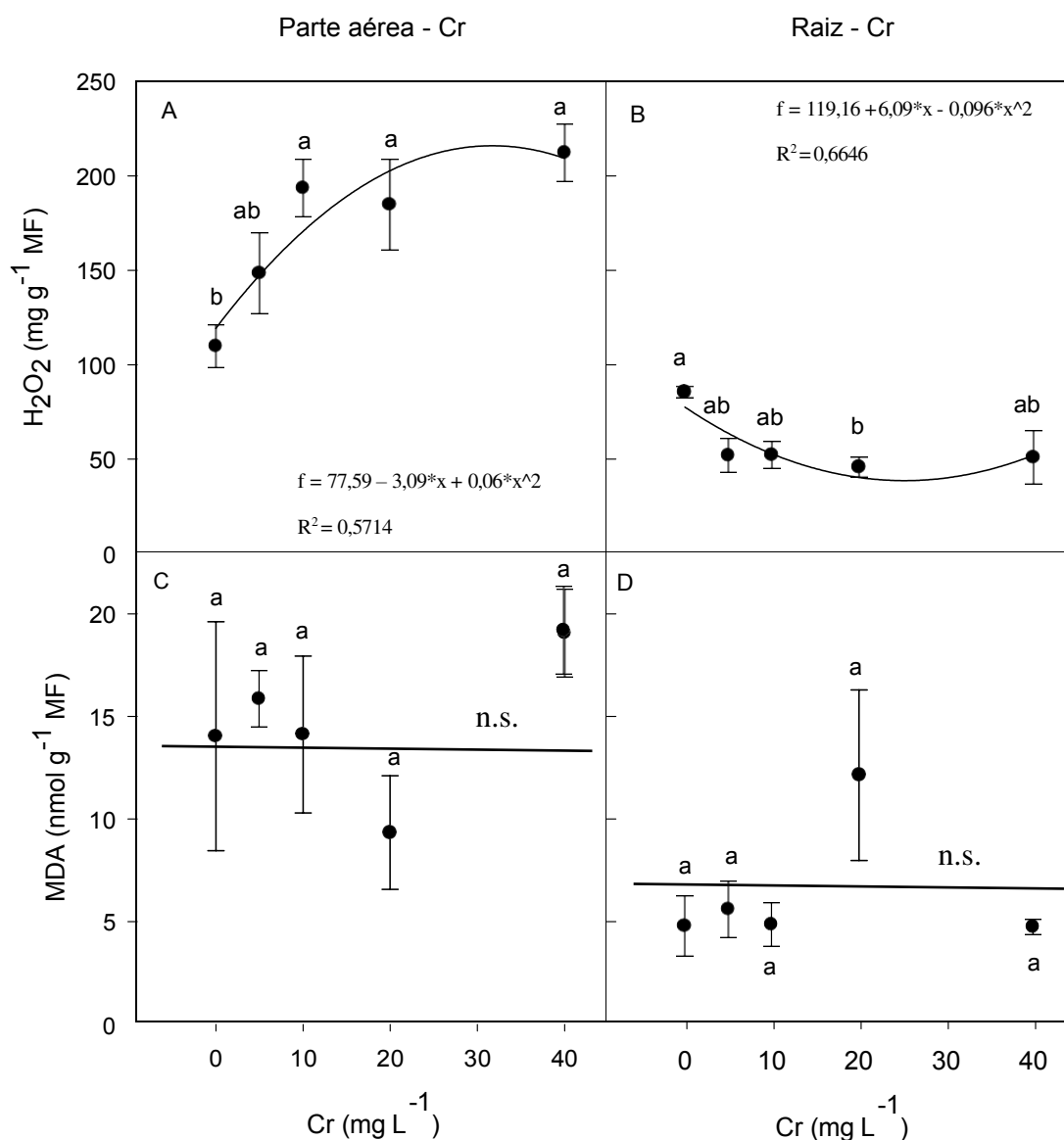


Figura 3: Teores de peróxido de hidrogênio (H₂O₂, A e B) e de malonaldeído (MDA, C e D), da espécie *Paspalum densum* em resposta às concentrações de Cr em solução nutritiva por 7 dias. Os dados representam as médias ± erro padrão de cinco repetições. Letras iguais indicam ausência de variabilidade estatística de acordo com teste Tukey a 5% de probabilidade. Os dados de (A) e (B) foram tratados via regressão polinomial quadrática, em (C) e (D) os resultados não foram significativos.

O teor de H₂O₂ na parte aérea e na raiz das plantas de *Paspalum densum* expostas ao Cd em solução nutritiva, não apresentaram variações estatísticas significativas (Fig. 4A e 4B). Houve

diminuição nos teores de MDA nas folhas das plantas tratadas com Cd na concentração de 5 mg L⁻¹ em relação ao controle (Fig. 4C). Os demais tratamentos não apresentaram diferenças significativas. As raízes não apresentaram variações estatísticas significativas em relação aos teores de MDA (Fig. 4D) em resposta ao Cd.

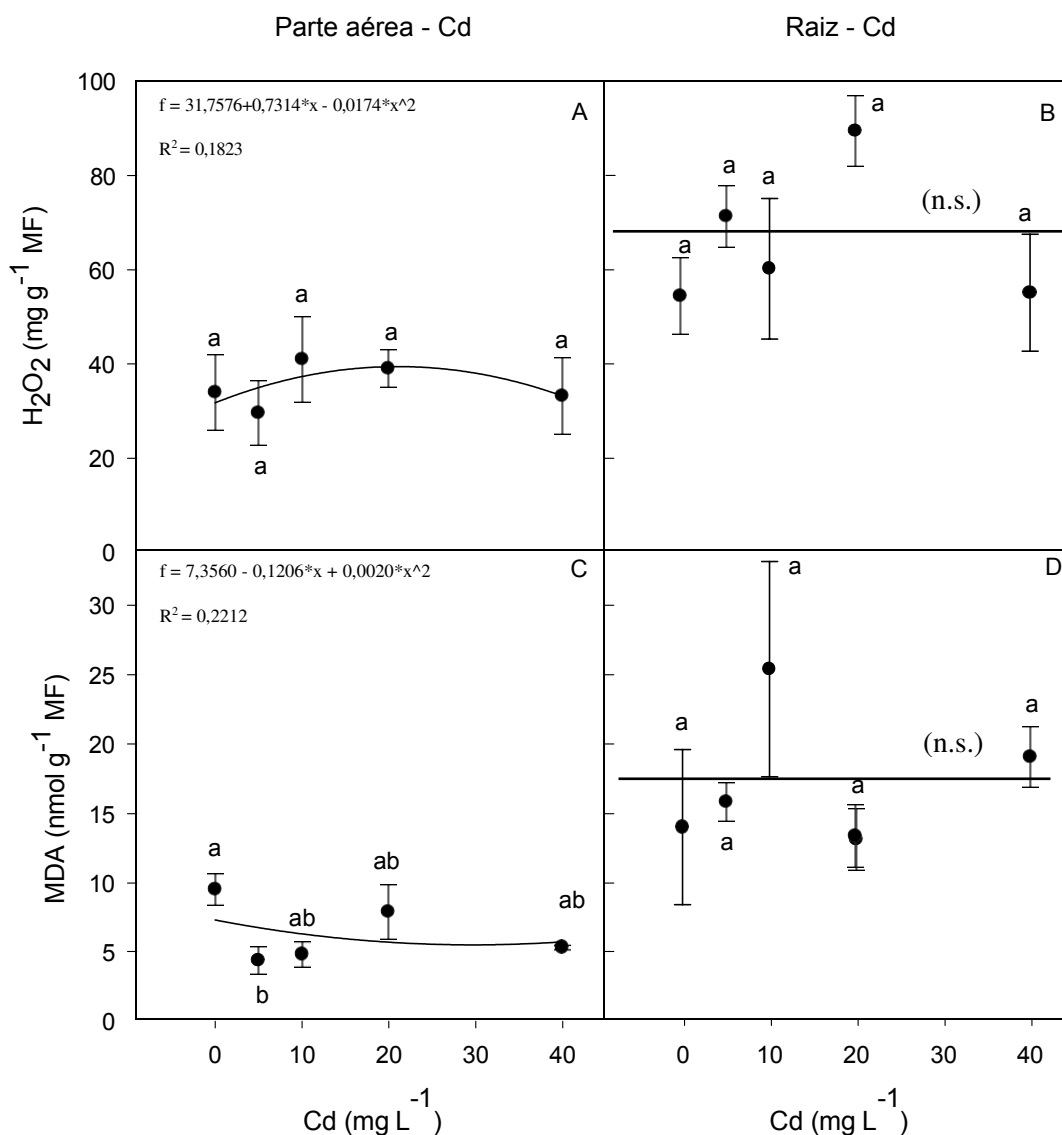


Figura 4: Teores de peróxido (H₂O₂, A e B) de malonaldeído (MDA, C e D) da espécie *Paspalum densum* expostas ao Cd em diferentes concentrações na solução nutritiva por 7 dias. Os dados representam as médias ± erro padrão de cinco repetições. Letras iguais indicam ausência de variabilidade estatística de acordo com teste Tukey a 5% de probabilidade. Aos valores em (A) e (C) foram aplicados tratamentos de regressão não linear polinomial quadrática, em (B) e (D) os resultados não foram significativos.

Os resultados da segunda etapa mostraram que elevados teores de Cr foram absorvidos na parte aérea e raiz da *Paspalum densum* quando exposta a este metal, independentemente da interação com os demais metais em solução nutritiva (Fig. 5). A absorção de Cr na parte aérea

para a concentração de Fe 1,0 mg L⁻¹ (Fig. 5A), não apresentou variação estatística significativa entre os tratamentos (Fe Cr e Fe Cd Cr), sendo estes os mais expressivos em termos de absorção do metal. As mesmas respostas foram encontradas para a concentração de Fe 391,0 mg L⁻¹ (Fig. 5B). Em relação às diferentes concentrações de Fe na solução nutritiva, na parte aérea ocorre variação estatística significativa entre os tratamentos (Fe Cd), sendo a absorção de Cr mais efetiva na concentração Fe 391,0 mg L⁻¹. O contrário é verificado para os tratamentos (Fe Cr e Fe Cd Cr), onde a absorção se mostra mais efetiva na concentração de Fe 1,0 mg L⁻¹. Nas raízes para a concentração de Fe 1,0 mg L⁻¹, não ocorreu variação estatística significativa entre os tratamentos (Fe Cr e Fe Cd Cr), sendo estes os que apresentam maiores teores de Cr absorvido. Ocorreu variação estatística no tratamento (Fe Cd Cr) entre os meios com diferentes concentrações de Fe, onde a absorção do Cr pelas plantas foi mais efetiva na concentração Fe 1,0 mg L⁻¹.

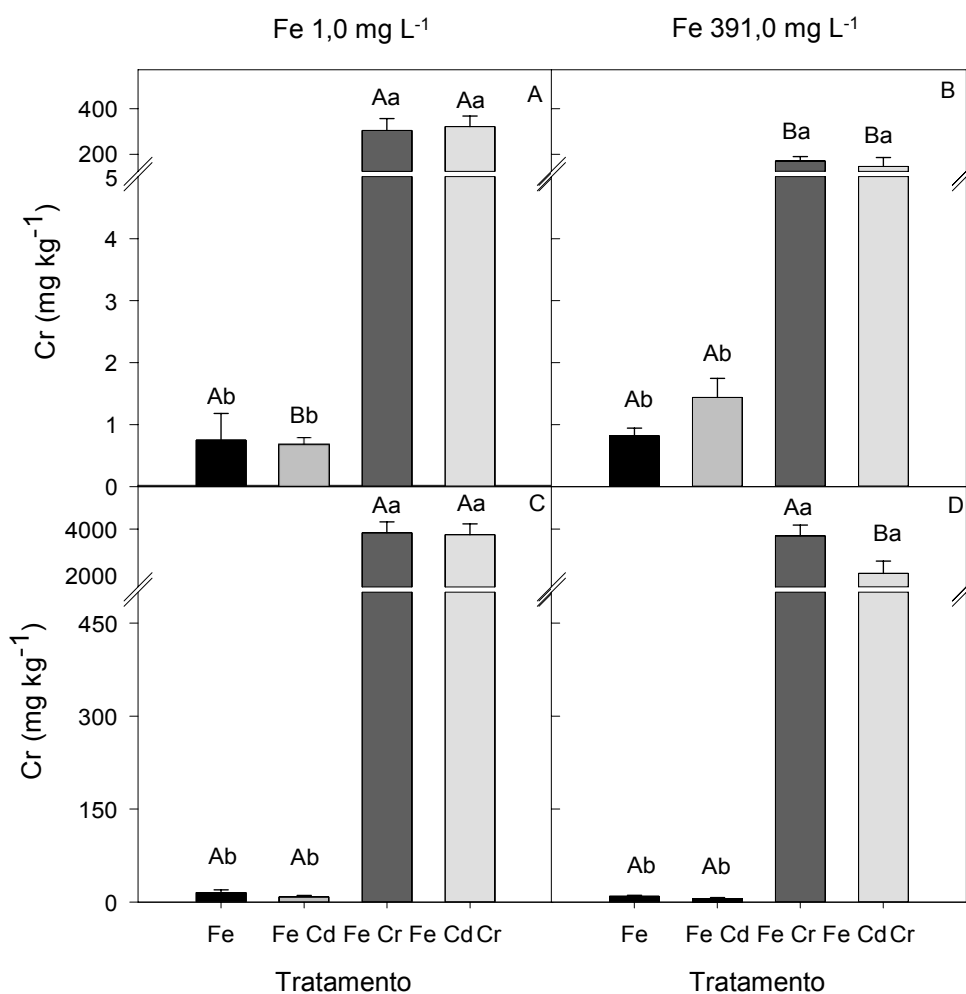


Figura 5: Teores de Cr na parte aérea (A e B) e raiz (C e D) de *Paspalum densum* exposta a diferentes tratamentos em solução nutritiva com Fe 1,0 mg L⁻¹ (A e C) e Fe 391,0 mg L⁻¹ (B e D). As médias ± erro padrão de cinco repetições são representadas por barras. Letras iguais não apresentam variabilidade

estatística segundo teste Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam diferentes tratamentos em um mesmo gráfico e letras maiúsculas comparam os tratamentos em distintas concentrações de Fe na mesma parte da espécie vegetal avaliada.

A absorção de Cd na parte aérea de *Paspalum densum* foi significativamente maior no tratamento Fe Cd Cr (Fig. 6A e 6B) em relação aos demais tratamentos avaliados, independentemente das doses de Fe na solução nutritiva. Em relação às concentrações de Fe no meio, em geral houve variação estatística significativa, onde as plantas expostas ao tratamento Fe Cd Cr na concentração de Fe 1,0 mg L⁻¹ apresentaram teores de Cd na parte aérea superiores (Fig. 6A) em relação à concentração de Fe 391,0 mg L⁻¹ (Fig. 6B). Nas raízes houve variação significativa com maiores teores de Cd nas plantas dos tratamentos Fe Cd e Fe Cd Cr (Fig. 6C), sendo que entre estes, houve acúmulo significativamente mais acentuado no segundo tratamento para as plantas expostas a Fe 1,0 mg L⁻¹. Na concentração de Fe 391,0 mg L⁻¹ não houve variação estatística significativa entre os tratamentos Fe Cd e Fe Cd Cr (Fig. 6D). Houve teores significativamente maiores de Cd para as plantas expostas aos tratamentos Fe Cd e Fe Cd Cr na concentração de Fe 1,0 mg L⁻¹ (Fig. 6C) em relação aos mesmos tratamentos na concentração de 391,0 mg L⁻¹ (Fig. 6D).

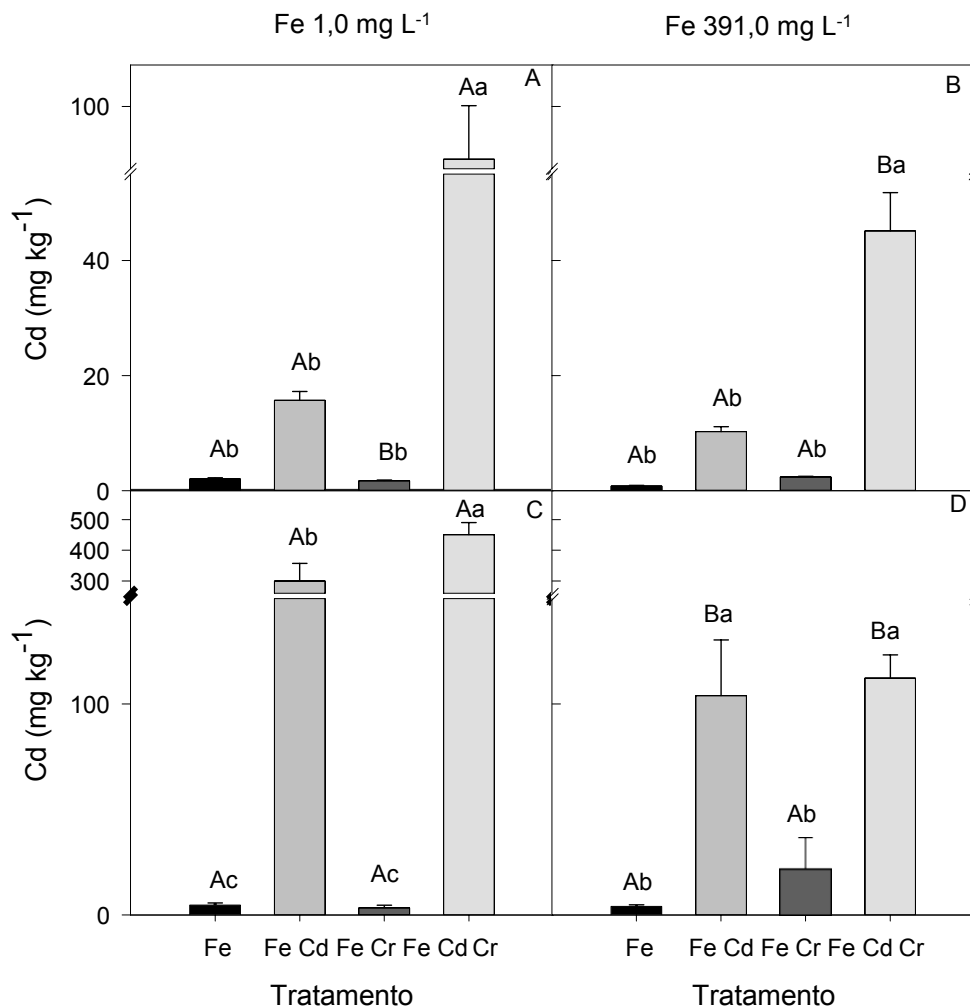


Figura 6: Teores de Cd na parte aérea (A e B) e raiz (C e D) de *Paspalum densum* exposta a diferentes tratamentos em solução nutritiva com Fe 1,0 mg L⁻¹ (A e C) e com 391,0 mg L⁻¹ (B e D). As médias ± erro padrão de cinco repetições representadas por barras. Letras iguais não apresentam variabilidade estatística segundo teste Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam diferentes tratamentos em um mesmo gráfico e letras maiúsculas comparam os tratamentos em distintas concentrações de Fe e na mesma parte da espécie vegetal avaliada.

Não houve variação estatística significativa nos teores de Fe na parte aérea e raízes de *Paspalum densum* (Fig. 7A e 7C) em meio de Fe 1,0 mg L⁻¹ para todos os tratamentos. Na concentração de Fe 391,0 mg L⁻¹, ocorreu incremento significativo nos teores de Fe na parte aérea das plantas nos tratamentos Fe Cr e Fe Cd Cr em relação aos tratamentos Fe e Fe Cd (Fig. 7B). Nas raízes das plantas expostas à maior concentração de Fe (Fig. 7D), não houve variação estatística significativa entre os tratamentos. Para efeito comparativo entre as concentrações de Fe houve variação estatística significativa para os tratamentos Fe Cd, Fe Cr e Fe Cd Cr (Fig. 7A e 7B), na parte aérea. Já em relação às raízes (Fig. 7C e 7D) não foi constatada variação estatística significativa entre os tratamentos em suas respectivas concentrações.

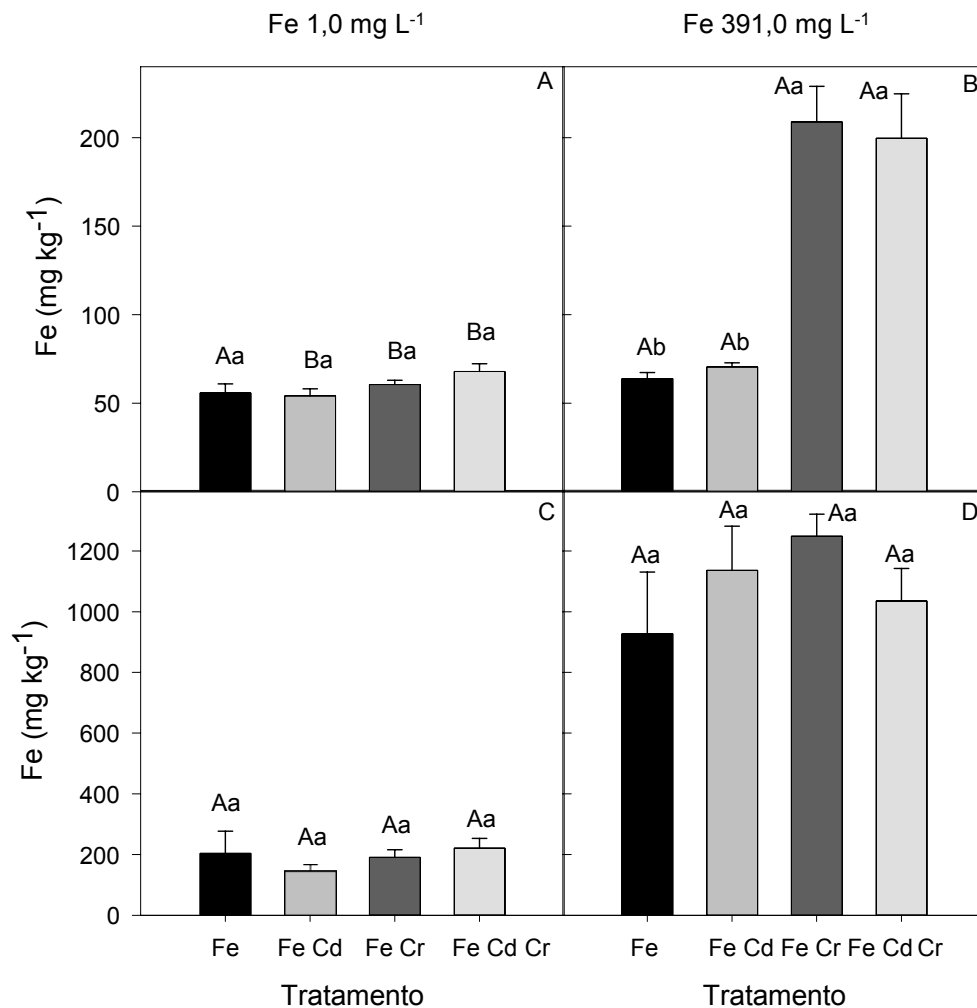


Figura 7: Teores de Fe na parte aérea (A e B) e raiz (C e D) de *Paspalum densum* exposta a diferentes tratamentos em solução nutritiva com Fe 1,0 mg L⁻¹ (A e C) e com Fe 391,0 mg L⁻¹ (B e D). As médias \pm erro padrão de cinco repetições representadas por barras. Letras iguais não apresentam variabilidade estatística segundo teste Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam diferentes tratamentos em mesmo gráfico e letras maiúsculas comparam os tratamentos em distintas concentrações de Fe e na mesma parte da espécie vegetal avaliada.

Os índices de clorofila nas plantas em meio com Fe 1,0 mg L⁻¹ (Fig. 8A) apresentaram queda contínua quando expostas aos seguintes tratamentos: Fe, Fe Cd, Fe Cr e Fe Cd Cr. Para a concentração com Fe 391,0 mg L⁻¹ (Fig. 8B), foi verificada redução significativa nos valores de clorofila somente para as plantas expostas aos tratamentos Fe Cr e Fe Cd Cr. Em comparação às duas concentrações de Fe avaliadas, ocorreram valores de clorofila significativamente maiores para a concentração de 391,0 mg L⁻¹ para o tratamento Fe Cd Cr (Fig. 8A e 8B). Os valores de F_v/F_m para as plantas expostas à concentração 1,0 mg L⁻¹ de Fe (Fig. 8C) apresentaram redução significativa somente no tratamento Fe Cd Cr em relação aos tratamentos Fe e Fe Cd. Para a

concentração de Fe 391,0 mg L⁻¹, ocorreu redução significativa nos valores de F_v/F_m somente entre os tratamentos Fe e Fe Cr (Fig. 8D).

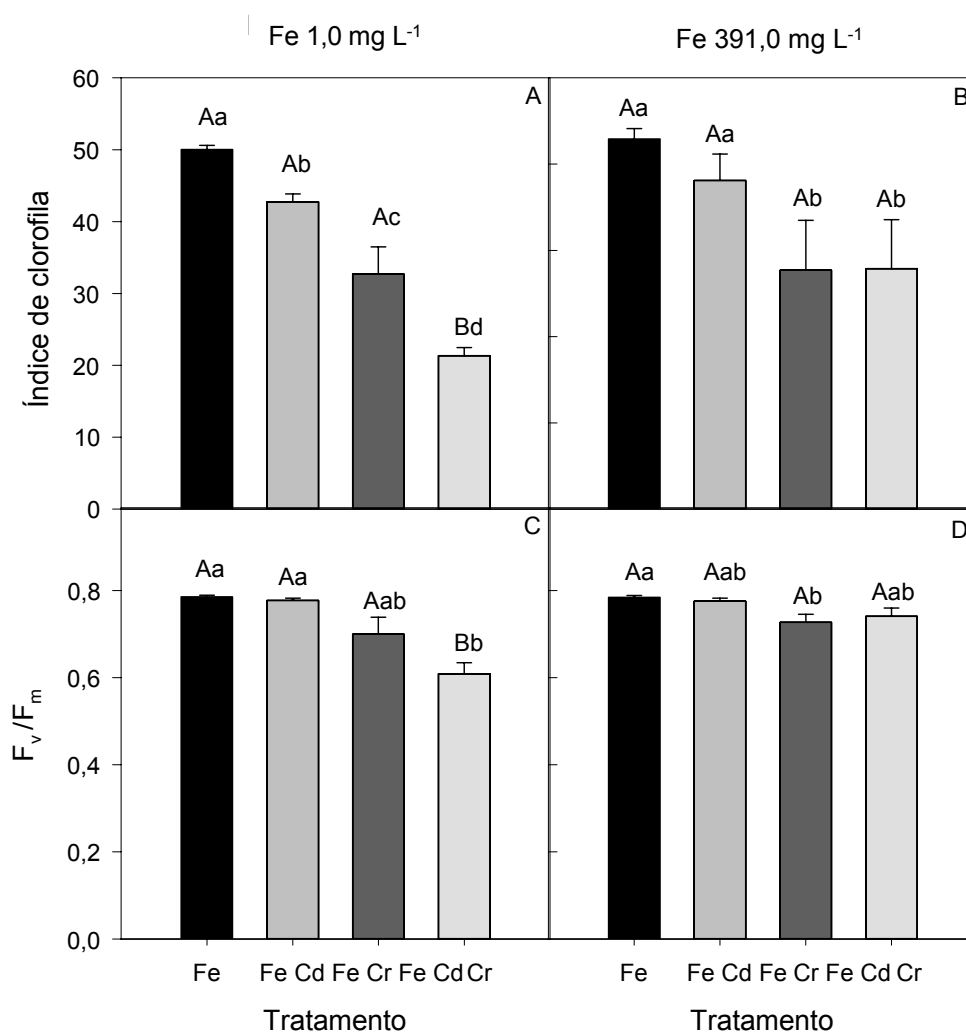


Figura 8: Índice de Clorofila (A e B) e eficiência quântica máxima do FSII (F_v/F_m , C e D) em plantas de *Paspalum densum* expostas a diferentes tratamentos em solução nutritiva com de Fe 1,0 mg L⁻¹ (A e C) e Fe 391,0 mg L⁻¹ (B e D). As barras correspondem às médias \pm erro padrão de cinco repetições. Letras iguais não apresentam variabilidade estatística segundo teste Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam diferentes tratamentos em mesmo gráfico e letras maiúsculas comparam tratamentos em concentrações de Fe distintas.

A fotossíntese (A), condutância estomática (g_s) e transpiração (E) de *Paspalum densum* na concentração Fe 1,0 mg L⁻¹ (Fig. 9A), apresentaram decréscimos significativos entre os tratamentos avaliados, exceto entre os tratamentos Fe Cr e Fe Cd Cr (Fig. 9A, C e E). Em relação à concentração de Fe 391,0 mg L⁻¹, ocorreram reduções significativas em A, g_s e E somente nos tratamentos com a presença de Cr (Fe Cr e Fe Cd Cr) (Fig. 9B). Em comparação às concentrações de Fe no meio, ocorreu maior valor de fotossíntese para concentração 1,0 mg L⁻¹ no tratamento

Fe. As plantas do tratamento Fe Cd apresentaram valores significativamente maiores na concentração $391,0 \text{ mg L}^{-1}$ para as variáveis A , g_s e E em comparação ao Fe $1,0 \text{ mg L}^{-1}$, os demais tratamentos não sofrem variação estatística. A razão Ci/Ca apresentou maior valor no tratamento Fe Cd Cr para as duas concentrações avaliadas, não apresentando variação estatística significativa entre as duas. De forma similar o mesmo ocorre para os demais tratamentos que apresentam valores pouco superiores para a concentração de Fe $391,0 \text{ mg L}^{-1}$ em relação à de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$.

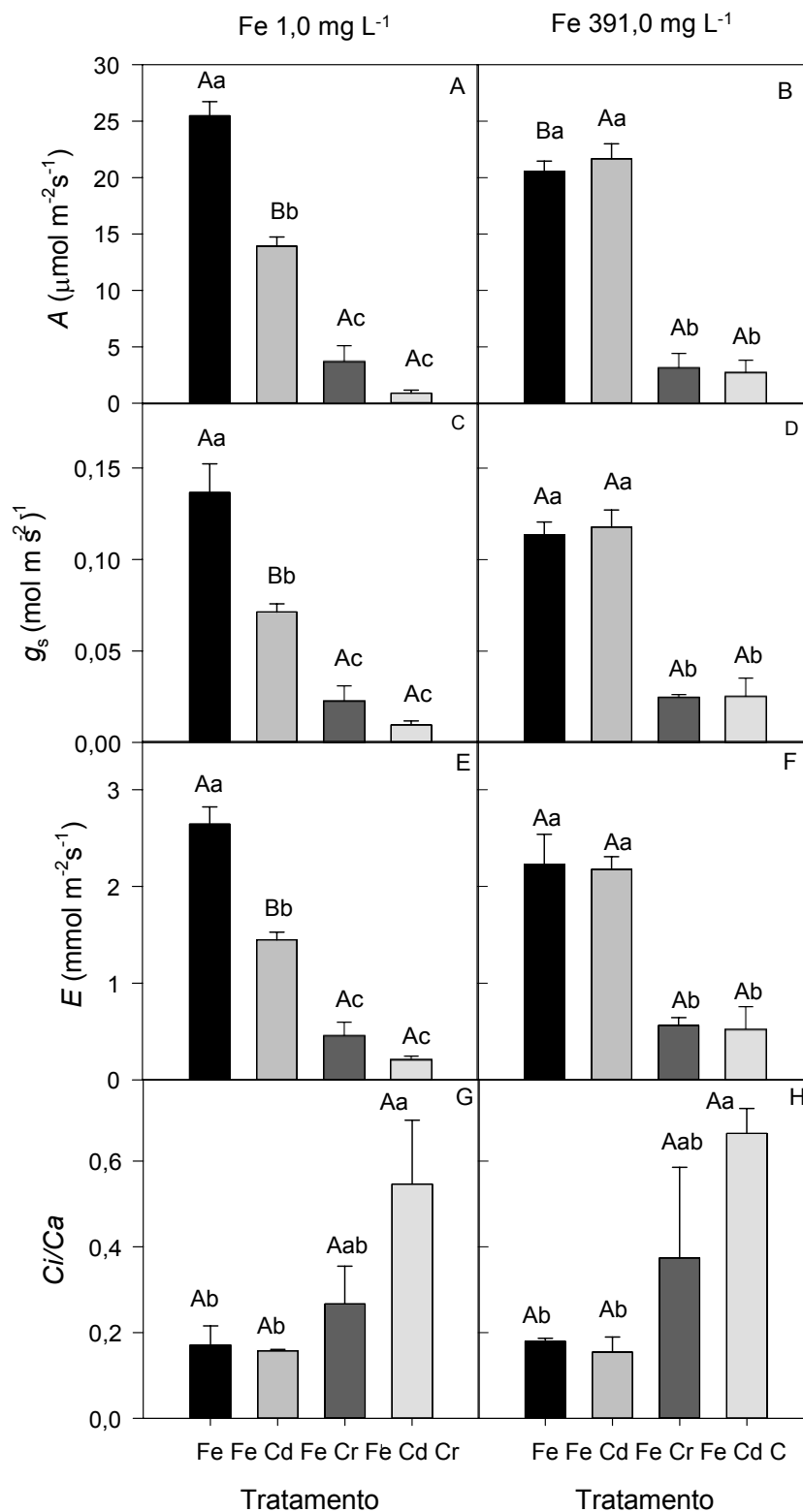


Figura 9: Fotossíntese líquida (A, A e B), condutância estomática (g_s , C e D) transpiração (E, E e F) e razão entre a concentração de CO₂ dos meios interno e externo (Ci/Ca, G e H) em plantas de *Paspalum densum* expostas a diferentes tratamentos em solução nutritiva com Fe 1,0 mg L⁻¹ (A, C, E, G) e 391,0 mg L⁻¹ (B, D, F, H). As barras correspondem às médias \pm erro padrão de cinco repetições. Letras iguais não apresentam diferença estatística segundo teste Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam diferentes tratamentos em mesmo gráfico e letras maiúsculas comparam tratamentos em concentrações de Fe distintas.

A massa seca da parte aérea, raiz e massa seca total das plantas nas concentrações de Fe 1,0 mg L⁻¹ e 391,0 mg L⁻¹ foram significativamente afetadas pela exposição somente aos tratamentos com Cr (Fe Cr e Fe Cd Cr) (Fig. 10 A e B). Não ocorreu variação estatística significativa nos valores de massa seca da parte aérea, raiz e total das plantas na comparação dos tratamentos entre as concentrações de Fe. Os teores de massa seca total das plantas expostas aos tratamentos Fe Cd Cr nas concentrações de Fe 1,0 mg L⁻¹ e 391,0 mg L⁻¹ apresentaram redução estatística significativa em relação aos tratamentos Fe Cd (Fig. 10 E e 10 F).

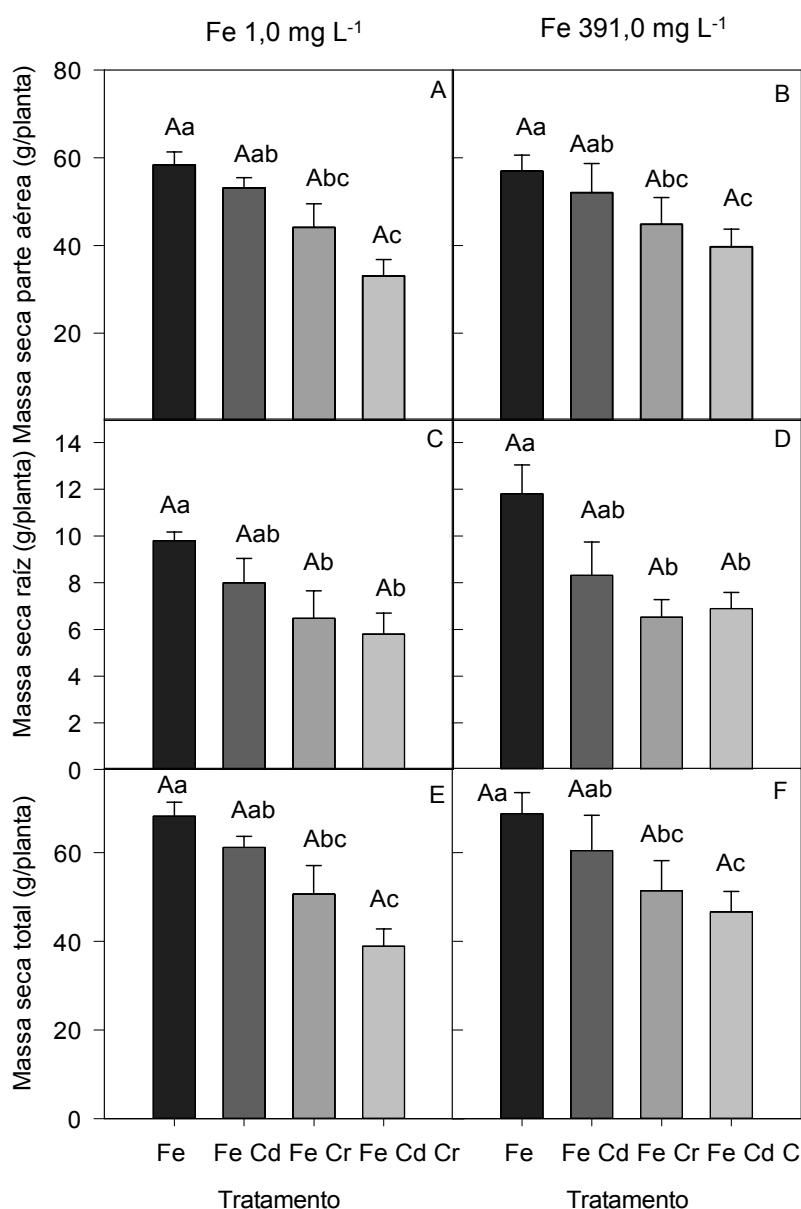


Figura 10: Massa Seca parte aérea (A e B), massa seca raiz (C e D) e massa seca total (E e F) em plantas de *Paspalum densum* expostas a diferentes tratamentos com Fe 1,0 mg L⁻¹ (A, C, E) e 391,0 mg L⁻¹ (B, D, F) . As barras indicam a médias ± erro padrão. Letras iguais não apresentam diferença estatística segundo o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam diferentes tratamentos em um mesmo gráfico. Letras maiúsculas comparam tratamentos em concentrações de Fe distintas.

5. DISCUSSÃO

Certas espécies de plantas como a *Paspalum densum*, desenvolveram mecanismos envolvendo absorção, acumulação e translocação de elementos metálicos como o Fe em concentrações potencialmente tóxicas (acima de 500 mg kg^{-1}) para os vegetais; (RIOS *et al.*, 2017; SIQUEIRA-SILVA *et al.*, 2019). Em geral, as concentrações de Cr e Cd encontrados em *P. densum* estão muito acima dos limites permitidos em plantas e recomendados pela organização mundial da saúde (OMS) de $1,30 \text{ mg kg}^{-1}$ e $0,02 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente (NAZIR *et al.*, 2015). Já na dose de 5 mg L^{-1} houve acúmulos de Cr e Cd ($72,48$ e $11,04 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente) superiores ao limite considerado fitotóxico para ambos os metais na maioria das espécies vegetais, que ocorre na faixa entre $5-30 \text{ mg kg}^{-1}$ (KABATA-PENDIAS, 2011). Entretanto, os sintomas visuais de toxidez pelo excesso de Cr somente ocorreram a partir da concentração de 20 mg L^{-1} , com leves sinais de clorose e alteração na gutação da planta. Uma comparação para a capacidade de tolerância ao Cd e Cr em *P. densum* foi realizada com base nos valores de referência (VR) para os limites máximos admissíveis em solos, segundo a Agência de Proteção Ambiental dos EUA (US-EPA), que são de $21,0 \text{ mg kg}^{-1}$ de solo para o Cr (total) e $5,2 \text{ mg kg}^{-1}$ de solo para o Cd (RAHMAN e SINGH, 2019; USEPA, 2012). Enquanto que os limites máximos permitidos em solos agricultáveis na Europa estão nas faixas de $50-200 \text{ mg kg}^{-1}$ para o Cr (total) e de $1-5 \text{ mg kg}^{-1}$ para o Cd (KABATA-PENDIAS, 2011). Na legislação brasileira os VR para o Cr são menos rigorosos, sendo 150 mg kg^{-1} para o Cr em solos agrícolas e $3,0 \text{ mg kg}^{-1}$ para o Cd (CONAMA, 2009).

O potencial fitorremediador das espécies vegetais é diferenciado em relação aos diferentes metais pesados. Espécies vegetais hiperacumuladoras são definidas como aquelas que apresentam capacidade de se desenvolver em ambientes com elevadas concentrações de metais pesados (BROOKS *et al.*, 1977), através de mecanismos que permitem um acúmulo maior destes metais na parte aérea em relação às raízes (BAKER *et al.*, 1994; SARWAR *et al.*, 2017). Podem ser consideradas hiperacumuladoras aquelas espécies que acumularem valores de cromo $> 1000 \text{ mg kg}^{-1}$ e de cádmio $> 10 \text{ mg kg}^{-1}$ nos órgãos aéreos sem sofrerem danos fitotóxicos (VERBRUGGEN, 2008; RASCIO, 2011). *P. densum* apresentou teores de Cr na parte aérea $> 1000 \text{ mg kg}^{-1}$ somente para a concentração de 40 mg L^{-1} de Cr. Em termos quantitativos, a espécie poderia ser considerada hiperacumuladora em relação ao Cr, entretanto a ação fitotóxica foi severa, comprovada tanto por aspectos visuais (clorose e diminuição da gutação), quanto pelo decaimento dos índices de clorofila e aumento dos teores de H_2O_2 e MDA. Em relação ao Cd, houve acúmulo $> 10 \text{ mg kg}^{-1}$ para todas as

concentrações avaliadas. Entretanto somente para as concentrações de 20 mg L⁻¹ de Cd, a *P. densum* apresenta respostas positivas quanto à tolerância da planta, tanto quantitativa quanto qualitativamente; apresentando manutenção dos índices de clorofila, F_v/F_m e dos teores de H₂O₂ e MDA na parte aérea. Visualmente a planta não apresentou indícios perceptíveis de clorose e de diminuição drástica de gutação nas folhas, o que permitiria classificar a *P. densum* como espécie hiperacumuladora para Cd, embora a região acumuladora mais efetiva da espécie tenha sido nas raízes. Segundo Rascio (2011) uma espécie hiperacumuladora possui também algumas características específicas: taxa de absorção de metais pesados elevada; sistema radicular com mecanismo de translocação de nutrientes mais eficiente; e um maior potencial de desintoxicação, captura e retenção de metais pesados na parte aérea.

Paspalum densum foi mais efetiva no acúmulo do Cr em relação ao Cd tanto na parte aérea (cerca de 16 vezes maior para as concentrações de 20 e 40 mg L⁻¹), quanto nas raízes (cerca de 15 e 19 vezes maior para as concentrações de 20 e 40 mg L⁻¹, respectivamente). O Cr gerou sobre a espécie vegetal efeitos deletérios mais significativos do que o Cd. Os produtos da formação de EROs e danos oxidativos (H₂O₂ e MDA) mensurados em teores superiores nas plantas com maior absorção de Cr, tanto parte aérea quanto raízes, sugerem que os mecanismos de defesa da *Paspalum densum* se mostram mais eficientes em relação ao Cd.

A redução nos índices de clorofila em 54,00 % e nos valores de F_v/F_m em 40,56% nas plantas expostas à concentração de 20 mg L⁻¹ de Cr em relação à concentração de referência (0 mg L⁻¹), indica efeitos severos no processo fotoquímico, o que pode levar a redução na taxa fotossintética, proporcionando menor acúmulo de biomassa (SHAHID *et al.*, 2017). Os efeitos negativos de concentrações crescentes de Cr no F_v/F_m de *Paspalum densum*, principalmente nas concentrações de 20 e 40 mg L⁻¹ indicam danos severos ao aparato fotossintético. O cromo, como boa parte dos metais pesados, apresentam interações bioquímicas que agem diretamente sobre a fotossíntese. O respectivo metal pode agir conforme a espécie vegetal estudada sobre as funções do cloroplasto, em sua redução quantitativa além de modificações na região do tilacóide (PANDA e CHOUDHURY, 2005). Por outro lado, a exposição das plantas ao tratamento com Cd resultou apenas em uma redução não significativa de 6,63% entre as médias dos tratamentos de 0 e 20 mg L⁻¹ e redução significativa de 26,91% entre as médias dos tratamentos de 0 e 40 mg L⁻¹ de Cd. Indicando que somente concentrações bastante elevadas de Cd podem afetar os índices de

clorofila em *P. densum*. A redução dos níveis de clorofila na maior dose de Cd pode se justificar pela sua ação inibidora sobre a cadeia transportadora de elétrons do cloroplasto ou pela deficiência de Fe e Mg induzida pelo Cd (GUIMARÃES *et al.*, 2008; KURDZIEL *et al.*, 2004). Entretanto, os valores de F_v/F_m inalterados em função do Cd, indicam ausência de danos no aparato fotossintético de *Paspalum densum* durante o tempo de exposição. O período de 7 dias, pode não ter sido suficiente para gerar estresse severo no funcionamento do FS II. A ação tóxica do Cd é mais acentuada no FS II do que no FS I, e seus efeitos sobre a redução da disponibilidade de Fe no meio pode intensificar esta condição, atuando diretamente sobre a ferredoxina e a enzima ferredoxina NADP⁺ oxi-redutase (HONEYCUTT e KROGMANN, 1972; SIEDLECKA e BASZ ŃSKI, 1993; ŠERŠE Ń *et al.*, 1993; MYŚLIWA-KURDIZIEL, 2010).

O excesso dos metais pesados como o Cr e o Cd interagem quimicamente com o metabolismo das plantas resultando na produção de EROs (SHAHID *et al.*, 2017). Entretanto, na parte aérea de *Paspalum densum* somente o excesso de Cr resultou em aumento significativos na produção de EROs como o H₂O₂ dose de 10 mg L⁻¹, o que pode ter contribuído para a redução nos valores de F_v/F_m e clorofilas. O aumento nos teores de peróxido (H₂O₂) em 75,24% na concentração de 20 mg L⁻¹ de Cr em relação às raízes indica que o estresse oxidativo na parte aérea foi mais expressivo do que nas raízes para a toxidez por excesso de Cr. Ao contrário, os teores de H₂O₂ maiores nas raízes (56,29% na concentração 20 mg L⁻¹ e 39,85% na concentração 40 mg L⁻¹) em relação aos verificados na parte aérea em resposta ao Cd pode ser resultado da acumulação de Cd nas raízes, principalmente no vacúolo, sendo menos efetivo os teores do metal transportado para parte aérea (MILNER e KOCHIAN, 2008). Outro aspecto relevante é que mesmo dobrando a concentração de Cr, o percentual de H₂O₂ se manteve muito similar, indicando um possível controle da formação ou aumento da degradação de peróxidos por mecanismos enzimáticos e não enzimáticos. A presença do Cr pode levar a planta a uma superprodução de EROs, de várias formas, sendo uma delas via Fenton ou Haber – Weiss e via redução do Cr⁶⁺ para Cr³⁺ (SINGH *et al.*, 2013; SHANKER *et al.*, 2005). O Cr³⁺ agindo como catalisador em sistema de reação de Fenton e em reações de redox nas reações metabólicas das plantas (PANDA e CHOUDHURY, 2005).

Apesar da produção significativa de EROs, como o H₂O₂ na presença de Cr, o fato de que os teores de MDA, que é um produto da peroxidação lipídica, não tenham se elevado significativamente, indica que não houve dano oxidativo severo (POURRUT *et al.*, 2013). Os

teores de H₂O₂ e MDA são indicadores de que a planta foi submetida, ou passa por condições de estresse e no caso específico por estresse abiótico pela exposição a metais pesados. As interações bioquímicas com os metais pesados geram alterações nas condições de homeostase das espécies vegetais via estresse oxidativo. O Cr como agente estressor, gera sintomas em toda a planta, em termos da geração das EROs podendo acarretar alterações significativas nas estruturas celulares das plantas: oxidação de lipídios e proteínas, interações químicas danificando os ácidos nucleicos, inibição de enzimas e podendo até mesmo culminar com morte celular (ADREES *et al.*, 2015; ANJUM *et al.*, 2017). O Cd age reduzindo ação de enzimas antioxidativas, além de interferir no sistema de defesa antioxidativo não enzimático (glutationa reduzida – GSH), a redução de glutationa no meio pode aumentar a presença de espécies reativas de oxigênio (EROs) (NOCITO *et al.*, 2002; PIETRINI *et al.*, 2003; DEVI e PRASAD, 2004; GUIMARÃES *et al.*, 2008). Os processos de oxirredução gerados pelas condições de estresse levam à geração de estruturas químicas a partir de interações com oxigênio: peróxido de hidrogênio (H₂O₂), radical hidroxila (OH*), ânion superóxido (O₂*⁻), oxigênio singlete (¹O₂), estruturas com interações tóxicas sobre as condições de equilíbrio das plantas (ROMERO-PUERTAS *et al.*, 2006; SHARMA e DUBEY, 2007; RIOS, 2017; SHAHID *et al.*, 2017).

A capacidade de absorção do Cr na parte aérea foi atenuada com a presença do excesso de Fe na solução nutritiva. A elevação da concentração de Fe 1,0 mg L⁻¹ para 390,9 mg L⁻¹ acarretou redução de 55,67% e 45,80% nos teores de Cr na parte aérea nos tratamentos Fe Cr e Fe Cd Cr, respectivamente. Estudos com a espécie *Zea mays* L. demonstraram de forma contrária, que a acumulação de Cr na parte aérea após 7 dias de tratamento e em concentrações com excesso de Fe foi potencializada em cerca de 71% (MALLICK *et al.*, 2010), indicando um comportamento distinto entre espécies em relação à absorção de Fe e Cr. Concentrações de Fe em excesso nas raízes favorecem ação fitotóxica do metal permitindo a sua absorção e acumulação nos tecidos ou pela formação de placas de Fe na superfície das raízes o que inibe a absorção de nutrientes (SIQUEIRA-SILVA *et al.*, 2019). A formação de uma “superfície metálica” pode favorecer reações de oxirredução entre o Fe e outras estruturas químicas. Cátions de cromo hexavalente ocorrem normalmente no ambiente associados como íons oxigenados: CrO₄²⁻ (cromato), Cr₂O₇²⁻ (dicromato), HCrO₄⁻ (hidrocromato). As conformações nas estruturas iônicas entre cromo e oxigênio, proporcionam uma similaridade com as respectivas conformações espaciais de PO₄³⁻ (fosfatos) e SO₄²⁻ (sulfatos) permitindo a ação das estruturas transportadoras das plantas,

retirando o Cr do meio, mantendo uma concentração significativa deste na região radicular e a sua translocação em direção à parte aérea (SHAHID *et al.*, 2017). Segundo Mallick (2010), para a espécie *Zea mays* L. a absorção de fosfatos nas raízes sofre redução após a adição de Fe, em cerca de 25%. Esta retenção de fosfatos pode ser justificada pela formação de placas de Fe nas raízes que podem se formar em excesso de Fe (SIQUEIRA-SILVA *et al.*, 2019), onde possivelmente reações de oxirredução entre Fe e Cr⁶⁺, convertem este para a estrutura Cr³⁺, entretanto no caso da *P. densum*, apesar da absorção de ferro significativa, não foi verificado para o experimento a formação significativa de placas de Fe nas raízes, provavelmente em função da fonte de Fe utilizada no experimento, tanto Mallick (2010) e Siqueira-Silva *et al.* (2019) utilizaram sulfato ferroso (FeSO₄), no experimento realizado a fonte foi o citrato de ferro, possivelmente as interações dos íons citrato junto ao Cr e Fe interferiram na formação destas placas.

De forma similar ao Cr, o aumento da concentração de Fe nos tratamentos Fe Cd e Fe Cd Cr, gerou queda de 34,71% e 48,27% nos teores de Cd na parte aérea e 65,34% e 75,11% nas raízes, respectivamente. A diminuição dos teores de Cd pode ser justificada em função da competição entre os íons metálicos. Solos e ou substratos ricos em Zn e Fe interagem quimicamente com as estruturas de absorção e translocação do Cd, restringindo assim a absorção do metal tanto nas raízes quanto na parte aérea. O Cd compete com o Fe por sítios com potencial de absorção localizados na membrana plasmática, o que contribui para geração de clorose na planta (GUIMARÃES *et al.*, 2008; KABATA-PENDIAS e PENDIAS, 2000).

Os teores de Fe na parte aérea da *Paspalum densum* para a concentração 390,9 mg L⁻¹ (Fig. 7 B) indicaram que a exposição da planta ao excesso de Cr no tratamento Fe Cr resultou em aumento na absorção de Fe na ordem de 69,37%, da mesma forma que no tratamento Fe Cd Cr que foi de 67,96%. Nos dois tratamentos a presença de Cr potencializou a absorção de Fe por parte da espécie vegetal.

As interações entre os metais pesados, com aumentos significativos nos teores de Fe, Cd e Cr das plantas nos tratamentos com combinação destes metais, geraram variações de teores nos índices de clorofila e F_v/F_m para os meios avaliados. A concentração de Fe 391,0 mg L⁻¹ atenuou os efeitos tóxicos do Cr sobre a eficiência quântica máxima do FS II. O percentual de incremento nos valores de F_v/F_m com a elevação da concentração de Fe de 1,0 para 391,0 mg L⁻¹ foi de 14,12% para o tratamento Fe Cd Cr. Os índices de clorofila também apresentaram aumento em função do aumento da concentração de Fe, o valor vai de 21,35

(Fe 1,0 mg L⁻¹) para 27,87 (Fe 391,0 mg L⁻¹) nas plantas do tratamento Fe Cd Cr. A presença de Cr nos tratamentos é o principal responsável pelas reduções significativas nos valores do índice de clorofila e F_v/F_m , indicando assim o metal como gerador de estresse abiótico na espécie vegetal avaliada. Os valores de F_v/F_m sofreram reduções pelas interações do Cr devido às alterações no transporte de elétrons da cadeia fotossintética, alterações nas atividades enzimáticas, no processo de fixação de CO₂ e interferências na fotofosforilação (LIU *et al.*, 2008).

A maior toxidez do Cr em relação ao Cd é observada também avaliando-se as trocas gasosas de *P. densum*, onde as menores taxas de fotossíntese (*A*) com valores inferiores a 5 μmol⁻²s⁻¹ foram observadas nos tratamentos Fe Cr e Fe Cr Cd, independentemente da concentração de Fe no meio. A grande maioria dos metais afeta de forma geral a estrutura fotossintética das plantas, o Cr como agente estressor age diretamente sobre a fotossíntese, o transporte de elétrons, atividades enzimáticas, fixação de CO₂ e fotofosforilação (LIU *et al.*, 2008). O citado metal pode ainda causar modificações ultraestruturais no cloroplasto causando a inibição da fotossíntese (SHAHID *et al.*, 2017). O Cr afeta a condutância estomática, interferindo na absorção de água e nutrientes que afetam diretamente a divisão celular e o comprimento das raízes (SHAHID *et al.*, 2017).

A redução na taxa fotossintética com exposição ao Cd (tratamento Fe Cd) em meio com Fe 1,0 mg L⁻¹ pode ter ocorrido em função dos efeitos deste metal diretamente sobre a capacidade de absorção de nutrientes minerais das plantas. Estudos indicam que mesmo em concentrações onde o Cd não interfira em processos fotossintéticos é constatada reduções significativas na condutância estomática (GUIMARÃES *et al.*, 2008; BARCELO e POSCHENRIDER, 1990). O Cd pode ainda induzir a planta a liberar Ca²⁺ presentes no retículo endoplasmático ou vacúolo, aumentando a sua concentração no citosol e conseqüentemente gerar uma redução da abertura estomática e a redução de carbono para a fotossíntese o que afeta o desenvolvimento da planta (PERFUS-BARBEOCH *et al.*, 2002). O incremento da concentração de Fe também reflete melhora nas trocas gasosas sobre os tratamentos com a presença de Cd, provavelmente devido aos mecanismos de resistência ao excesso de Fe apresentados por *P. densum* (RIOS *et al.*, 2017; SIQUEIRA-SILVA, *et al.*, 2019). O Fe como micronutriente essencial às plantas atua em vários processos metabólicos, como componentes de cofatores enzimáticos que atuam catalisando reações redox em processos metabólicos, como cofator nos fotossistemas das plantas, além de ser essencial para a biossíntese de clorofila (PINTO *et al.*, 2016). O aumento na concentração de Fe pode

compensar a quantidade de elétrons atuantes via oxirredução o que poderia explicar a ação potencializadora positiva nos níveis de transpiração, condutância estomática e fotossíntese. O aumento na razão C_i/C_a nos tratamentos Fe Cr e Fe Cd Cr indica que além do efeito do Cr na etapa fotoquímica da fotossíntese (redução de F_v/F_m) a taxa fotossintética também é afetada por limitações bioquímicas envolvendo a atividade da rubisco (PEREIRA *et al.*, 2013), afetando também o ganho de massa seca ao final do experimento.

Os teores de massa seca independentemente da concentração de ferro no meio são afetados principalmente pelo efeito nocivo da presença de Cr inibindo o desenvolvimento das plantas. Isso ocorre em função do metal interferir de forma ampla sobre todo o metabolismo da *P. densum*, gerando um desenvolvimento de massa inferior ao comparados com as condições ausentes deste metal pesado.

6. CONCLUSÃO

A espécie vegetal *Paspalum densum* apresentou potencial como planta fitorremediadora para o Cd, apresentando nível de tolerância satisfatório até a concentração de 20 mg L⁻¹ de Cd em solução nutritiva, comum também em ambientes contaminados pelo metal. A avaliação das condições de estabilidade metabólica da planta constatadas pelas análises de índice de clorofila, F_v/F_m , teores de H₂O₂ e MDA como indicadores de estresse abiótico, comprovaram a possibilidade do uso da *P. densum* como espécie fitorremediadora para o Cd.

Em relação ao Cr a espécie vegetal apresentou absorção extremamente significativa, entretanto a interação do metal com a planta demonstra ser nociva às condições de estabilidade metabólica da *Paspalum densum*. As respostas obtidas demonstraram haver danos significativos à planta mediante a absorção deste metal. Apesar da *P. densum* interagir com o Cr com um comportamento de espécie hiperacumuladora, os efeitos gerados sobre a planta aparentemente a desqualifica como espécie fitorremediadora para o referido metal. Entretanto é necessário avaliar suas respostas em níveis de contaminação do solo com Cr, para melhor definição do uso da espécie como possível planta fitorremediadora.

Em relação às interações dos metais pesados, mesmo com a absorção de Fe inferior ao relatado na literatura quando em excesso, as respostas da espécie geraram resultados em termos de inibição da absorção de Cd e Cr. Em relação ao Cr, o aumento da concentração de Fe sugere também uma interferência no processo de translocação do metal em competição direta com um maior teor de Fe. De forma similar, o aumento da concentração de Fe agiu diretamente sobre a absorção do Cd, inibindo a mesma tanto nas raízes quanto na parte aérea. Em condições com baixo teor de Fe (1,0 mg L⁻¹), a interação com Cd favorece a absorção de Cr. Os teores de Cd diminuíram com aumento da concentração de Fe, o mesmo ocorreu na presença de Fe e Cr. De forma geral foi observado que o aumento das concentrações de Fe inibiu a absorção dos metais avaliados, entretanto mesmo na presença de Fe em excesso ainda é possível a *P. densum* ser classificada como espécie vegetal fitorremediadora e acumuladora dos metais pesados, principalmente o Cd. Em função destas avaliações pode-se concluir que a utilização da *P. densum* como espécie fitorremediadora em ambientes com excesso de ferro e contaminados por metais Cd e Cr é viável mediante os níveis de contaminação dos metais Cr e Cd verificados na área de plantio da espécie.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADREES, M. *et al.* Mannitol alleviates chromium toxicity in wheat plants in relation to growth, yield, stimulation of anti-oxidative enzymes, oxidative stress and Cr uptake in sand and soil media. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 122, p.1-8, 2015.

AHMAD, P. *et al.* Calcium and potassium supplementation enhanced growth, osmolyte secondary metabolite production, and enzymatic antioxidant machinery in cadmium-exposed chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Frontiers in plant science**, v. 7, p.513, 2016.

ALVES, A. U. *et al.* Desenvolvimento e estado nutricional da beterraba em função da omissão de nutrientes. **Horticultura Brasileira**, p.292-295, 2008.

ALVES, L. R. *et al.* Cadmium stress related to root-to-shoot communication depends on ethylene and auxin in tomato plants. **Environmental and experimental botany**, v. 134, p.102-115, 2017.

ANA - Agência Nacional de Águas, COPASA - Companhia de Saneamento de Minas Gerais, CPRM - Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais, IGAM – Instituto Mineiro de Gestão das Águas, **Informativo dos parâmetros de qualidade das águas nos locais monitorados ao longo do Rio Paraopeba, após o desastre na barragem B1 no complexo da Mina Córrego Feijão da Mineradora Vale/SA no município de Brumadinho – Minas Gerais.** Informativo número 42, p.1-166, 2019.

ANA - Agência Nacional de Águas. **Encarte Especial Sobre a Bacia do Rio Doce – Rompimento da Barragem em Mariana – MG.** (Superintendência de Planejamento de Recursos Hídricos – SPR/Ministério do Meio Ambiente, Brasília DF), 2016.

ANJUM, S. A. *et al.* Phyto-toxicity of chromium in maize: oxidative damage, osmolyte accumulation, anti-oxidative defense and chromium uptake. **Pedosphere**, v. 27, n. 2, p.262-273, 2017.

BAKER, A. J. M. *et al.* Heavy metal accumulation and tolerance in British populations of the metallophyte *Thlaspi caerulescens* J. & C. Presl (*Brassicaceae*). **New Phytologist**, v. 127, n. 1, p.61-68, 1994.

BARCELÓ, J. U. A. N.; POSCHENRIEDER, C. Plant water relations as affected by heavy metal stress: a review. **Journal of plant nutrition**, v. 13, n. 1, p.1-37, 1990.

BASZYNSKI, T. *et al.* Photosynthetic activities of cadmium-treated tomato plants [net photosynthesis, plastid pigments, lipoquinones, photosystems, chloroplast structure, cadmium, manganese]. **Physiologia Plantarum** (Denmark), 1980.

BHARGAVA, A. *et al.* Approaches for enhanced phytoextraction of heavy metals. **Journal of environmental management**, v. 105, p. 103-120, 2012.

BOLAN, N. *et al.* Remediation of heavy metal (loid) s contaminated soils—to mobilize or to immobilize? **Journal of Hazardous Materials**, v. 266, p.141-166, 2014.

- BROOKS, R. R. *et al.* Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium specimens of indicator plants. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 7, p.49-57, 1977.
- CAVALCANTE, V.S. *et al.* Biomassa e extração de nutrientes por plantas de cobertura. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental-Agriambi**, v. 16, n. 5, 2012.
- CHANDRA, R. P. *et al.* Distribution of Bio-accumulated Cd and Cr in two *Vigna* species and the Associated Histological Variations. **Journal of Stress Physiology & Biochemistry**, v. 6, n. 1, p. 04-12, 2010.
- CHEN, H. *et al.* Contamination features and health risk of soil heavy metals in China. **Science of the total environment**, v. 512, p.143-153, 2015.
- CHEN, Y. *et al.* Biosorption of Cr (VI) by *Typha angustifolia*: mechanism and responses to heavy metal stress. **Bioresource technology**, v. 160, p.89-92, 2014.
- CHEN, Y. *et al.* Spatial characteristics of heavy metal pollution and the potential ecological risk of a typical mining area: A case study in China. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 113, p.204-219, 2018.
- CHUGH, L. K.; SAWHNEY, S. K. Effect of cadmium on germination, amylases and rate of respiration of germinating pea seeds. **Environmental pollution**, v. 92, n. 1, p.1-5, 1996.
- CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente, resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009. **Publicação no Diário Oficial da União – DOU nº 249, de 30/12/2009**, p.81-84, 2009.
- DAI, L. *et al.* Resource recovery of Cr (VI) from electroplating wastewater: laboratory and pilot-scale investigation using fibrous weak anion exchanger. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 54, p.170-177, 2015.
- DE ARAÚJO, T. O. *et al.* Morphoanatomical responses induced by excess iron in roots of two tolerant grass species. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 3, p.2187-2195, 2015.
- DEVI, S. R.; PRASAD, M. N. V. Membrane lipid alterations in heavy metal exposed plants. In: **Heavy metal stress in plants**. Springer, Berlin, Heidelberg. p.99-116, 1999.
- DU, Z.; BRAMLAGE, W. J. Modified thiobarbituric acid assay for measuring lipid oxidation in sugar-rich plant tissue extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 9, p.1566-1570, 1992.
- DURUIBE, J. O. *et al.* Heavy metal pollution and human biotoxic effects. **International Journal of physical sciences**, v. 2, n. 5, p.112-118, 2007.
- EDERLI, L. *et al.* Responses induced by high concentration of cadmium in *Phragmites australis* roots. **Physiologia Plantarum**, v. 121, n. 1, p.66-74, 2004.
- ELZINGA, E. J.; CIRMO, A. Application of sequential extractions and X-ray absorption spectroscopy to determine the speciation of chromium in Northern New Jersey marsh soils

developed in chromite ore processing residue (COPR). **Journal of hazardous materials**, v. 183, p.145-154, 2010.

GENTY, B. *et al.* The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 990, n. 1, p.87-92, 1989.

GOMES, M. A. da C. *et al.* Plant chromium uptake and transport, physiological effects and recent advances in molecular investigations. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 140, p.55-64, 2017.

GONG, X. *et al.* Pyrolysis and reutilization of plant residues after phytoremediation of heavy metals contaminated sediments: For heavy metals stabilization and dye adsorption. **Bioresource technology**, v. 253, p.64-71, 2018.

GUIMARÃES, M. de A. *et al.* Toxicidade e tolerância ao cádmio em plantas. **Revista Trópica-Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 2, p.58-68, 2008.

HASHIM, M. A. *et al.* Remediation technologies for heavy metal contaminated groundwater. **Journal of environmental management**, v. 92, n. 10, p.2355-2388, 2011.

HATJE, V. *et al.* The environmental impacts of one of the largest tailing dam failures worldwide, **Scientific Reports**, v.7, n. 1, p.01-13, 2017.

HOAGLAND, D. R. *et al.* The water-culture method for growing plants without soil. Circular. **California agricultural experiment station**, v. 347, n. 2nd edit, 1950.

HONEYCUTT, R. C.; KROGMANN, D. W. Inhibition of chloroplast reactions with phenylmercuric acetate. **Plant physiology**, v. 49, n. 3, p.376-380, 1972.

HU, Y.; CHENG, H. Application of stochastic models in identification and apportionment of heavy metal pollution sources in the surface soils of a large-scale region. **Environmental science & technology**, v. 47, n. 8, p.3752-3760, 2013.

HUANG, Y. *et al.* Heavy metal pollution and health risk assessment of agricultural soils in a typical peri-urban area in southeast China. **Journal of environmental management**, v. 207, p.159-168, 2018.

KABATA-PENDIAS, A. Trace elements in soils and plants. 4th Edition, **CRC press**, p.105-106, 2011.

KABATA-PENDIAS, A. Trace elements in soils and plants. 3th Edition, **CRC press**, p.123 - 167, 2000.

LEE, J.S.; WHITE, K. L. A review of health effects. **America Journal of Industrial Medicine**, v.1, p.307-317, 2007.

LI, Z. *et al.* A review of soil heavy metal pollution from mines in China: pollution and health risk assessment. **Science of the total environment**, v. 468, p.843-853, 2014.

LIU, D. *et al.* Hexavalent chromium uptake and its effects on mineral uptake, antioxidant defence system and photosynthesis in *Amaranthus viridis* L. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 7, p.2628-2636, 2008.

LIU, H. *et al.* Metal contamination of soils and crops affected by the Chenzhou lead/zinc mine spill (Hunan, China). **Science of the Total Environment**, v. 339, n. 1-3, p.153-166, 2005.

LIU, L. *et al.* Remediation techniques for heavy metal-contaminated soils: principles and applicability. **Science of the Total Environment**, v. 633, p. 206-219, 2018.

LÖSCH, R. Plant Mitochondrial Respiration Under the influence of Heavy metals. In: PRASAD, M. N. V. (Ed.). **Heavy metal stress in plants: From biomolecules to ecosystem**. 2^a ed., India: Springer, p.183-200, 2010.

MAHAR, A. *et al.* Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: a review. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 126, p.111-121, 2016.

MAHMOOD, Q. *et al.* Phytoremediation using algae and macrophytes: I. In: ANSARI, A. *et al.* **Phytoremediation**. Switzerland: Springer. p. 265-289, 2015.

MALLICK, S. *et al.* Interactive effects of Cr and Fe treatments on plants growth, nutrition and oxidative status in *Zea mays* L. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, n. 5, p.987-995, 2010.

MARTINS, R. J. E. *et al.* Kinetic modelling of cadmium and lead removal by aquatic mosses. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 31, n. 1, p.229-242, 2014.

MILNER, M. ; KOCHIAN, L. V. Investigating heavy-metal hyperaccumulation using *Thlaspi caerulescens* as a model system. **Annals of botany**, v. 102, n. 1, p. 3-13, 2008.

MÜLLER, C. *et al.* Differential physiological responses in rice upon exposure to excess distinct iron forms. **Plant and Soil**, v. 391, n. 1-2, p.123-138, 2015.

MYŚLIWA-KURDZIEL, B. *et al.* Photosynthesis in heavy metal stressed plants. In: **Heavy Metal Stress in Plants**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2004. p.146-181.

NAZIR, R. *et al.* Accumulation of heavy metals (Ni, Cu, Cd, Cr, Pb, Zn, Fe) in the soil, water and plants and analysis of physico-chemical parameters of soil and water collected from Tanda Dam Kohat. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 7, n. 3, p. 89, 2015.

NOCITO, F. F. *et al.* Cadmium-induced sulfate uptake in maize roots. **Plant Physiology**, v. 129, n. 4, p.1872-1879, 2002.

OLIVEIRA, H. Chromium as an environmental pollutant: insights on induced plant toxicity. **Journal of Botany**, p.1-8, 2012.

OVES, M. *et al.* Soil contamination, nutritive value, and human health risk assessment of

heavy metals: an overview. **Toxicity of heavy metals to legumes and bioremediation**, p.1–27, 2012.

PANDA, S. K.; CHOUDHURY, S. Chromium stress in plants. **Brazilian journal of plant physiology**, v. 17, n. 1, p.95-102, 2005.

PERALTA, J. R. *et al.* Uptake and effects of five heavy metals on seed germination and plant growth in alfalfa (*Medicago sativa* L.). **Bulletin of Environmental Contamination and toxicology**, v. 66, n. 6, p.727-734, 2001.

PEREIRA, E. G. *et al.* Iron excess affects rice photosynthesis through stomatal and non-stomatal limitations. **Plant Science**, v. 201, p. 81-92, 2013.

PERFUS-BARBEOCH, L. *et al.* Heavy metal toxicity: cadmium permeates through calcium channels and disturbs the plant water status. **The Plant Journal**, v. 32, n. 4, p.539-548, 2002.

PIETRINI, F. *et al.* Interaction of cadmium with glutathione and photosynthesis in developing leaves and chloroplasts of *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudel. **Plant physiology**, v. 133, n. 2, p.829-837, 2003.

PINTO, S. de S. *et al.* Oxidative damage and photosynthetic impairment in tropical rice cultivars upon exposure to excess iron. **Scientia Agricola**, v. 73, n. 3, p. 217-226, 2016.

POURRUT, B. *et al.* Molecular mechanisms involved in lead uptake, toxicity and detoxification in higher plants. In: GUPTA, D. K. (Ed). **Heavy Metal Stress in Plants**. Berlin: Springer, p.121-147, 2013.

RABÊLO, F. H. S.; BORGIO, L. Changes caused by heavy metals in micronutrient content and antioxidant system of forage grasses used for phytoremediation: an overview. **Ciência Rural**, v. 46, n. 8, p.1368-1375, 2016.

RAHMAN, Z.; SINGH, V.P. The relative impact of toxic heavy metals (THMs) (arsenic (As), cadmium (Cd), chromium (Cr) (VI), mercury (Hg), and lead (Pb)) on the total environment: an overview. **Environmental monitoring and assessment**, v. 191, n. 7, p.419, 2019.

RASCIO, N.; NAVARI-IZZO, F. Heavy metal hyperaccumulating plants: how and why do they do it? And what makes them so interesting? **Plant science**, v. 180, n. 2, p.169-181, 2011.

REZANIA, S. *et al.* Comprehensive review on phytotechnology: heavy metals removal by diverse aquatic plants species from wastewater. **Journal of hazardous materials**, v. 318, p.587-599, 2016.

RIOS, C. O. *et al.* Assessment of Iron Toxicity in Tropical Grasses with Potential for Revegetating Mined Areas. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 26, n. 5, 2017.

RIOS, C. O. **Respostas Fisiológicas de Gramíneas ao Déficit Hídrico Visando a Revegetação de Pilha de Estéril**. Dissertação (Mestrado em Manejo e Conservação de Áreas Naturais e Agrárias) - *Campus Florestal*, **Universidade Federal de Viçosa, Florestal, MG** , 2017.

- ROMERO-PUERTAS, M. C. *et al.* Glutathione reductase from pea leaves: response to abiotic stress and characterization of the peroxisomal isozyme. **New phytologist**, v. 170, n. 1, p.43- 52, 2006.
- SALT, D. E. *et al.* Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. **Bio/technology**, v. 13, n. 5, p.468, 1995.
- SARRUGE, J. R. ; HAAG, H. P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, ESALQ, p.56, 1974.
- SARWAR, N. *et al.* Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: modifications and future perspectives. **Chemosphere**, v. 171, p.710-721, 2017.
- ŠERŠE Ń, F. *et al.*; Photosynthesis of *Chrorella vulgaris* as affected by diaqua (4-chloro-2-methylphenoxyacetat) copper (II) complex. **Bio Plant** n ° 38, p.71-75, 1996.
- SHAHID, M. *et al.* Chromium speciation, bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in soil-plant system: A review. **Chemosphere**, v. 178, p.513-533, 2017.
- SHANKER, A. K. *et al.* Chromium toxicity in plants. **Environment international**, v. 31, n. 5, p.739-753, 2005.
- SHARMA, P.; DUBEY, R. S. Involvement of oxidative stress and role of antioxidative defense system in growing rice seedlings exposed to toxic concentrations of aluminum. **Plant cell reports**, v. 26, n. 11, p.2027-2038, 2007.
- SHAW, B. P. *et al.* Heavy metal induced oxidative damage in terrestrial plants. In: **Heavy metal stress in plants**. Berlin: Springer, 2004. p.84-126.
- SHEORAN, I. S. *et al.* Effects of cadmium and nickel on in vivo carbon dioxide exchange rate of pigeon pea (*Cajanus cajan L.*). **Plant and soil**, v. 129, n. 2, p.243-249, 1990.
- SIEDLECKA, A.; BASZYŃASKI, T. Inhibition of electron flow around photosystem I in chloroplasts of Cd-treated maize plants is due to Cd-induced iron deficiency. **Physiologia Plantarum**, v. 87, n. 2, p.199-202, 1993.
- SILVEIRA, F. *et al.* Avoiding tailings dam collapses requires governance, partnership and responsibility. **Biodiversity and Conservation**, v. 28, n. 7, p.1933-1934, 2019.
- SINGH, H. P. *et al.* Chromium toxicity and tolerance in plants. **Environmental Chemistry Letters**, v. 11, n. 3, p.229-254, 2013.
- SIQUEIRA-SILVA, A. I. *et al.* Iron toxicity resistance strategies in tropical grasses: The role of apoplastic radicular barriers. **Journal of Environmental Sciences**, v. 78, p. 257-266, 2019.
- SONG, Y. *et al.* Cadmium absorption and transportation pathways in plants. **International Journal of Phytoremediation**, v.19, n. 2, p.133-141, 2016.
- SOUZA, A. E. **Resposta morfofisiológicas em plantas expostas à estressores abióticos decorrentes da exploração de minério de ferro**. Dissertação (Mestrado em Manejo e

Conservação de Áreas Naturais e Agrárias) - *Campus Florestal Universidade Federal de Viçosa – UFV*, 2016.

SOUZA, E. P. *et al.* Mecanismos de tolerância a estresses por metais pesados em plantas. **R. Bras. Agrociências**, v. 17, p.167-173, 2011.

STRITSIS, C.; CLAASSEN, N. Cadmium uptake kinetics and plants factors of shoot Cd concentration. **Plant and Soil**, v. 367, n. 1-2, p.591-603, 2013.

USEPA. U.S. Environmental Protection Agency, Summary of maximum allowable concentrations of chemical constituents in uncontaminated soil used as fill material at regulated fill operations (35 Ill. Adm. Code 1100. Subpart F). 2012. Disponível em: <http://www.epa.state.il.us/land/ccdd/new-max-allowable-concentrations-table.pdf> , Acesso em: 28 fev. 2019.

VAN OOSTEN, M. J.; MAGGIO, A. Functional biology of halophytes in the phytoremediation of heavy metal contaminated soils. **Environmental and experimental botany**, v. 111, p.135-146, 2015.

VANGRONSVELD, J. *et al.* Phytoremediation of contaminated soils and groundwater: lessons from the field. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 16, n. 7, p.765-794, 2009.

VELIKOVA, V. *et al.* Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. **Plant science**, v. 151, n. 1, p.59-66, 2000.

VERBRUGGEN, N. *et al.* Molecular mechanisms of metal hyperaccumulation in plants. **New phytologist**, v. 181, n. 4, p.759-776, 2009.

YAMAGUCHI, N. *et al.* Cadmium distribution in the root tissues of solanaceous plants with contrasting root-to-shoot Cd translocation efficiencies. **Environmental and experimental botany**, v. 71, n. 2, p.198-206, 2011.

ZENG, F. *et al.* Effects of chromium stress on the subcellular distribution and chemical form of Ca, Mg, Fe, and Zn in two rice genotypes. **Journal of Plant Nutrition and soil science**, v. 173, n. 1, p.135-148, 2010.

ZHAO, H. *et al.* Human health risk from soil heavy metal contamination under different land uses near Dabaoshan Mine, Southern China. **Science of the Total Environment**, v. 417, p.45-54, 2012.

ZHOU, H. *et al.* Heavy metal translocation and accumulation in iron plaques and plant tissues for 32 hybrid rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. **Plant and soil**, v. 386, n. 1-2, p.317-329, 2015.