

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL**  
**CAMPUS CERRO LARGO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AMBIENTE E TECNOLOGIAS**  
**SUSTENTÁVEIS**

**LAURA SPOHR BATISTA**

**ABSORÇÃO DE COBRE E POTENCIAL FITORREMEIADOR DE *LANTANA***  
***FUCATA* (Verbenaceae)**

**CERRO LARGO**

**2020**

**LAURA SPOHR BATISTA**

**ABSORÇÃO DE COBRE E POTENCIAL FITORREMEIADOR DE *LANTANA*  
*FUCATA* (Verbenaceae)**

Dissertação de Mestrado, apresentada Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Tecnologia Sustentáveis da Universidade Federal da Fronteira Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis.

Linha de Pesquisa: Desenvolvimento de Processos e Tecnologias

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Marlei Veiga dos Santos

Co-orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Carla Maria Garlet de Pelegrin

**CERRO LARGO**

**2020**

**Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS**

Batista, Laura Spohr

ABSORÇÃO DE COBRE E POTENCIAL FITORREMEIADOR DE  
LANTANA FUCATA (Verbenaceae) / Laura Spohr Batista. --  
2020.

71 f.:il.

Orientadora: Doutora Marlei Veiga dos Santos

Co-orientadora: Doutora Carla Maria Garlet de  
Pelegrin

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da  
Fronteira Sul, Programa de Pós-Graduação em Ambiente e  
Tecnologias Sustentáveis, Cerro Largo, RS, 2020.

1. Fitorremediação. Cobre.. I. Santos, Marlei Veiga  
dos, orient. II. Pelegrin, Carla Maria Garlet de,  
co-orient. III. Universidade Federal da Fronteira Sul.  
IV. Título.

**LAURA SPOHR BATISTA**

**ABSORÇÃO DE COBRE E POTENCIAL FITORREMEIADOR DE LANTANA  
FUCATA (Verbenaceae)**

Dissertação de Mestrado, apresentada Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Tecnologia Sustentáveis da Universidade Federal da Fronteira Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis.

Área de Concentração: Monitoramento, Controle e Gestão Ambiental

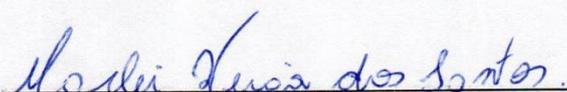
Linha de Pesquisa: Desenvolvimento de Processos e Tecnologias

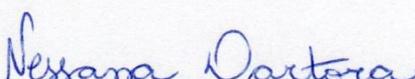
Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Marlei Veiga dos Santos.

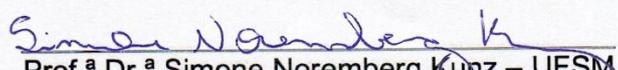
Co-orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Carla Maria Garlet de Pelegrin

Esta dissertação foi defendida e aprovada pela banca em: 27/10/2020.

**BANCA EXAMINADORA**

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Marlei Veiga dos Santos – UFFS

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Nessana Dartora – UFFS

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Simone NoreMBERG Kunz – UFSM

## AGRADECIMENTOS

Encontrar as palavras certas, que demonstram todo meu agradecimento, não é fácil. Pois acredito que, não importa o quanto eu agradeça, ainda não será o suficiente para expressar minha gratidão as pessoas que me apoiaram nesta caminhada.

Primeiro, gostaria de agradecer a minha orientadora, Professora Dr.<sup>a</sup> Marlei Veiga dos Santos, por ter aberto as portas da pesquisa para mim. Por todos os ensinamentos, apoio e dedicação envolvidos neste projeto. Sem esquecer, de todos os momentos no laboratório, para me fazer companhia, caso algum incidente acontecesse.

Segundo, mas não menos importante, a minha família que me apoiou e incentivou quando resolvi cursar pós-graduação. Em especial, a minha mãe Iolanda e ao meu companheiro Emerson, que não só me deram apoio emocional quando tudo parecia desabar, mas também me ajudaram a desenvolver a pesquisa e a cuidar das plantas quando necessário.

Terceiro, ao nosso grupo de pesquisa. Sem vocês nada disso seria possível, pelo menos seria muito, mas muito mais difícil. Lembro das primeiras tentativas de cultivar nossa planta, éramos apenas entre quatro (Eu, Prof.<sup>a</sup> Marlei, Prof.<sup>a</sup> Carla e Carlise), e naquela altura, eu não imaginava o trabalho que estava por vir. Meses depois, nosso grupo cresceu, e passamos a ser dez.

Preciso deixar registrado aqui, que vocês, Prof.<sup>a</sup> Marlei Veiga dos Santos, Prof.<sup>a</sup> Carla Maria Garlet de Pelegrin, Prof.<sup>a</sup> Nessana Dartora e Prof. Fabiano Cassol, são Super Professores. Vocês tiveram uma dedicação incrível neste projeto, colocaram a mão na massa do início ao fim, financiaram parte da pesquisa com dinheiro próprio, abdicaram do tempo de lazer para ir à casa de vegetação cuidar das plantas (em especial durante a pandemia). Eu tenho sorte por ter vocês como orientadores, vocês são minha inspiração!

Aos meus colegas de pesquisa, os Guardiões da Lantana, Carlise, Elias, Samuel, Bruna e Eduarda, pela amizade e companheirismo. Em especial, a Eduarda, pela ajuda e companheirismo nas longas horas no laboratório.

Aos Professores Renan Costa Beber Vieira e Douglas Rodrigo Kaiser pelo auxílio com o estudo e análise do solo.

Aos técnicos de laboratório e envolvidos na área experimental pelo auxílio.

A Universidade Federal da Fronteira Sul, a qual foi minha segunda casa por sete anos. Aqui, no *campus* Cerro Largo, tive muito aprendizagem desde a graduação, pós-graduação *Latu Sensu* e agora, pós-graduação *Scricto Sensu*.

A vocês, o meu MUITO OBRIGADA ♥ !

## RESUMO

A fitorremediação é uma tecnologia que utiliza a capacidade de algumas plantas para absorver, acumular, metabolizar, volatilizar ou estabilizar contaminantes presentes no meio ambiente, dentre estes os metais. O cobre (Cu) é um micronutriente essencial para o crescimento e desenvolvimento das plantas, contudo altas concentrações deste metal podem ser extremamente tóxicas para a vegetação. A aplicação de fungicidas cúpricos para o manejo das doenças em diversos tipos de culturas aumenta os teores de Cu nos solos. Assim, a pesquisa teve como objetivo avaliar a tolerância, a absorção e o acúmulo de Cu pela planta nativa da flora brasileira, *Lantana fucata*, em solo com altos teores do metal. Sendo assim foram conduzidos experimentos em casa de vegetação com ciclos de cultivo de 100 dias. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, correspondendo a adições de Cu ao solo nas concentrações de 70, 140, 210, 280, 420, 630, 840 mg kg<sup>-1</sup> e controle (sem adição). Os parâmetros avaliados pós-cultivo foram: fator de translocação (FT), fator de bioconcentração (FBC), taxa de extração do metal (TEM), índice de tolerância (IT), altura e massa seca. Com os resultados pode-se concluir que a *Lantana fucata* apresentou boa tolerância (IT > 100 %), em todos tratamentos, quando comparados com o tratamento 0 (IT=100 %). Também se mostrou eficiente na retenção desse metal, principalmente, nas raízes, obtendo-se FT <1 para ambos os experimentos e uma variação de FBC 0,73 a 7,41 para o experimento 1 e 0,18 a 4,68 para o experimento 2. A TEM apresentou variação média de 1,12 % e 3,88 % para o experimento 1 e 2, respectivamente, sendo menos efetiva no tratamento com a maior dose de Cu. Presumindo, assim, potenciais características fitorremediativas, através de um mecanismo de fitoestabilização, quando o solo apresentar contaminação de até 140 mg kg<sup>-1</sup>.

Palavras-chave: Fitoestabilização. Fitoextração. Planta nativa.

## ABSTRACT

Phytoremediation is a technology that uses the ability of some plants to absorb, accumulate, metabolize, volatilize or stabilize contaminants present in the environment, where it is possible to mention metals. Copper (Cu) is an essential micronutrient for plant growth and development, although high levels of this metal can be extremely toxic to vegetation. The application of cupric fungicides for the diseases management in different kind crops, increases the Cu content in soils. Therefore, a study aimed to evaluate the tolerance, absorption and accumulation of Cu, considering a native plant of the Brazilian flora, *Lantana fucata*, in soil with high levels of metal. Experiments were conducted in a greenhouse with cycles of cultivation of 100 days. The experimental design was completely randomized, corresponding to Cu additions to the soil in the operations of 70, 140, 210, 280, 420, 630, 840 mg kg<sup>-1</sup> of Cu and control (without addition). The post-cultivation derived parameters were: translocation factor (TF), bioconcentration factor (BC), metal extraction rate (MER), tolerance index (TI), height and dry mass. With the results it can be concluded that the *Lantana fucata* present good tolerance (IT > 100%), in all treatments, when compared with treatment 0 (IT = 100%). It was also efficient in the retention of this metal, mainly in the roots, obtaining FT < 1 for both experiments and a variation of FBC 0.73 to 7.41 for experiment 1 and 0.18 to 4.68 for the experiment. experiment 2. TEM showed an average variation of 1.12% and 3.88% for experiment 1 and 2, respectively, being less effective in the treatment with the highest dose of Cu. Assuming, therefore, potential phytoremediation characteristics, through a phytostabilization mechanism, when the soil presents contamination of up to 140 mg kg<sup>-1</sup>.

Keywords: Phytostabilization. Phytoextraction. Native plant.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Relação dos mecanismos de fitorremediação x contaminante .....	23
Tabela 2 - Quantidade de Cu adicionado no solo de cada tratamento. ....	31
Tabela 3 – Solução de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ g $\text{L}^{-1}$ (m/v) adicionados aos tratamentos. ....	33
Tabela 4 – Condições submetidas aos ensaios de abertura de planta por via seca. ....	40
Tabela 5 – Procedimentos de preparo de amostras de planta. ....	41
Tabela 6 – Análise físico-química do solo previa a contaminação por Cu. ....	48
Tabela 7 – Valores de pH do solo antes e depois do plantio. ....	52
Tabela 8 - Faixa de concentração linear e parâmetros de validação para determinação de Cu em amostras de solo e de planta por FAAS. ....	53
Tabela 9 – Exatidão e Precisão do método (n=3). ....	54
Tabela 10 – Teores de Cu ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) disponíveis no solo (antes e depois do plantio) e na planta para o experimento 1. ....	56
Tabela 11 – Teores de Cu ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) disponíveis no solo (antes e depois do plantio) e na planta para o experimento 2. ....	57
Tabela 12 – FT, FBC e acúmulo de Cu para o experimento 1. ....	59
Tabela 13 - FT, FBC e acúmulo de Cu para o experimento 2. ....	59
Tabela 14 – Valores da TEM para o experimento 1 e 2. ....	62

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mecanismos de fitorremediação para compostos orgânicos (a) e inorgânicos (b)..	21
Figura 2 – Representação dos caracteres morfológicos de <i>Lantana fucata</i> . ...	26
Figura 3 - <i>Lantana fucata</i> . Destaque para as flores (a) e para as ramificações (b)..	27
Figura 4 - Mudas em fase de crescimento e aclimatação (a) e muda padronizada para a implementação o experimento (b).....	32
Figura 5 – Sensor de umidade..	33
Figura 6 – Adição de solo contendo o tratamento (a) e vaso com a massa desejada (b).....	35
Figura 7 – Instalação do microcontrolador Arduino Uno (a) e do gotejo no experimento 1 (b) e experimento 2 (c).....	36
Figura 8– Plantas dispostas sobre a lona para posterior separação da planta/solo..	38
Figura 9 – Altura das plantas para o experimento 1 (a) e experimento 2 (b). ..	49
Figura 10 – Correlação linear entre concentração de cobre adicionado e disponível no solo antes do plantio para o experimento 1 (a) e para o experimento 2 (b).....	55
Figura 11 – Concentrações de Cu presente na raiz e parte aérea no experimento 1 (a,c) e experimento 2 (b,d).....	57
Figura 12– Massa seca total e Índice de Tolerância (IT) no experimento 1 (a,c) e experimento 2 (b,d)..	63

## LISTA DE SIGLAS

AIB	Ácido indolbutílico
ANOVA	Análise de variância
C <sub>o</sub>	Concentração característica
CIRC	Coeficiente de impacto relativo
CV	Coeficiente de Variação
DIC	Delineamento experimental inteiramente casualizado
DTPA	Ácido dietilenotriaminopentaacético
EDTA	Ácido etilenodiamino-tetraacético
EPI	Equipamento de proteção individual
FAAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (do inglês <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i> )
FBC	Fator de bioconcentração
FT	Fator de translocação
IT	Índice de tolerância
ITRA	Índice de translocação
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
MO	Matéria Orgânica
PEN	Número de planta efetivo
PP	Polipropileno
r	Coeficiente de correlação
R%	Porcentagem de recuperação
R <sup>2</sup>	Coeficiente de determinação
rpm	Rotações por minuto
TEM	Taxa de extração do metal
Ug	Umidade gravimétrica
VI	Valor de investigação
VP	Valor de prevenção

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>15</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>17</b>
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>18</b>
3.1 COBRE NO SOLO .....	18
3.2 COBRE NA PLANTA .....	19
3.3 FITORREMEDIÇÃO .....	20
<b>3.3.1 Fitorremediação de metais</b> .....	<b>23</b>
3.4 <i>LANTANA FUCATA</i> .....	25
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>28</b>
4.1 MATERIAIS, REAGENTES E EQUIPAMENTOS .....	28
<b>4.1.1 Implementação e cultivo</b> .....	<b>28</b>
<b>4.1.2 Laboratório</b> .....	<b>29</b>
4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	30
4.3 OBTENÇÃO DAS MUDAS .....	31
4.4 CONTAMINAÇÃO DO SOLO.....	32
4.5 IMPLEMENTAÇÃO DOS EXPERIMENTOS .....	34
4.6 IRRIGAÇÃO AUTOMATIZADA .....	35
4.7 MANUTENÇÃO DOS EXPERIMENTOS .....	36
4.8 COLETA DA <i>LANTANA FUCATA</i> E DO SOLO DOS EXPERIMENTOS ...	37
4.9 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS .....	39
<b>4.9.1 Controle de contaminação</b> .....	<b>39</b>
<b>4.9.2 Preparo de amostras</b> .....	<b>39</b>
<b>4.9.2.1 Extração do cobre disponível por Mehlich-1</b> .....	<b>39</b>
<b>4.9.2.2 Preparo do solo para determinação do potencial de hidrogênio (pH)</b> .....	<b>40</b>
<b>4.9.2.3 Preparo das subamostras de <i>Lantana fucata</i></b> .....	<b>40</b>
4.10 DETERMINAÇÃO DE COBRE POR FAAS .....	42
<b>4.10.1 Condições instrumentais</b> .....	<b>42</b>
<b>4.10.2 Validação</b> .....	<b>43</b>
4.11 CÁLCULOS DOS ÍNDICES DE FITORREMEDIÇÃO.....	44
4.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	45
4.13 TRATAMENTO DE RESÍDUOS .....	46
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>47</b>
5.1 ADIÇÕES DE COBRE AO SOLO (TRATAMENTOS) .....	47
5.2 PREPARAÇÃO DAS MUDAS .....	48
5.3 ALTURA DAS PLANTAS .....	49

5.4 PREPARO DAS AMOSTRAS .....	50
5.5 PH DO SOLO .....	52
5.6 VALIDAÇÃO .....	53
5.7 DETERMINAÇÃO DE COBRE .....	54
<b>5.7.1 Cobre no solo antes do plantio .....</b>	<b>54</b>
<b>5.7.2 Cobre no solo depois do plantio .....</b>	<b>56</b>
<b>5.7.3 Acúmulo de cobre na parte aérea e no sistema radicular das plantas.....</b>	<b>57</b>
5.8 ÍNDICES DE FITORREMEDIÇÃO .....	58
<b>5.8.1 Fator de translocação (FT) e bioconcentração (FBC).....</b>	<b>58</b>
<b>5.8.2 Taxa de extração do metal (TEM) e índice de tolerância (IT) .....</b>	<b>61</b>
<b>6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>65</b>
<b>7 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>66</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>67</b>
<b>APÊNDICES .....</b>	<b>71</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A poluição ambiental por metais oriunda de atividades antrópicas causa desequilíbrios na natureza. Produtos e resíduos contendo cobre (Cu) estão presentes em várias atividades urbanas, industriais e agrícolas, todas com grande potencial para a contaminação do solo e da água (ANDREAZZA et al., 2013). Em solos de uso agrícola, um dos principais fatores relacionados ao aumento do teor de Cu em nível de efeito tóxico é a utilização excessiva de fungicidas cúpricos (PIETRZAK; MCPHAIL, 2004).

Nesse sentido, buscando minimizar os efeitos prejudiciais de metais no solo, quando estes estão em excesso, a remediação pode ser uma alternativa. As formas tradicionais envolvem técnicas como escavação, enterramento, lavagem com quelantes e ácidos fortes, substituição, diluição, adubação orgânica, uso de adsorventes, dentre outros processos físicos e químicos, além disso, em alguns casos eles podem ser ambientalmente destrutivos e degradar a biodiversidade local, estrutura e fertilidade do solo (GHAZARYAN et al., 2019).

Assim, visando a diminuir o teor de Cu no solo contaminado, tem se utilizado a fitorremediação, uma tecnologia efetiva, não destrutiva, ecologicamente correta (verde) e sustentável. A fitorremediação é uma técnica que consiste na utilização de plantas para remover contaminantes do ambiente pela absorção, acumulação ou transformação do poluente em sua massa vegetal, bem como estabilização e degradação na rizosfera (ANDREAZZA et al., 2013; GHAZARYAN et al., 2019). Os resultados da aplicação da fitorremediação apresentam grande aceitação pública devido ao baixo impacto ambiental e a relação custo/benefício (MARQUES; AGUIAR; DA SILVA, 2011).

Algumas espécies vegetais podem ter maior ou menor tolerância a metais, interferindo na capacidade de extração dos mesmos (ANDREAZZA et al., 2013). Espécies hiperacumuladoras são identificadas com base em sua capacidade de acumulação de metais nos seus tecidos, que especificamente no caso do Cu é de até 1000 mg kg<sup>-1</sup> de massa seca. Embora já se conheçam plantas com esta característica, elas não são adequadas para todas as regiões, pois precisam ser adaptadas às condições climáticas locais e a várias propriedades do solo, portanto,

faz-se necessário o uso de plantas nativas para fins de fitorremediação (GHAZARYAN et al., 2019; YOON et al., 2006).

## 2 OBJETIVOS

Avaliar a tolerância, absorção e acúmulo de Cu pela *Lantana fucata* de forma a mensurar seu potencial fitorremediador para esse metal em solos contaminados.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 COBRE NO SOLO

O solo é uma matriz complexa em virtude da constituição química de seus componentes orgânicos e inorgânicos e possui uma tendência natural a interação com diversas espécies químicas poluentes. Ainda, é composto por duas fases: líquida e sólida. A fase líquida, também denominada solução do solo, é a que contém os nutrientes que podem ser absorvidos pelas plantas (BISSANI et al., 2008).

O Cu é um elemento que ocorre de forma natural no solo e é essencial para várias funções fisiológicas nos seres vivos. Contudo, o problema ocorre quando está em concentrações elevadas no solo ou nos sedimentos, no ar, nas águas superficiais e subterrâneas (BONFIM, 2018).

Assim como a maioria dos metais, o Cu também não sofre degradação microbiana ou química da mesma forma que os contaminantes orgânicos. Sendo assim, metais possuem a característica de acumulação no solo, podendo infiltrarem-se em águas subterrâneas ou mesmo na cadeia alimentar por meio de culturas que crescem em áreas contaminadas, e conseqüentemente afetar a saúde humana (GUO; ZHOU; MA, 2006).

Nesse sentido, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) visando a necessidade de criação de legislações e parâmetros para o monitoramento e avaliação dos teores de metais adicionados aos diversos ambientes e em áreas exploradas pela agricultura, estipulou valores referenciais baseados na concentração total de Cu no solo, sendo de 60 mg kg<sup>-1</sup> de solo para o valor de prevenção (VP) e de 200 mg kg<sup>-1</sup> para valor de investigação (VI) (CONAMA, 2009).

Os teores de Cu naturalmente presente em solos são modificáveis devido a fatores e processos de formação do solo e principalmente, associados à composição química do material de origem (ARENA; HARTMANN; BAGGIO, 2014), sendo as maiores taxas observadas na maioria das vezes a partir de rochas ígneas básicas e sedimentares e em minerais secundários na forma de silicatos, carbonatos e óxidos em teores de 10 a 100 mg kg<sup>-1</sup> e nos solos de 2 a 100 mg kg<sup>-1</sup> (SCHMITT, 2018).

Em geral, as plantas absorvem prontamente o Cu na forma iônica (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2001; PRINTZ et al., 2016). A absorção de metais pelas

plantas é influenciada por fatores, como por exemplo, espécie de planta e características do solo, que incluem o teor de matéria orgânica (MO), de argila e o pH. A disponibilidade e a mobilidade de metais no solo dependem da constituição química do mesmo, estando relacionada principalmente ao pH e MO. Quanto mais ácido estiver o solo, e mais baixo for seu teor de argila e matéria orgânica maior a disponibilidade e a mobilidade do metal, facilitando a absorção pela planta (YOON et al., 2006).

Além disso, Ghazaryan et al. (2019), mostram que a quantidade de metal disponível no solo tem uma correlação forte positiva com a quantidade total de metal presente no solo. Porém, o impacto tóxico de metais nos ecossistemas e na saúde humana, ocorre devido, principalmente, pela fração disponível e não pelo conteúdo total do metal presente no meio. Este impacto é acarretado pelo fato de que as plantas absorvem somente as formas disponíveis dos metais, os quais conseqüentemente são inseridos na cadeia alimentar dos seres humanos (GHAZARYAN et al., 2019).

### 3.2 COBRE NA PLANTA

A presença de Cu em concentrações elevadas no solo incide diretamente nas plantas, podendo causar efeitos variados de acordo com a quantidade presente no órgão da planta e com os mecanismos de tolerância da espécie vegetal, podendo acarretar mudanças nos parâmetros morfológicos, bioquímicos e fisiológicos (SCHMITT, 2018).

Este elemento é um micronutriente que age como constituinte de várias enzimas e coenzimas, no processo da fotossíntese, no metabolismo de nitrogênio e carboidratos. Desta forma, o excesso deste metal pode levar a ocorrência de danos oxidativos e degeneração nos tecidos vegetais, dificultando assim o crescimento das plantas devido à interferência em processos celulares importantes, causando desde danos na permeabilidade da membrana celular por meio da peroxidação de lipídios, ao comprometimento da atividade fotossintética e aos processos de absorção e assimilação de nutrientes, estrutura da cromatina, síntese proteica, atividade enzimática e processos respiratórios (GIROTTI et al., 2013; ZANCHETA et al., 2011).

A absorção de metais pelas raízes pode ocorrer de duas formas: passiva (não metabólica), onde ocorre a difusão dos íons da solução do solo para a endoderme da raiz ou ativa (metabólica), onde requer energia metabólica e ocorre contra um gradiente químico. Contudo, quando as propriedades biológicas e estruturais das células da raiz são danificadas, todos os metais são absorvidos passivamente e um exemplo disto é quando as concentrações de elementos ultrapassam um valor limite para uma barreira fisiológica da planta (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2001).

O Cu pode ser absorvido principalmente na forma de cátion  $\text{Cu}^{2+}$  ou cobre quelado, entretanto é mais provável que o metal entre nas células da raiz em formas dissociadas, podendo ser translocado das folhas velhas para as folhas novas, mas sua mobilidade no interior das plantas é baixa. Na maioria das vezes, a concentração nas plantas é pequena, e não costuma exceder  $20 \text{ mg kg}^{-1}$  na matéria seca (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2001; SCHMITT, 2018; SCHMITT et al., 2020).

### 3.3 FITORREMEDIAÇÃO

A fitorremediação (do grego *phyto* = planta, do latim *remedium* = remover um mal) (ALI; KHAN; SAJAD, 2013) pode ser definida como o processo natural de remediação em que as plantas e os microrganismos da rizosfera sequestram, degradam ou imobilizam poluentes do solo (PILON-SMITS, 2005). Podendo ser usada em solos contaminados com substâncias orgânicas e/ou inorgânicas, como elementos metálicos e não metálicos, hidrocarbonetos de petróleo, agrotóxicos, explosivos, solventes clorados e subprodutos tóxicos da indústria (PIRES et al., 2005).

A técnica de fitorremediação pode ser dividida em cinco diferentes mecanismos (Figura 1), onde cada um possui características específicas que limitam ou potencializam seu uso, dependendo do tipo do contaminante, das condições do local e do nível de remediação requerido. A fitoextração, a fitovolatilização e a fitodegradação são mecanismos de fitorremediação que visam eliminar o contaminante do meio, enquanto a fitoestabilização e a fitoestimulação atuam na contenção do mesmo. Cabe ressaltar que estes mecanismos podem ocorrer simultaneamente, aumentando a eficiência da fitorremediação da área (ODJEGBA; FASIDI, 2007; PILON-SMITS, 2005).

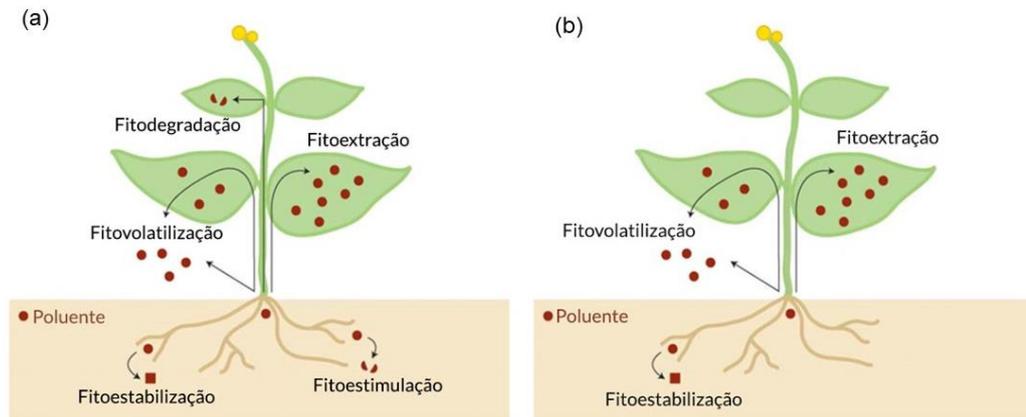


Figura 1 - Mecanismos de fitorremediação para compostos orgânicos (a) e inorgânicos (b). Fonte: Adaptado de Pilon-smits, 2005.

O mecanismo de fitoextração é altamente eficiente na remoção de metais de ambientes poluídos e, no solo, sua eficiência pode ser melhorada por meio de modificação das propriedades, por exemplo, alterações de pH, que aumentam a disponibilidade do metal (YADAV et al., 2018). Este mecanismo emprega plantas acumuladoras para remover o poluente pela absorção e acúmulo nas raízes e na parte aérea das plantas, onde posteriormente poderão passar pelo processo de fitomineração sendo recicladas mediante coleta e processo termoquímico, para a recuperação do metal (TAVARES; OLIVEIRA; SALGADO, 2013; YADAV et al., 2018), ou por compostagem e incineração, seguido da destinação adequada dos resíduos (ALI; KHAN; SAJAD, 2013). A fitoextração pode ser repetida ilimitadamente até que a concentração de metais no solo esteja dentro dos limites considerados aceitáveis (KUMAR et al, 1995).

A fitovolatilização ocorre na medida em que as plantas em crescimento absorvem água e junto os contaminantes (orgânicos e inorgânicos), alguns destes podem chegar às folhas e volatilizarem-se, ou seja, este mecanismo libera os poluentes para a atmosfera na forma gasosa (PILON-SMITS, 2005). Cabe ressaltar a ocorrência da fitovolatilização por métodos diretos ou indiretos. Na fitovolatilização direta, ocorre a absorção do poluente pela planta seguida pela translocação para a parte aérea e a liberação dessas substâncias para a atmosfera através da superfície do caule/tronco e da folha. Por outro lado, no método indireto as substâncias voláteis

presentes no solo e subsuperfícies de água são volatilizados devido às atividades das raízes das plantas no meio (YADAV et al., 2018).

Outro mecanismo é a fitodegradação, este é limitado a remoção de compostos orgânicos, visto que os metais não são biodegradáveis. Neste, os contaminantes são metabolizados nos tecidos vegetais, onde a planta produz enzimas, como a oxigenase e dealogenase, que auxiliam na degradação (ODJEGBA; FASIDI, 2007; SINGH et al., 2016; YADAV et al., 2018).

Já a fitoestimulação, ocorre sem a absorção do poluente pela planta. As plantas liberam, na rizosfera, uma variedade de compostos orgânicos derivados da fotossíntese, que se estende aproximadamente 1 mm ao redor da raiz e está sob influência da planta. Esses compostos liberados podem servir como fontes de carbono para microorganismos rizosféricos que posteriormente degradam os contaminantes presentes (PILON-SMITS, 2005; YADAV et al., 2018).

No mecanismo de fitoestabilização a planta usa a capacidade das raízes para alterar as condições ambientais por meio dos exsudatos, imobilizando o poluente por meio de absorção, acúmulo e adsorção nas raízes, precipitação, complexação ou mudança da valência do metal na rizosfera. Ainda, transforma compostos tóxicos em formas de menor toxidez ou atóxicas fixadas no solo, isto porque, diferentes espécies químicas de metais têm variação no estado de oxidação, atribuindo assim diferentes graus de toxicidade, um exemplo disto, é o cromo visto que o  $\text{Cr}^{6+}$  (tóxico) que pode ser reduzido por algumas plantas ao  $\text{Cr}^{3+}$  (YADAV et al., 2018). A fitoestabilização reduz a mobilidade do contaminante, a lixiviação para as águas subterrâneas ou perdas por erosão e a disponibilidade do poluente para a entrada na cadeia alimentar (MEJÍA et al., 2014; YOON et al., 2006).

Na Tabela 1 pode ser observado um resumo dos mecanismos de fitorremediação e sua aplicação em áreas contaminadas por diferentes tipos de poluentes.

Tabela 1 - Relação dos mecanismos de fitorremediação x contaminante

Mecanismos de Fitorremediação	Contaminante	
	Tipo	Exemplos
Fitodegradação	Orgânicos	Hidrocarbonetos, PCP, TCE e PCBs
Fitoestabilização	Inorgânicos	Metais (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Pb e Zn)
Fitoextração	Inorgânicos	Metais (Ag, Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb e Zn) e Radionuclídeos (Sr, Cs, Pu e U)
Fitovolatilização	Orgânicos	TCE
	Inorgânicos	Metais (Se e Hg)
Fitoestimulação	Orgânicos	Hidrocarbonetos, nitroaromáticos, PCP, TCE, PCBs

Fonte: adaptado de MEJÍA et al., 2014.

### 3.3.1 Fitorremediação de metais

A absorção de metais pelas plantas ocorre principalmente por meio do sistema radicular, pois este fornece uma grande área superficial para absorção e acúmulo de água e nutrientes essenciais para seu crescimento. Porém, junto aos nutrientes, as plantas podem vir a absorver os contaminantes. Para uso de plantas na fitorremediação de solos contaminados, estas precisam desenvolver maneiras para tolerar níveis elevados de metais nas suas células (YADAV et al., 2018).

Segundo Aviño et al. (2007), os mecanismos de tolerância variam de acordo com as espécies de plantas e são determinados pelo tipo de metal, eficiência de absorção, translocação e retenção. As fases do processo pelo qual as plantas retiram e acumulam metais são:

Fase I: Transporte do metal ao interior da planta e após para dentro da célula. A raiz é o principal órgão de entrada dos metais, os quais chegam por difusão no meio, mediante fluxo massivo ou por troca catiônica. A raiz possui cargas negativas em suas células, devido à presença de grupos carboxílicos, que interagem com as

cargas positivas dos metais criando um equilíbrio dinâmico que facilita a entrada no interior da célula, seja por via apoplástica ou simplástica.

Fase II: Uma vez dentro da planta os metais são retidos ou complexados por ligantes específicos. Entre os quelantes produzidos pelas plantas encontram-se os ácidos orgânicos. Como, por exemplo, os ácidos cítrico, oxálico e málico, alguns aminoácidos, como a histidina e cisteína, e também peptídeos como as fitoquelatinas e metaloteínas.

As fitoquelatinas são peptídeos constituídos, basicamente pelos aminoácidos, ácido glutâmico, cisteína e glicina. São consideradas ligantes de alta afinidade, sendo capazes de se ligar a vários metais, como Cd, Cu, Zn ou As por meio dos grupos sulfidril e carboxila (INOUE, 2005). As metaloteínas são proteínas ricas em cisteína, aminoácido capaz de se complexar com cátions pelo grupo sulfidril, possuindo alta afinidade pelas formas iônicas dos metais Zn, Cd, Hg e Cu.

Fase III. Envolve compartimentalização e desintoxicação, processo pelo qual o complexo metal-ligante é retido no vacúolo celular.

As plantas que acumulam metais podem concentrar até 1000 vezes mais do que as não acumuladoras (excludentes) e são consideradas hiperacumuladoras quando armazenam mais que  $1000 \text{ mg kg}^{-1}$  de Cu, Co, Cr, Ni ou Pb, ou mais de  $10.000 \text{ mg kg}^{-1}$  de Mn ou Zn (YADAV et al., 2018; YOON et al., 2006). Já são conhecidas mais de quatrocentas plantas hiperacumuladoras, estas espécies incluem ervas daninhas, gramíneas, hortaliças e árvores (HUNGRIA et al., 2019; YADAV et al., 2018; YOON et al., 2006). Por outro lado, as plantas excludentes limitam a absorção e a quantidade de metais translocados das raízes à parte aérea, e conseqüentemente mantem baixos níveis de concentração em sua fitomassa (YADAV et al., 2018).

Para avaliar o potencial de fitorremediação da espécie, são calculados os fatores de translocação (FT) e de bioconcentração (FBC). O FBC é usado para avaliar a capacidade de acumulação de metal na raiz e também da parte aérea e, o FT para avaliar a translocação do metal das raízes para a parte aérea (GHAZARYAN et al., 2019; YADAV et al., 2018; YOON et al., 2006).

Mertens, Sebastian e Verheyen, (2005) propuseram o cálculo da taxa de extração do metal (TEM), na qual relacionada percentualmente a aptidão da planta

em extrair metal do solo em função da fitomassa produzida e o volume que será descontaminado.

Além disso, também podem ser calculados outros índices, como: o índice de tolerância (IT), que mensura a capacidade das plantas de crescerem em ambientes com altas concentrações de metal; índice de translocação (ITRA) que corresponde a porcentagem total de metal absorvido pelas raízes e transportado para a parte aérea; o coeficiente de impacto sobre o conteúdo relativo (CIRC) que representa o impacto da contaminação sobre os conteúdos relativos do metal nas raízes e parte aérea (SILVA et al., 2015).

E ainda o número de planta efetivo (PEN), o qual é definido como o número de plantas que é necessário para extrair 1 g de metal considerando a massa da parte aérea e total da planta (SUN et al., 2008).

#### 3.4 *Lantana fucata*

A espécie alvo deste estudo, *Lantana fucata* (Verbenaceae) (Figura 2), é um arbusto ramificado com proporções de 0,7 a 1,5 m de altura, com ramos cilíndricos, inermes e tricomas simples, suas folhas têm proporções de 0,7 a 3,5 cm, são pecioladas, membranácea, elíptica, com ápice agudo a atenuado e margem serrada (Figura 2A). As inflorescências são axilares (Figura 2D), brácteas verdes, foliáceas, largo-ovais e tomentosas (Figura 2E), cálice gamossépalo de 4 a 5 lobado (recortes no cálice), com tricomas simples (Figura 2F), e corola hipocrateriforme de coloração lilás a rósea, fauce amarela (Figura 2G). O tubo é reto, onde os estames estão inseridos na metade do tubo da corola (Figura 2I). O fruto é globoso e o mesocarpo é suculento (CRUZ; SALIMENA, 2017; SILVA; LIMA, 2012).

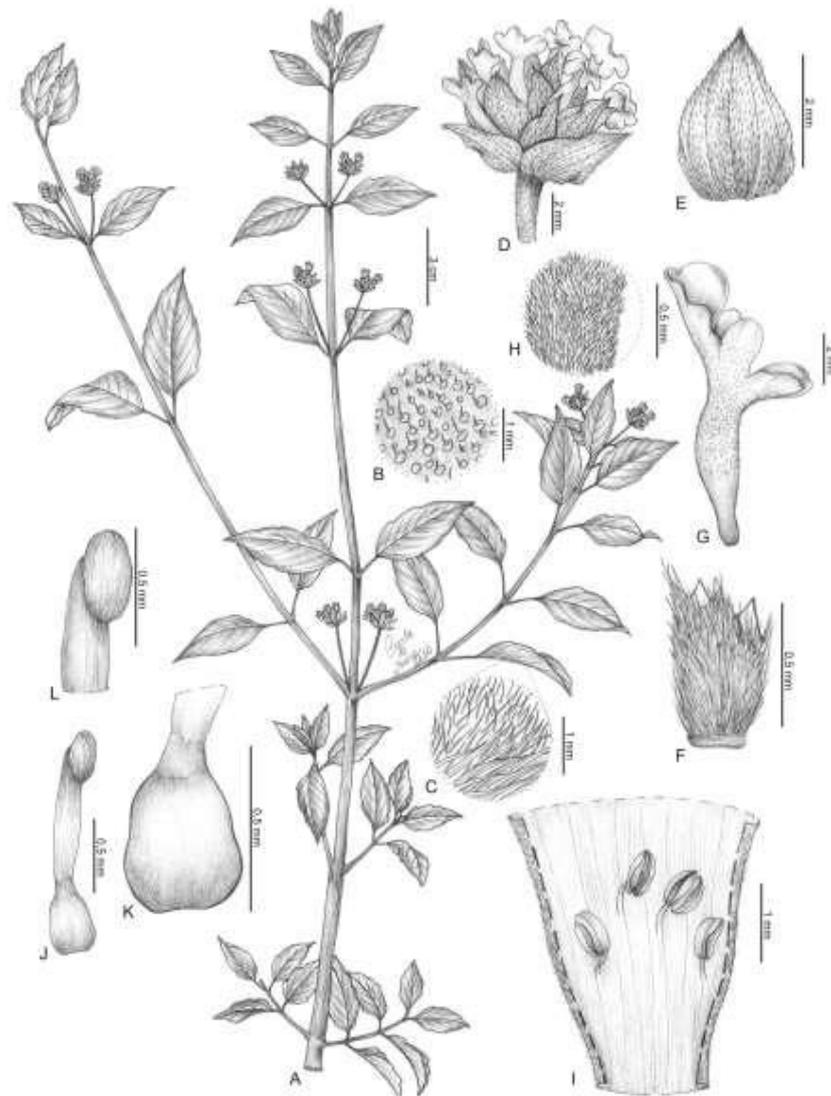


Figura 2 – Representação dos caracteres morfológicos de *Lantana fucata*.

Fonte: adaptado de Silva, Lima, 2012.

A *Lantana fucata* (Figura 3) é uma planta perene e ruderal, popularmente conhecida como cambará roxo, nativa da flora brasileira com registro de ocorrência nas regiões Nordeste (Maranhão, Piauí, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Bahia e Alagoas), Centro-Oeste (Goiás e Mato Grosso do Sul), Sudeste (Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo e Rio de Janeiro) e Sul (Santa Catarina e Rio Grande do Sul) (LORENZI, 2008; SALIMENA et al. 2010).



Figura 3 - *Lantana fucata*. Destaque para as flores (a) e para as ramificações (b).  
Fonte: fotografia registrada pelo autor, 2019.

É considerada uma planta extremamente tolerante, sendo capaz de sobreviver em solos pobres e com sombreamento. Pode ser encontrada principalmente em pastagens, beira de cercas e terrenos baldios, formando grandes ramificações na parte aérea (LORENZI, 2008). Além disso, como a espécie é pertencente à família Verbenaceae, há uma expectativa sobre seu potencial fitorremediador, devido a espécies desta família apresentarem um histórico na fitorremediação, como por exemplo, a *Lantana camara* que é indicada para fitorremediação de metais em solo (ALARIBE; AGAMUTHU, 2019; LIU et al., 2019; WAOO; KHARE; GANGULY, 2014).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAIS, REAGENTES E EQUIPAMENTOS

#### 4.1.1 Implementação e cultivo

- Balança ELC -6/15/30, (Balmal);
- Betoneira (Horbach);
- Proveta 1000 mL;
- Béquer 1000 mL;
- Mangueiras de gotejo;
- Arduino Uno;
- Sensor de temperatura e umidade do ar DHT22;
- Sensor de temperatura do solo DS18B20;
- Sensor de umidade do solo S12;
- Sensor de luminosidade;
- Peneira malha 4,0 mm;
- Bomba hidráulica;
- Caixa d'água 500 L;
- Vasos ( $\varnothing$  16 cm x 12 cm);
- Vasos retangulares (60 x 21 cm);
- Sacos plásticos brancos (51 x 110cm);
- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (Vetec);
- Óleo de Neem ( $1,2 \text{ g L}^{-1}$ ) (Neemmax Jardim);
- Ácido indolbutílico;
- Substrato comercial;
- Areia;
- Copos plásticos descartáveis 400 mL;
- Tubetes;
- $\text{KNO}_3$  ( $0,290 \text{ g L}^{-1}$ );
- $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ( $0,450 \text{ g L}^{-1}$ );
- $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  ( $0,260 \text{ g L}^{-1}$ );
- $\text{MgSO}_4$  ( $0,210 \text{ g L}^{-1}$ );

- Cápsula de alumínio;
- Tesoura de poda;
- Regadores;
- Pulverizador costal com pressão contínua.

#### **4.1.2 Laboratório**

- Espectrômetro de absorção atômica com chama, SavantAA (GBC);
- Lâmpada de cátodo oco de cobre, Atomax, 1.5" (PerkinElmer);
- Balança analítica, AUY220 (Shimadzu);
- Balança semi-analítica, AD2000-R (Marte);
- Mesa agitadora para solo, SL-184 (SOLAB);
- Bloco digestor, TE-007MP (Tecnal);
- Mufla, FHMP (GP Científica);
- Centrifuga, 3-16L (Sigma);
- Estufa de secagem e esterilização com circulação e renovação de ar AL-102/480 (AmericanLab);
- Banho ultrassônico (Biobase);
- Moinho analítico A11 basic S32 Analytical (IKA);
- pHgmetro HI 2221 (HANNA Instruments);
- Micropipeta de volume regulável 10 – 100 $\mu$ L (Discovery Confort);
- Micropipeta de volume regulável 100 – 1000 $\mu$ L (Sartorius);
- Macropipeta de volume regulável 1- 5mL (Brand);
- Tubo digestor (25 x 250 mm);
- Funis analítico (50 mm);
- Tubos cônicos tipo falcon de 15 e 50 mL;
- Vidro relógio;
- Dessecador;
- Pipeta graduada de 10 mL;
- Pipeta volumétrica 25 mL;
- Béqueres 25, 50, 500 e 1000 mL;
- Balões volumétricos de vidro 10, 25, 50, 100 e 200 mL;
- Bastão de vidro;

- Pipetador tipo pera;
- Peneira de malha 1,7 mm;
- Cadinho de porcelana com tampa;
- HCl 37 % (Merck);
- HNO<sub>3</sub> 65 % (Merck);
- HClO<sub>4</sub> 70 % (Merck);
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 35 % (Êxodo Científica);
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 95 % (Merck);
- Bandejas plásticas;
- Panos 100% algodão;
- Lona preta;
- Sacos do tipo kraft;
- Solução padrão estoque de 1,00 g L<sup>-1</sup> para Cu (Fluka Analytical);
- Água ultrapura produzida no ultrapurificador de água Milli-q Integral 5 (Merck Millipore);
- Frascos do tipo *Snap Caps*;
- Pincel;
- Etanol 70%.

#### 4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os experimentos foram realizados em casa de vegetação na área experimental da Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Cerro Largo, RS (28°08'31.8"S e 54°45'41.7"W), no período de fevereiro a junho de 2020 (Experimento 1) e janeiro a maio de 2020 (Experimento 2). Em delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), foi utilizado com cinco repetições (MENEGAES et al., 2017) e os tratamentos compostos por doses de Cu, conforme demonstrado na Tabela 2, ambos com duração de 100 dias desde a implementação até a colheita.

Tabela 2 - Quantidade de Cu adicionado no solo de cada tratamento.

Tratamento	Cu adicionado (mg kg <sup>-1</sup> )	
	Experimento 1	Experimento 2
T0	0	0
T1	70	210
T2	140	420
T3	210	630
T4	280	840

Fonte: elaborado pelo autor, 2020.

### 4.3 OBTENÇÃO DAS MUDAS

Esta parte do trabalho foi realizada em colaboração com pesquisadores da área da botânica da UFFS, *campus* Cerro Largo, utilizando-se matrizes de *Lantana fucata* coletadas manualmente, com tesoura de poda, de diversas plantas, na região noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, na BR 392, em três pontos diferentes (28°07'54.4"S e 54°52'17.3"W; 28°07'08.9"S e 54°50'37.5"W; 28°07'09.0"S e 54°49'02.2"W), onde foi priorizada a coleta do ápice de ramos jovens. As mudas foram preparadas a partir de estacas contendo 3 a 4 nós, em corte bisel.

Após o corte, as bases das estacas foram submetidas ao tratamento com ácido indolbutílico (AIB) na forma de pó, e inseridas, com nó inferior submerso, em tubetes contendo somente areia, substrato, solo e a mistura dos três (1:1:1). Também foi desenvolvida a estaquia sem AIB.

Estes foram dispostos em bancada no interior do viveiro, com irrigações por aspersão programada de 3 em 3 h com duração de 2 min, permanecendo sob estas condições por 30 dias, período necessário para o enraizamento completo das mudas. Na sequência as mudas foram transplantadas para copos plásticos contendo substrato e solo (1:1) e transferidas para a casa de vegetação, para crescimento e aclimação (Figura 4a). Neste estágio foram realizadas irrigações de forma manual três vezes ao dia, bem como o controle de pragas por aplicação de óleo de Neem (princípio ativo azadiractina) a cada duas semanas e adubação pela mistura de KNO<sub>3</sub> (0,290 g L<sup>-1</sup>), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0,450 g L<sup>-1</sup>), Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (0,260 g L<sup>-1</sup>) e MgSO<sub>4</sub> (0,210 g L<sup>-1</sup>), sendo fornecido aproximadamente 30 mL da solução para cada muda.

Quando as mudas atingiram aproximadamente 15 cm (Figura 4b), elas foram padronizadas, de forma a selecionar as saudáveis que continham de 3 a 4 nós, para transplante em vasos plásticos, contendo os diferentes tratamentos, conforme delineamento experimental.



Figura 4 - Mudanças em fase de crescimento e aclimação (a) e muda padronizada para a implementação o experimento (b). Fonte: fotografia registrada pelo autor, 2020.

#### 4.4 CONTAMINAÇÃO DO SOLO

O solo foi coletado na camada de 0-20 cm na área experimental da Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Cerro Largo (28°08'26.3"S e 54°45'33.5"W), peneirado com malha de 4 mm e recolhido uma alíquota para análise laboratorial externa. Posteriormente, foram pesados 50 kg de solo para cada tratamento, e acrescidos 1 L de solução de cobre, conforme delineamento experimental que pode ser observado na Tabela 2 item 4.2, por meio da dissolução de sulfato de cobre penta hidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) (Tabela 3) e, misturado em betoneira (Horbach) por 10 min para completa homogeneização. A contaminação iniciou pelo revolvimento do solo com 1 L de água em betoneira por 10 minutos e após pelas adições em ordem crescente de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  dissolvido em 1 L de água, correspondendo a cada um dos tratamentos.

Tabela 3 – Solução de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  g  $\text{L}^{-1}$  (m/v) adicionados aos tratamentos.

Tratamentos	Experimento 1	Experimento 2
T0	0	0
T1	13,713	41,416
T2	27,451	82,767
T3	41,097	123,842
T4	54,817	165,332

Fonte: elaborado pelo autor, 2020.

Posteriormente, as cinco frações de solo, de cada experimento, foram armazenadas em sacos plásticos onde permaneceram por 30 dias, tempo requerido para a incubação do metal ao solo (MELO et al., 2008). Neste período foram realizadas aspersões periódicas de água destilada (2 vezes por semana) para manter a umidade do solo em 70-80% da capacidade de campo, que foi verificada com o auxílio de sensor de umidade (Figura 5). Após as aspersões da água o solo foi revolvido para acelerar a decomposição da matéria orgânica e a facilitar a saída dos gases. Neste período o solo foi mantido em laboratório a temperatura constante de 25°C. Após o período de incubação, foi determinado o pH (água) e Cu disponível (Mehlich-1).



Figura 5 – Sensor de umidade. Fonte: fotografia registrada pelo autor, 2019.

#### 4.5 IMPLEMENTAÇÃO DOS EXPERIMENTOS

Após a padronização das mudas, deu-se o início a implementação dos experimentos. Para tanto, 48 h antes do plantio, foi realizada a análise de umidade gravimétrica do solo de acordo com o manual da Embrapa (2011), para determinar a quantidade de solo úmido a ser adicionado aos vasos plásticos para corresponder ao equivalente solo seco pretendido nos experimentos.

Assim, uma alíquota de solo de cada tratamento foi inserida em uma cápsula de alumínio numerada e pesada. Após, as amostras foram secas em estufa de circulação forçada de ar (AL-102/480, AmericanLab) a 105 °C por 48 h, deixadas esfriar em dessecador e pesadas novamente (EMBRAPA, 2011).

A umidade gravimétrica ( $U_g$ ) foi determinada de acordo com a Equação 1.

$$U_g = [(MU+MC) - (MS+MC)] \div MS \quad (1)$$

Onde:

MU = massa do solo úmido;

MS = massa do solo seco;

MC = massa da cápsula de alumínio.

O resultado para  $U_g$  foi de 1,7 kg e 9,5 kg de solo úmido para equivaler a 1,4 kg e 7 kg de solo seco nos experimentos 1 e 2, respectivamente.

Posteriormente, as mudas foram transplantadas de acordo com cada experimento. Neste procedimento o vaso acrescido da muda foi disposto em balança (ELC -6/15/30, Balma) e precedida a taragem, então foi adicionado o solo (Figura 6a) até o visor da balança indicar a massa desejada (Figura 6b).

O Experimento 1 foi composto por um conjunto de três vasos por tratamento, totalizando de 75 vasos ( $\varnothing$  16 cm x 12 cm), onde cada vaso acomodou 1,4 kg de solo seco contendo o tratamento e uma planta. Foram feitas 5 repetições por tratamento, totalizando 75 plantas.

Já o Experimento 2 foi composto por um total de 25 vasos retangulares (60 cm x 21 cm), onde cada vaso acomodou 7 kg de solo seco contendo o tratamento e cinco plantas. Foram feitas 5 repetições por tratamento, totalizando 125 plantas.

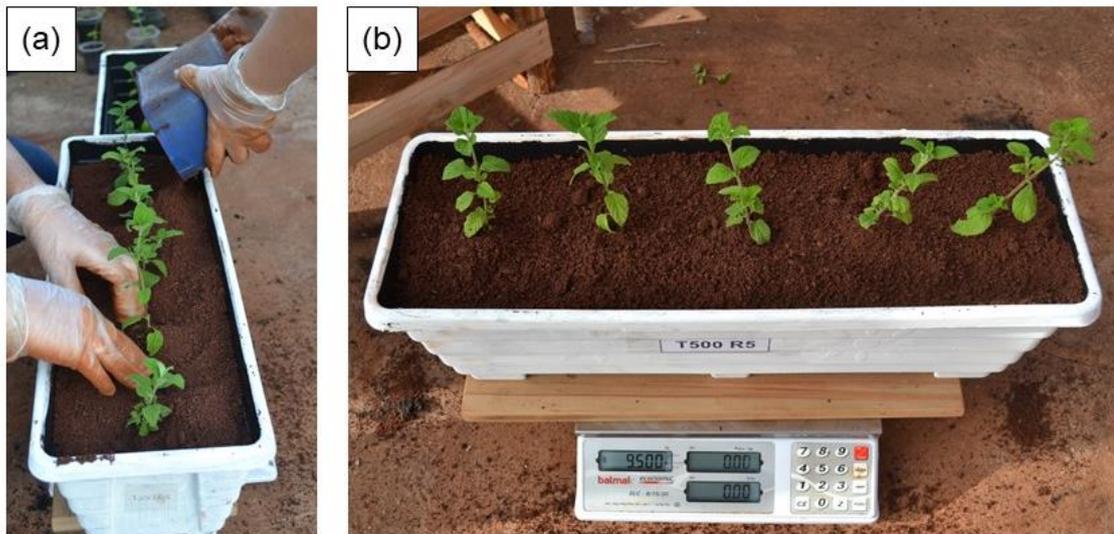


Figura 6 – Adição de solo contendo o tratamento (a) e vaso com a massa desejada (b). Fonte: fotografia registrada pelo autor, 2020.

Após o plantio os vasos foram colocados na bancada da casa de vegetação em distribuição aleatória (Apêndice A).

#### 4.6 IRRIGAÇÃO AUTOMATIZADA

Para controlar a umidade do solo, foi instalado um sistema de irrigação, o qual consistiu em mangueiras de gotejamento, caixa d'água e uma bomba hidráulica. O sistema foi automatizado e controlado por programação de um microcontrolador Arduino Uno (Figura 7a), que a cada 30 min realizava a leitura dos sensores de umidade do solo instalados nos vasos. O sistema de irrigação foi configurado para acionamentos em intervalos que variaram em períodos de 3 a 5 h. Cada acionamento ligava a bomba hidráulica, proporcionando irrigação por 1 min. O monitoramento da umidade viabilizou o controle dos intervalos de irrigação, feitos de forma manual.

Além disso, o sistema de irrigação só era ativado durante o dia, período considerado com temperaturas mais elevadas, consequentemente com maior evaporação de água do solo. Para isto, foi instalado um sensor de luminosidade, permitindo assim, que o sistema Arduino Uno identificasse quando era dia ou noite.

O gotejamento (Figura 7bc) aplicado de forma espaçada e lenta ajudou o solo absorver toda a água da irrigação, evitando vazamentos e uma possível lixiviação do Cu. Contudo, mesmo com o sistema de irrigação automatizado, o experimento foi monitorado diariamente e, quando necessário, era complementado com irrigação manual.

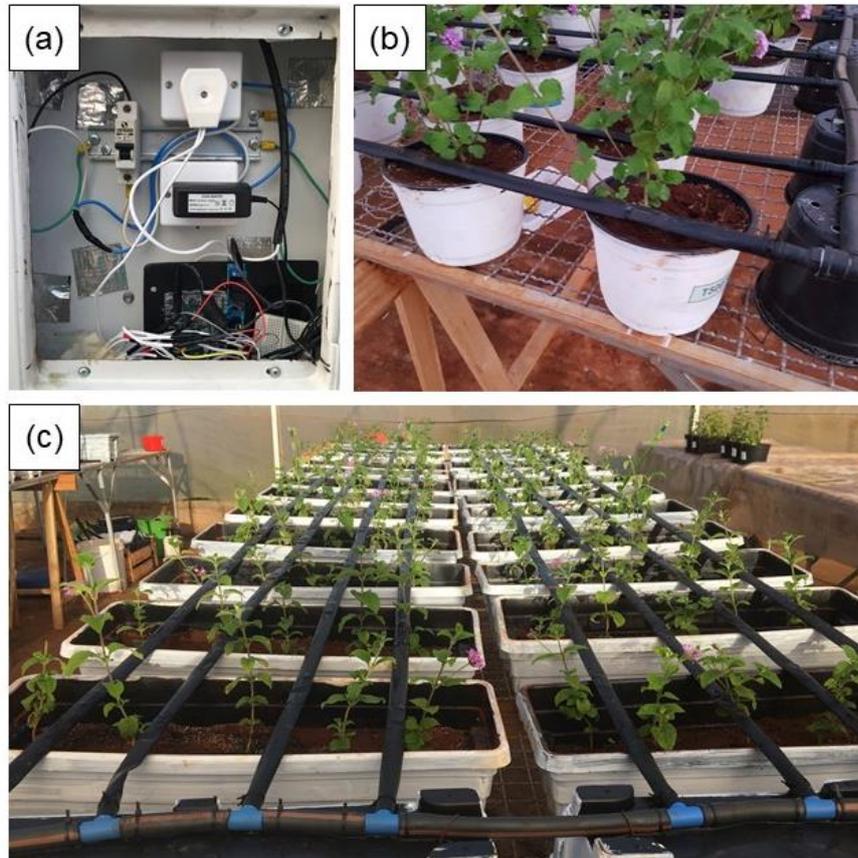


Figura 7 – Instalação do microcontrolador Arduino Uno (a) e do gotejo no experimento 1 (b) e experimento 2 (c). Fonte: fotografia registrada pelo autor, 2020.

#### 4.7 MANUTENÇÃO DOS EXPERIMENTOS

As plantas foram monitoradas diariamente e, em dias de muito calor, quando ocorria uma maior evaporação da água dos vasos, recebiam água com regadores para complementar a irrigação automatizada.

Semanalmente, as plantas receberam solução nutritiva composta por  $\text{KNO}_3$  ( $0,290 \text{ g L}^{-1}$ ),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ( $0,450 \text{ g L}^{-1}$ ),  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  ( $0,260 \text{ g L}^{-1}$ ) e  $\text{MgSO}_4$  ( $0,210 \text{ g L}^{-1}$ ). As

adubações eram semanais, onde o Experimento 1 recebeu 40 mL de solução nutritiva por vaso e o Experimento 2 recebeu 200 mL de solução por vaso.

Para o controle de pragas foi aplicado, por meio da pulverização, quando necessário, o inseticida natural com princípio ativo Azadiractina. Este foi escolhido em detrimento de a calda bordalesa a qual é indicada para repelir pragas, como pulgões e cochonilhas (PEREIRA; PINHEIRO, 2012), em virtude de esta conter Cu na sua composição, o seu uso iria causar interferência nos resultados experimentais. As aplicações foram todas realizadas com o uso de equipamento de proteção individual (EPI) e conforme recomendação do rótulo do produto.

Também procurou-se controlar o calor dentro da casa de vegetação, para tanto as cortinas plásticas das laterais da mesma foram fechadas para o aprisionamento do calor em dias frios e mantidas abertas em dias quentes. Durante a condução do experimento a temperatura e umidade médias do ar no interior da casa de vegetação, a umidade e temperatura médias do solo foram registrados e podem ser observados no Apêndice B.

A estrutura de cobertura da casa de vegetação fez a proteção das plantas em relação a precipitações pluviométricas. E, para que todos os tratamentos tivessem igual probabilidade de incidência da luz solar para crescimento e desenvolvimento das plantas, o posicionamento dos vasos foi modificado por meio de sorteio a cada 14 dias.

#### 4.8 COLETA DA *LANTANA FUCATA* E DO SOLO DOS EXPERIMENTOS

Transcorridos os 100 dias do plantio, as plantas foram coletadas, em ordem crescente de tratamento. Neste procedimento uma lona limpa foi estendida no chão da casa de vegetação e os vasos foram, individualmente, dispostos sobre a lona de forma a possibilitar a separação solo/planta (Figura 8). A altura das plantas foi determinada e em seguida, separou-se em parte aérea e raiz.



Figura 8 – Plantas dispostas sobre a lona para posterior separação da planta/solo.

Fonte: fotografia registrada pelo autor, 2020.

A parte aérea foi lavada com água destilada, enxugada com pano 100% algodão e então pesada, dentro de bandeja plástica, em balança semi-analítica (AD2000-R, Marte) para verificação da massa fresca. Já as raízes, foram lavadas com água corrente e posteriormente limpas em banho ultrassônico (BIOBASE) por 5 minutos, enxaguadas com água corrente. O processo foi repetido três vezes, sendo a última lavagem com água destilada (CUSKE; KARCZEWSKA; GAŁKA, 2014). Após a limpeza, as raízes foram enxugadas com panos 100% algodão e pesadas dentro de bandejas plásticas.

Após a limpeza e pesagem, a parte aérea e as raízes foram acondicionadas, separadamente, em sacos do tipo *kraft* e encaminhadas para a estufa de secagem com circulação e renovação de ar à 60 °C, onde permaneceram por 72 h. Depois de secas, as plantas foram pesadas, dentro de bandejas plásticas, para verificação da massa seca.

O solo de cada vaso foi transferido para sacos plásticos separados e etiquetados. Após, foram remexidos duas vezes por dia, durante três dias, para

completa homogeneização. Posteriormente foram coletados 500 g de solo para a realização da determinação de Cu disponível (Mehlich-1) e pH (água).

## 4.9 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS

### 4.9.1 Controle de contaminação

Todas as vidrarias utilizadas para análises do solo foram descontaminadas com HCl 10% (v/v) em água. As vidrarias e os materiais plásticos utilizados para análise da planta foram descontaminados em solução de HNO<sub>3</sub> 10% (v/v) em mistura 1:1 de água e etanol por 24 h. Antes da utilização, o material foi enxaguado de três a cinco vezes com água destilada.

### 4.9.2 Preparo de amostras

#### 4.9.2.1 Extração do cobre disponível por Mehlich-1

Para determinar o teor de cobre disponível no solo, foi realizado o procedimento de extração com solução extratora de Mehlich-1 (HCl 0,05 mol L<sup>-1</sup> + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,0125 mol L<sup>-1</sup>) (EMBRAPA, 2011; SANTANA et al., 2018).

O solo foi seco em a estufa de circulação e renovação de ar (AL-102/480, AmericanLab) a 105 ° C por 48 h e peneirado para granulometria de 1,7 mm. Após 5 g de solo foi pesado em balança analítica (AUY220, Shimadzu), esse foi transferido para frasco do tipo *Snap-cap* com tampa de pressão e adicionados 25 mL da solução extratora Mehlich-1. As amostras foram acomodadas na mesa agitadora para solo (SL-184, SOLAB), onde foram agitadas a 120 rpm por 5 min (EMBRAPA, 2011). Após, as amostras foram deixadas em repouso por cerca de 16 h para ocorrer a decantação. Alíquotas de 15 mL do sobrenadante foram transferidas para frascos cônicos de polipropileno (PP) de 50 mL, para posterior análise por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS - do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry*). O branco foi constituído somente da solução extratora e passou pelo mesmo processo que às amostras.

#### 4.9.2.2 Preparo do solo para determinação do potencial de hidrogênio (pH)

Para determinar o pH do solo, 10 g de solo seco e 25 mL de água destilada foram adicionados em um béquer, a mistura foi agitada com um bastão de vidro por 60 s e deixada em repouso por 1 h (EMBRAPA, 2011). Após, o pH da amostra foi medido em potenciômetro de eletrodo de vidro combinado (HI 2221, Hanna).

#### 4.9.2.3 Preparo das subamostras de *Lantana fucata*

A primeira parte do preparo das amostras consistiu na moagem das raízes, caules e folhas da *Lantana fucata*, neste procedimento foi utilizado um moinho analítico (A11 basic S32 Analytical, IKA), onde as amostras foram trituradas em ordem crescente de tratamento. A limpeza do moinho foi executada entre as amostras, com pincel e com etanol 70% para remover as sobras de material moído.

Para a abertura por via seca, foram realizados ensaios com subamostras da planta trituradas e também utilizando as folhas inteiras, pedaços de raízes e caules cortados em partes pequenas com tesoura de poda. Assim, as amostras foram pesadas balança analítica (AUY220, Shimadzu) por adição em cadinhos de porcelana que, em seguida, foram aquecidos na mufla por tempos e temperaturas variados, conforme descrito na Tabela 4. Após o resfriamento, em dessecador, foram acrescentados 6 mL de água régia aos cadinhos para a solubilização das cinzas da amostra calcinada (DROZDOVA et al., 2019).

Tabela 4 – Condições submetidas aos ensaios de abertura de planta por via seca.

<b>Condição</b>	<b>Massa (g)</b>	<b>Tempo de aquecimento (h)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>
01	0,5	16	450
02	1,0	16	450
03	2,0	16	450
04	0,5	44	800
05	1,0	44	800
06	2,0	44	800

Fonte: elaborado pelo autor, 2020.

Os testes de preparo de amostras por decomposição via úmida foram conduzidos de acordo com os procedimentos descrito na Tabela 5.

Tabela 5 – Procedimentos de preparo de amostras de planta.

<b>Procedimento</b>	<b>Autor (ano)</b>
Transferir 0,5 g de amostra seca e triturada para um tubo digestor acrescidos de 4 mL de HNO <sub>3</sub> (65%), deixar em repouso por 12 h a temperatura ambiente. Após, aquecer gradativamente até o bloco atingir 120 °C. Permanecer nesta temperatura até cessar totalmente vapores de NO <sub>2</sub> . Adicionar 2 mL de HClO <sub>4</sub> (70%) e aquecer a 180 °C e manter nesta temperatura até o extrato se apresentar incolor.	Carmo et al. (2000)
Transferir 0,4 g de amostra seca e triturada para um tubo digestor, acrescidos de 7 mL de HNO <sub>3</sub> e 2 mL de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .	Alaribe e Agamuthu (2019)
Transferir 0,5 g de amostra seca e triturada para um tubo digestor, acrescidos de 5 mL de HNO <sub>3</sub> e aquecer a 125 °C por 1h em bloco digestor. Fazer 3 ciclos de adição de 2 mL de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .	Roohi et al. (2020)
Aquecer 1 g de amostra com 15 mL de mistura tri-ácido HNO <sub>3</sub> (70%), H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (97%) e HClO <sub>4</sub> (60%) (1:1:1) a 80 °C até obter uma solução transparente.	Singh et al. (2016)
Digerir as amostras com HNO <sub>3</sub> e HClO <sub>4</sub> na proporção 4:1	Liu et al. (2019)
Transferir 0,5 g de amostra seca e triturada para um tubo digestor, acrescidos de 5 mL de HNO <sub>3</sub> e 1 mL de HClO <sub>4</sub> e deixar em repouso de um dia para o outro. Aquecer a amostra por 1h a 80 °C, 1h a 120 °C, 1h a 150 °C e 1h a 180 °C.	Neto e Barretos (2011)

Fonte: elaborado pelo autor, 2020.

Após realizados os diferentes testes de preparo de amostra por via úmida, optou-se pelo procedimento de Neto e Barreto (2011) e de Liu et al. (2019) com algumas modificações. Sendo assim, 0,5 g de amostra triturada foi pesada em balança analítica por adição em vidro relógio, foi transferida ao tubo digestor e adicionada de 8 mL de HNO<sub>3</sub> 65% e 2 mL de HClO<sub>4</sub> 70%, deixada em repouso por 30 min, em capela de exaustão, para digestão prévia. Após, foram inseridos funis de vidro aos tubos digestores e os mesmos foram acomodados no bloco digestor (TE-007MP, Tecnal), com a temperatura a 80 °C, onde permaneceram por 1 h, seguido de uma rampa de aquecimento, onde permaneceram por mais 1 h em cada temperatura, sendo estas de 120 °C, 150 °C, 180 °C e 30 min a 190 °C (LIU et al., 2019; NETO; BARRETO, 2011).

No término da digestão, as amostras foram transferidas para frascos cônicos de PP e ajustadas com água ultrapura até 10 mL. Na sequência, centrifugadas (3-16L, Sigma) por 5 min a 5000 rpm e a fase sobrenadante transferida para outro frasco cônico de PP de 15 mL.

O branco foi constituído somente pelos reagentes e passou pelo mesmo processo que as amostras.

#### 4.10 DETERMINAÇÃO DE COBRE POR FAAS

##### 4.10.1 Condições instrumentais

As amostras foram analisadas em um espectrômetro de absorção atômica com chama (SavantAA-GBC). Utilizou-se uma lâmpada de cátodo oco de Cu e selecionou-se o comprimento de onda 324,7 nm, largura da fenda de 0,50 nm e tempo de integração de 3 s, em queimador de fluxo laminar de 10 cm. Para o solo, a chama foi formada pela mistura de ar/acetileno nas vazões 15,0 L min<sup>-1</sup> e 2,20 L min<sup>-1</sup>, respectivamente. Já para a planta, a chama foi formada pela mistura de ar/acetileno nas vazões 10,10 L min<sup>-1</sup> e 2,00 L min<sup>-1</sup>, respectivamente e foi utilizado a lâmpada de deutério como corretor de fundo. A altura do queimador foi ajustada para a condição de maior absorvância utilizando padrão de Cu 6,00 mg L<sup>-1</sup>.

#### 4.10.2 Validação

Os parâmetros analíticos avaliados foram: linearidade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), precisão, exatidão e concentração característica ( $C_o$ ).

A linearidade foi avaliada por meio da construção de três curvas de calibração medidas em três dias diferentes, as quais, continham seis concentrações, tanto para o solo quanto para a planta, observando-se a correlação linear. Para o solo, a faixa de trabalho foi de 1,00 - 10,00 mg L<sup>-1</sup>, por meio da diluição do padrão estoque de Cu 1000 mg L<sup>-1</sup> (Fluka Analytical) em solução extratora Mehlich-1. Para a planta, a faixa de trabalho foi de 0,25 – 6,00 mg L<sup>-1</sup>, por meio da diluição de padrão estoque de Cu 1000 mg L<sup>-1</sup> (Fluka Analytical) em água ultrapura e 0,2 % de HNO<sub>3</sub> e 0,05 % de HClO<sub>4</sub>.

O LD e LQ foram calculados pela Equação 2 e 3, respectivamente.

$$LD = (3 s) \div a \quad (2)$$

$$LQ = (10 s) \div a \quad (3)$$

Onde:

s = Desvio padrão das medidas do branco;

a = Coeficiente angular da curva analítica.

Cabe ressaltar que o branco utilizado para o solo e planta foi o tratamento 0 (sem adição de cobre).

A concentração característica ( $C_o$ ) foi calculada de acordo com a Equação 4.

$$C_o = 0,0044 \div a \quad (4)$$

Onde:

a = Coeficiente angular da curva analítica.

Para verificar a exatidão foram realizados ensaios de recuperação, o qual consistiram na fortificação de amostras, ou seja, na adição do analito de interesse na amostra original seguida do preparo da amostra fortificada e da determinação da

concentração do analito adicionado. A precisão foi avaliada pelo coeficiente de variação (INMETRO, 2020).

Para tanto, ao solo do tratamento 0, foram feitas fortificações nas amostras com concentrações de cobre 0,4; 2 e 6 mg L<sup>-1</sup> em triplicata, antes da extração por Mehlich-1. E para as subamostras da planta, do tratamento 0, foram adicionadas, previamente a digestão, as concentrações de 1 e 3 mg L<sup>-1</sup> de cobre em triplicata. Posteriormente analisadas por FAAS.

A percentagem de recuperação (R%) foi calculada pela Equação 5.

$$R\% = (\text{Valor teórico} \div \text{Valor experimental}) \times 100 \quad (5)$$

Onde:

Valor teórico = Concentração de Cu determinado na amostra + concentração de Cu adicionado;

Valor experimental = Concentração de Cu determinada na amostra fortificada.

#### 4.11 CÁLCULOS DOS ÍNDICES DE FITORREMEDIAÇÃO

Quatro índices foram selecionados para avaliar o potencial de fitorremediação da *Lantana fucata*, o fator de bioconcentração da raiz (FBC<sub>raiz</sub>), o fator de translocação (FT), o índice de tolerância (IT) e a taxa de extração do metal (TEM), (ALARIBE; AGAMUTHU, 2019; GHAZARYAN et al., 2019; YOON et al., 2006; MERTENS; SEBASTIAN; VERHEYEN, 2005; SILVA et al., 2005).

O FBC<sub>raiz</sub> pode ser usado para avaliar a capacidade de bioconcentração de cobre nas raízes, sendo calculado pela Equação 6.

$$FBC_{raiz} = \text{Cu raízes} \div \text{Cu solo} \quad (6)$$

Onde:

Cu raízes = Concentração de Cu nas raízes;

Cu solo = Teor de Cu disponível no solo após o cultivo.

A capacidade da planta de translocar metais das raízes para a parte aérea é avaliada usando o FT, onde é calculado seguindo a Equação 7.

$$FT = \text{Cu parte aérea} \div \text{Cu raízes} \quad (7)$$

Cu parte aérea = Concentração de Cu na parte aérea;

Cu raízes = Concentração de Cu nas raízes.

A taxa de extração do metal (TEM) foi calculada seguindo a Equação 8 e o índice de tolerância (IT) conforme Equação 9.

$$TEM = [(\text{Cu planta} \times \text{MS total}) \div (\text{Cu solo} \times \text{M raiz})] \times 100 \quad (8)$$

Onde:

Cu planta = Concentração de cobre presente na massa seca da planta;

MS total = Massa seca total da planta;

Cu solo = Concentração de cobre presente no solo após o cultivo;

M raiz = Massa do volume do solo enraizada pela espécie.

$$IT = (\text{Massa seca total da planta do } T_n \div \text{Massa seca total da planta do } T_0) \times 100 \quad (9)$$

Onde:

$T_n$  = Tratamento de interesse;

$T_0$  = Tratamento sem adição do metal (controle).

#### 4.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os gráficos e os dados foram organizados e calculados em planilhas no programa Microsoft Excel 2016.

Para análise estatística, foi realizado o teste de análise de variância (ANOVA) e quando este foi significativo, aplicou-se o teste de Tukey a 5 % de probabilidade. O teste de correlação linear de Pearson também foi aplicado. Os testes estatísticos foram realizados no software R®.

#### 4.13 TRATAMENTO DE RESÍDUOS

Os resíduos gerados durante os testes de preparo de amostras foram filtrados, visando à remoção do solo e/ou das partes das plantas não decompostas. Após foram adicionados de hidróxido de sódio comercial (soda cáustica) objetivando a neutralização quando se tratava de um resíduo ácido, ou mesmo a precipitação de metais como hidróxidos quando se tratava de resíduos de metais, havendo precipitação o resíduo era novamente filtrado e a solução remanescente adicionada de ácido clorídrico comercial (muriático) para ajuste a pH neutro e então descartada na pia do laboratório. Os papéis de filtro com o resíduo precipitado foram secos, dentro da capela de exaustão, e depois armazenados em sacos plásticos identificados e conduzidos ao almoxarifado de resíduos para posterior coleta pela empresa contratada pela UFFS.

Já alíquotas das amostras digeridas, remanescentes das análises, encontram-se armazenadas em geladeira, para o caso de haver a necessidade de eventual repetição, porém pretende-se realizar o mesmo procedimento após a defesa da dissertação.

Os solos, de todos os tratamentos, que sobraram dos experimentos tanto pré como pós colheita foram misturados e tendo em vista que o Cu é um micronutriente essencial para as plantas e atóxico em quantidades pequenas, este foi distribuído em uma fina camada ao longo de uma propriedade particular. Após o local foi arado para revolver e descompactar o solo da propriedade e facilitar a mistura. As plantas trituradas que restaram, encontram-se armazenadas como contraprova, mas futuramente pretende-se utilizá-las como adubo em uma propriedade particular.

As mudas de *Lantana fucata* que não foram utilizadas no experimento foram destinadas para ornamentação paisagística do *campus* Cerro Largo da UFFS.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 ADIÇÕES DE COBRE AO SOLO (TRATAMENTOS)

O solo foi seco, peneirado em malha 4 mm e uma alíquota foi coletada e enviada para análise físico-química na Tabela 6 podem ser observados os resultados da análise laboratorial externa. Posteriormente, o solo foi pesado para corresponder a massa necessária a cada tratamento.

Cada fração de solo pesada foi transferida para uma betoneira e adicionada com Cu, as concentrações usadas nos tratamentos, foram selecionados com base na Resolução N° 420, de dezembro de 2009, que especifica as concentrações para prevenção (VP) de 60 mg Cu kg<sup>-1</sup> de solo e de 200 mg Cu kg<sup>-1</sup> para investigação (VI) (CONAMA, 2009). Para tanto, o experimento 1 foi baseado no VP e o experimento 2 no VI, com um acréscimo de 10 mg Cu kg<sup>-1</sup> visto que nem todo Cu adicionado fica na forma de Cu disponível para a planta. Sendo assim pensou-se nas concentrações iniciais de cada tratamento seguindo o VP e VI e após adições proporcionais 2, 3 e 4 vezes a concentração inicial. O artigo 11 da resolução prevê que os órgãos ambientais competentes juntamente com o CONAMA, poderão rever os valores estabelecidos na resolução, bem como podem ser estabelecidos VPs e VIs estaduais ou regionais (CONAMA, 2009).

Tabela 6 – Análise físico-química do solo previa a contaminação por Cu.

	<b>Experimento 1</b>	<b>Experimento 2</b>
Cu (mg dm <sup>-3</sup> )	10,5	18,8
Argila (%)	63	58
pH	5,4	5,3
Índice SMP	5,8	5,8
P mg dm <sup>-3</sup>	8,7	8,6
K mg dm <sup>-3</sup>	393	244
M. O. (%)	3,9	2,8
Al trocável cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	0,1	0,1
Ca trocável cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	7,2	6,4
Mg trocável cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	1,9	5,5
H + Al cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	5,5	14
% SAT da CTC Bases	64,8	60,9
% SAT da CTC Al	1,0	1,2

Argila determinada pelo método do densímetro;

pH em água 1:1;

P e K determinados pelo método Mehlich - 1;

M.O. por digestão úmida;

Ca, Mg, Al, Mn, e Na trocáveis extraídos com KCl 1 mol L<sup>-1</sup>;

CTC a pH 7,0.

UNIDADES:

% = massa/volume; mg dm<sup>-3</sup> = ppm (peso/volume); cmol<sub>c</sub>dm<sup>-3</sup> = meq 100<sup>-1</sup>mL

## 5.2 PREPARAÇÃO DAS MUDAS

A propagação e desenvolvimento das mudas foi satisfatório utilizando a mistura de solo, areia e substrato (1:1:1) com o uso de enraizador AIB.

Ao final do ciclo de 30 dias, período necessário para o enraizamento completo, as mudas foram transferidas dos tubetes para copos plásticos contendo substrato comercial e solo (1:1) onde permaneceram até atingir aproximadamente 15 cm.

As mudas padronizadas em 15 cm e saudáveis foram cultivadas em solo contaminado conforme delineamento experimental descrito no item 4.2.

### 5.3 ALTURA DAS PLANTAS

Durante a colheita dos experimentos foi medida a altura das plantas, os resultados podem ser observados na Figura 9.

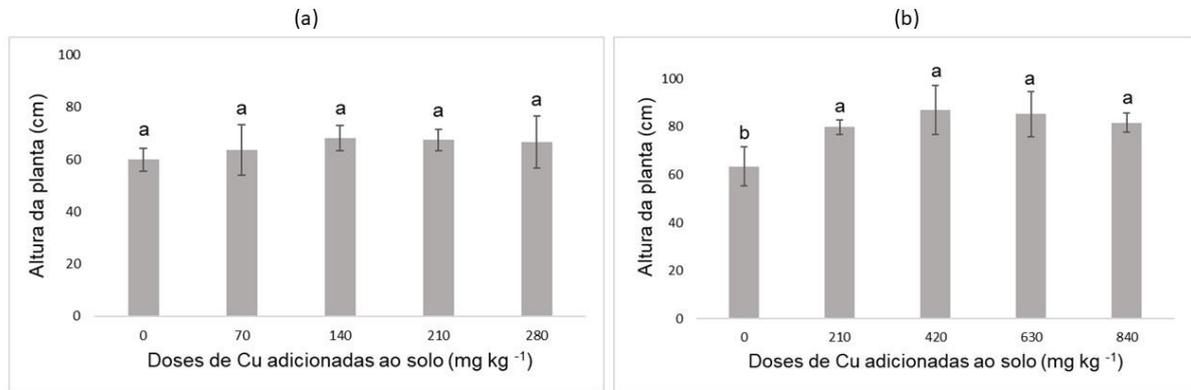


Figura 9 – Altura das plantas para o experimento 1 (a) e experimento 2 (b).

Barras verticais representam desvio padrão da média (n = 5). Letras minúsculas diferentes indicam que os valores médios são significativamente diferentes entre os tratamentos com  $p < 0,05$  de acordo com o teste de Tukey. Fonte: Elaborado pelo autor, 2020.

Kabata-Pendias e Pendias (2001) citam que o crescimento das plantas, sob o estresse de altas concentrações de Cu, é limitado. Contudo, como pode ser observado na Figura 9, as plantas tiveram bom desenvolvimento. Sendo observado no experimento 1 (Figura 9a) que a altura das plantas não diferiu significativamente entre si ( $p > 0,05$ ). Entretanto, no experimento 2 (Figura 9b) o T0 diferiu dos demais tratamentos ( $p > 0,05$ ).

Chaves et al. (2010), em seus estudos, também não obtiveram influência significativa dos tratamentos de Cu em relação à altura *Jatropha curcas* (pinhão-manso).

Por outro lado, diferindo do presente estudo, Menegaes et al. (2017) observaram que a altura das plantas de *Dendranthema grandiflora* Tzevelev (crisântemo) diminuiu conforme as doses de Cu aumentaram no solo, em ambos os ciclos de cultivo que foram realizados no estudo.

#### 5.4 PREPARO DAS AMOSTRAS

No período de 100 dias, enquanto o experimento estava instalado, iniciou-se os testes de preparo de amostras, tanto para o solo quanto para a *Lantana fucata* (utilizando mudas sobressalientes).

Optou-se pela determinação do Cu disponível no solo em detrimento do Cu total em virtude de esta ser a forma disponível para a absorção pelas plantas (GHAZARYAN et al., 2019). Ainda, pela dificuldade da decomposição da totalidade da matriz do solo, no preparo de via úmida por digestão, que demandaria o uso de ácido fluorídrico (HF), que além de exigir grande cuidado de manuseio ao analista, precisa ser retirado da solução da amostra, pois por ser um ácido que destrói a sílica, poderia vir a danificar o espectrômetro, como por exemplo o nebulizador e partes da ótica.

Diante disso, utilizou-se a solução extratora Mehlich-1, a qual é recomendada pela EMBRAPA (2011) para extração de micronutrientes na proporção 1:5 (solo-solução). Tavares, Oliveira e Salgado (2013) determinaram os teores de Cu disponíveis no solo por meio dos extratores DTPA (ácido dietilenotriaminopentaacético) e Mehlich-1 e, obtiveram maior eficiência na extração utilizando o extrator de Mehlich-1.

Já para *Lantana fucata* é de interesse obter o teor de Cu total metabolizado pelas diferentes partes da planta, desta maneira optou-se por procedimentos de preparo que objetivam a destruição completa dos tecidos e a liberação do Cu, desta maneira foi testado tanto procedimentos por via seca quanto por via úmida. Ressalta-se que a primeira etapa de ambos foi a moagem das subamostras da *Lantana fucata* (raízes, caules e folhas), conforme descrito subitem 4.9.2.3.

Os ensaios por via seca não se mostraram eficientes, pois não foi possível dissolver as cinzas. Outro ponto negativo deste preparo foi o espaço disponível na mufla (6 cadinhos) e o tempo, considerando que os preparos exigiram no mínimo 44 h por amostra, conforme observado na Tabela 4 no subitem 4.9.2.3.

Desta forma, iniciou-se o preparo das amostras por via úmida, onde foram realizados ensaios em diferentes condições, variando a temperatura, o tempo de aquecimento, o ácido (tipo e volume). Todos os preparos foram realizados em capela de exaustão.

Para tanto, 0,5 g de amostra e 4 mL de HNO<sub>3</sub> 65%, foram deixados em repouso por 12 h, para digestão prévia em temperatura ambiente conforme descrito por Carmo et al. (2000), tampados com um funil de vidro. Contudo, após as 12 h o ácido evaporou. Assim, o processo foi refeito e o funil foi substituído por rolhas de borracha. Após as 12 h verificou-se que as rolhas projetaram, pois, a decomposição das amostras gerou gases que por sua vez geraram pressão. Então, o ensaio foi repetido, sem deixar a amostra em repouso, e os tubos foram aquecidos, tampados com funil, em bloco digestor até 120 °C, posteriormente adicionados 2 mL de HClO<sub>4</sub> 70 % e aquecidos a 180 °C, onde permaneceram até o total desprendimento dos fumos brancos e o digerido se apresentar incolor. Apesar das modificações propostas, a amostra não foi digerida completamente.

Na sequência testou-se o preparo de amostras descrito Alaribe e Agamuthu (2019) para a *Lantana camara*. Assim, pesou-se 0,5 g, adicionou-se 7 mL HNO<sub>3</sub> 65% e 2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 35%. No entanto, ao adicionar o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> as amostras borbulharam até a borda do frasco, ocorrendo perdas. Então, foi testado o preparo proposto por Roohi et al. (2020) que utilizavam estes mesmos reagentes, neste 0,5 g de amostra com 5 mL de HNO<sub>3</sub> foram aquecidos a 125 °C por 1 h em bloco digestor. Foram feitos três ciclos de adição de 2 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e aquecimento por 30 min. Desde modo, as amostras não efervesceram, porém também não digeriram completamente. Também foi testado o uso da mistura tri-ácida HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e HClO<sub>4</sub>, na proporção 5:1:1, conforme descrito por Singh et al. (2016), mas a digestão também não foi completa.

Posteriormente, foram feitas adaptações do preparo proposto por Liu et al. (2019), onde foi utilizada a mistura nitro-perclórica (4:1, v/v) para a digestão da *Lantana camara*. O aquecimento das amostras foi feito conforme proposto pela Neto e Barreto (2011), o preparo consistiu na pesagem de 0,5 g de amostra seca e triturada, com a adição de 8 mL de HNO<sub>3</sub> e 2 mL de HClO<sub>4</sub>, repouso de 30 min e após submetidas a uma rampa de aquecimento com as temperaturas de 80, 120, 150, 180 e 190 °C. Este também não atingiu a digestão completa, mas visualmente apresentou a menor quantidade de sólido branco remanescente e a maior transparência do digerido para todas as partes da *Lantana fucata*. Sendo este o procedimento de preparo de amostras escolhido para os ensaios de validação de metodologia e para o preparo das amostras no decorrer do trabalho.

Cabe ressaltar que em todos os ensaios as amostras foram transferidas para tubo falcon cônicos de PP e aferidas com água ultrapura até 10 mL. Posteriormente, as amostras digeridas foram centrifugadas por 5 min a 5000 rpm e a fase sobrenadante transferida para um segundo tubo. O branco foi constituído somente pela mistura ácida e tratado igualmente as amostras.

## 5.5 pH DO SOLO

Micronutrientes, como o Cu, estão presentes na fase líquida do solo na forma de íons divalentes ( $\text{Cu}^{2+}$ ) e de complexos solúveis. Os íons de  $\text{Cu}^{2+}$  podem ser adsorvidos pela matéria orgânica, óxidos de Fe e Al, formando ligações muito estáveis. Contudo, com a diminuição do pH a disponibilidade do metal aumenta na fase líquida do solo (BISSANI et al., 2008). Desta maneira a determinação do pH do solo é de grande relevância quando se estuda a disponibilidade de metais.

A Tabela 7 mostra os valores obtidos de pH do solo, antes e depois do plantio, para o experimento 1 e 2.

Tabela 7 – Valores de pH do solo antes e depois do plantio.

	<b>Experimento 1</b>		<b>Experimento 2</b>	
	pH antes do plantio	pH depois do plantio (n=5)	pH antes do plantio	pH depois do plantio (n=5)
T0	5,23	5,91 ± 0,10	5,32	5,78 ± 0,14
T1	5,48	5,86 ± 0,07	5,11	5,56 ± 0,09
T2	5,41	5,76 ± 0,05	5,05	5,38 ± 0,12
T3	5,37	5,77 ± 0,06	4,90	5,27 ± 0,05
T4	5,30	5,59 ± 0,09	4,86	5,24 ± 0,14

Os dados do pH depois do plantio são apresentados como as médias do tratamento ± desvio padrão (n = número de repetições do experimento). Fonte: elaborado pelo autor, 2020.

Conforme pode ser observado, tanto antes do plantio quanto depois, o solo é ácido, o que pode favorecer a disponibilidade de Cu. Esta diferença também pode ser proveniente da interação entre a planta e o solo.

## 5.6 VALIDAÇÃO

A Tabela 8 apresenta as figuras de mérito da metodologia estudada para determinação de Cu em planta e solo.

Tabela 8 - Faixa de concentração linear e parâmetros de validação para determinação de Cu em amostras de solo e de planta por FAAS.

	<b>Planta</b>	<b>Solo</b>
<b>Faixa de trabalho (mg L<sup>-1</sup>)</b>	0,25 - 6	1 - 10
<b>a*</b>	0,0911 ± 7,51x10 <sup>-4</sup>	0,0685 ± 5,86x10 <sup>-4</sup>
<b>b*</b>	0,0036 ± 7,64x10 <sup>-4</sup>	0,0132 ± 1,01x10 <sup>-3</sup>
<b>R<sup>2</sup></b>	0,9998 ± 1,53x10 <sup>-4</sup>	0,9987 ± 1,51x10 <sup>-3</sup>
<b>LD (mg L<sup>-1</sup>)</b>	0,0202	0,0237
<b>LQ (mg L<sup>-1</sup>)</b>	0,0674	0,0789
<b>C<sub>0</sub> (mg L<sup>-1</sup>)</b>	0,0481	0,0641

a = coeficiente angular da reta; b = coeficiente linear da reta; R<sup>2</sup> = coeficiente de determinação; \* (n=3). Fonte: elaborado pelo autor, 2020.

A linearidade refere-se à capacidade do método de gerar resultados linearmente proporcionais à concentração do analito, dentro de uma faixa de trabalho específica. Esse parâmetro pode ser demonstrado pelo coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>), que quanto mais próximo de 1, representa um verdadeiro ajuste linear (HARRIS, 2013).

O LD representa a menor concentração do analito em estudo que pode ser detectada e o LQ representa a menor concentração do analito que pode ser quantificada em confiabilidade e precisão aceitável (INMETRO, 2020). Os valores foram calculados utilizando a média das inclinações da curva.

A C<sub>0</sub> é uma expressão de sensibilidade do FAAS e, representa a concentração do analito que gera sinal equivalente corresponde a absorvância de 0,0044 (1% de absorção).

Como pode ser visto na Tabela 8 o R<sup>2</sup>, LD, LQ e a C<sub>0</sub> para o procedimento desenvolvido foram adequados para determinação de Cu em ambas as amostras.

A precisão representa a variabilidade dos resultados, entre si, e a exatidão representa a proximidade dos resultados, ao valor aceito como verdadeiro, e pode ser determinada por meio do ensaio de recuperação (INMETRO, 2020). Os resultados estão ilustrados na Tabela 9.

Tabela 9 – Exatidão e Precisão do método (n=3).

<b>Concentração (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Recuperação (%)</b>	<b>CV (%)</b>
<b>Planta</b>		
1,0	106	10,42
3,0	107	2,47
<b>Solo</b>		
0,4	87	3,05
2,0	100	2,42
6,0	98	2,26

Fonte: Elaborado pelo autor, 2020.

Diante do exposto na Tabela 9, pode-se observar que os CV foram inferiores 11 %, assim pode-se afirmar que o método proposto para determinação de Cu, é preciso. A recuperação foi determinada pela fortificação das amostras de solo e planta. Ambas as amostras apresentaram recuperações dentro da faixa aceitável de 80-110 % (INMETRO, 2020).

## 5.7 DETERMINAÇÃO DE COBRE

### 5.7.1 Cobre no solo antes do plantio

A correlação linear entre as adições de Cu na forma de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  e teores de Cu disponíveis no solo antes do plantio, extraídos por Mehlich-1, foi avaliada pela aplicação do teste de correlação linear de Pearson (r). Ambos os experimentos apresentaram uma correlação linear significativa ( $r = 0,99$ ,  $p < 0,05$ ) entre as doses de Cu adicionadas ao solo em relação aos teores de Cu disponíveis, conforme pode ser observado na Figura 10.

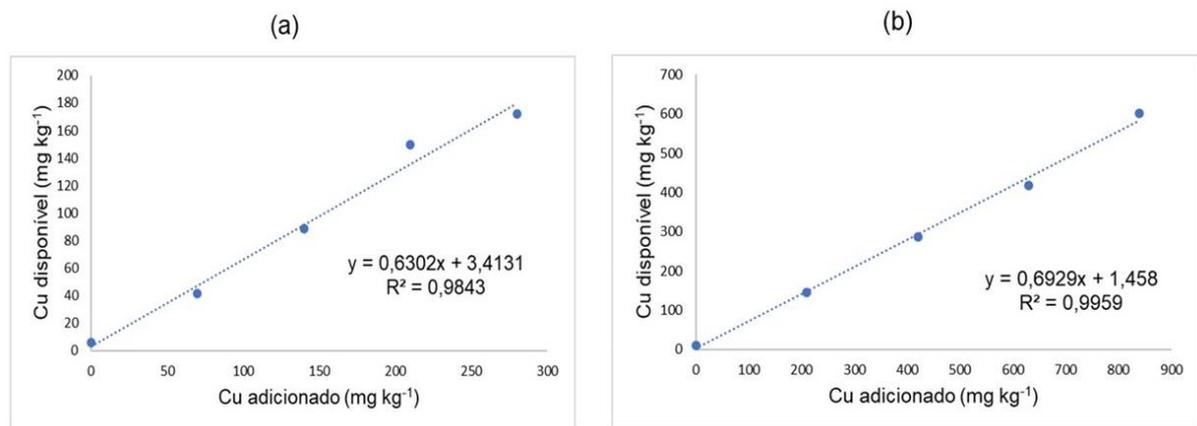


Figura 10 – Correlação linear entre concentração de cobre adicionado e disponível no solo antes do plantio para o experimento 1 (a) e para o experimento 2 (b). Fonte: elaborado pelo autor, 2020.

Ghazaryan et al. (2019), também obtiveram resultados semelhantes quando compararam a quantidade total com a quantidade disponível de metal presente no solo. Biassani et al. (2008) explicam que mesmo que a maior parte de Cu adicionado ao solo seja adsorvido pela fase sólida do solo (MO, óxidos de Fe e Al), o teor na solução do solo tende ser proporcional a quantidade adicionada, devido a atividade microbiana presente no meio.

Cabe ressaltar, que o impacto tóxico de metais nos ecossistemas é devido ao metal presente na solução do solo ( $\text{Cu}^{2+}$  e Cu-complexo solúvel), ou seja, não ao que está ligado a fase sólida do solo. Este impacto é acarretado pelo fato de que as plantas absorvem somente micronutrientes dissolvidos na fase líquida (GHAZARYAN et al., 2019; BIASSANI et al., 2008).

O Cu forma complexos solúveis com ânions orgânicos, como citratos, oxalato, glucamato e malato e estes complexos constituem entre 98 a 99% do Cu existente na solução do solo. Deste modo, a atividade microbiana presente no solo favorece a disponibilidade do metal para a planta (BIASSANI et al., 2008).

Biassani et al. (2008) sugerem que como o Cu forma complexos e quelatos com compostos orgânicos, também pode ser complexado com substâncias quelantes, como o ácido etilenodiamino-tetraacético (EDTA) para avaliar a disponibilidade do metal por meio da extração. Ainda, relatam que em solos ácidos,

os quelantes apresentam resultado semelhante à obtida com o uso de soluções ácidas diluídas, como o extrator Mehlich-1.

### 5.7.2 Cobre no solo depois do plantio

Os teores de Cu disponíveis no solo tiveram uma redução após o plantio, como pode ser observado na Tabela 10, para o experimento 1 e Tabela 11, para o experimento 2.

A diferença de Cu disponível no solo antes e depois do plantio foi apresentada como o valor teórico absorvido pela planta. Contudo, estes valores, para ambos os experimentos, foram inferiores ao total encontrado na planta (experimental). Isto, pode ser explicado pelo fato de que os micronutrientes são encontrados em equilíbrio entre a fase sólida e a fase líquida do solo e, conforme a planta absorve o Cu disponível na fase líquida, o equilíbrio é deslocado para compensar a perda (BISSANI et al., 2008).

Tabela 10 – Teores de Cu ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) disponíveis no solo (antes e depois do plantio) e na planta para o experimento 1.

	Solo		Planta	
	Antes do plantio (n=3)	Depois do plantio (n=5)	Teórico	Experimental
T0	5,74 ± 0,07	2,58 ± 0,25	3,16	29,46
T1	41,51 ± 1,68	27,07 ± 2,85	14,43	50,61
T2	88,94 ± 4,16	43,57 ± 4,80	45,37	69,21
T3	149,93 ± 2,24	78,25 ± 3,72	71,68	86,36
T4	172,12 ± 3,55	116,27 ± 12,89	55,83	95,65

Os dados do solo são apresentados como as médias do tratamento ± desvio padrão (n = número de repetições do experimento). Fonte: elaborado pelo autor, 2020.

Tabela 11 – Teores de Cu ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) disponíveis no solo (antes e depois do plantio) e na planta para o experimento 2.

	Solo		Planta	
	Antes do plantio (n=3)	Depois do plantio (n=5)	Teórico	Experimental
T0	10,81 $\pm$ 0,37	5,71 $\pm$ 0,34	5,10	39,51
T1	145,16 $\pm$ 5,72	100,34 $\pm$ 5,82	44,82	98,61
T2	286,65 $\pm$ 5,89	243,75 $\pm$ 3,40	42,91	84,76
T3	430,15 $\pm$ 6,68	386,88 $\pm$ 6,89	43,27	95,07
T4	602,11 $\pm$ 3,85	546,95 $\pm$ 7,49	55,16	114,31

Os dados do solo são apresentados como as médias do tratamento  $\pm$  desvio padrão (n = número de repetições do experimento). Fonte: elaborado pelo autor, 2020.

### 5.7.3 Acúmulo de cobre na parte aérea e no sistema radicular das plantas

Para analisar a relação entre as concentrações de Cu na planta e os tratamentos, foram elaborados gráficos de regressão linear (Figura 11).

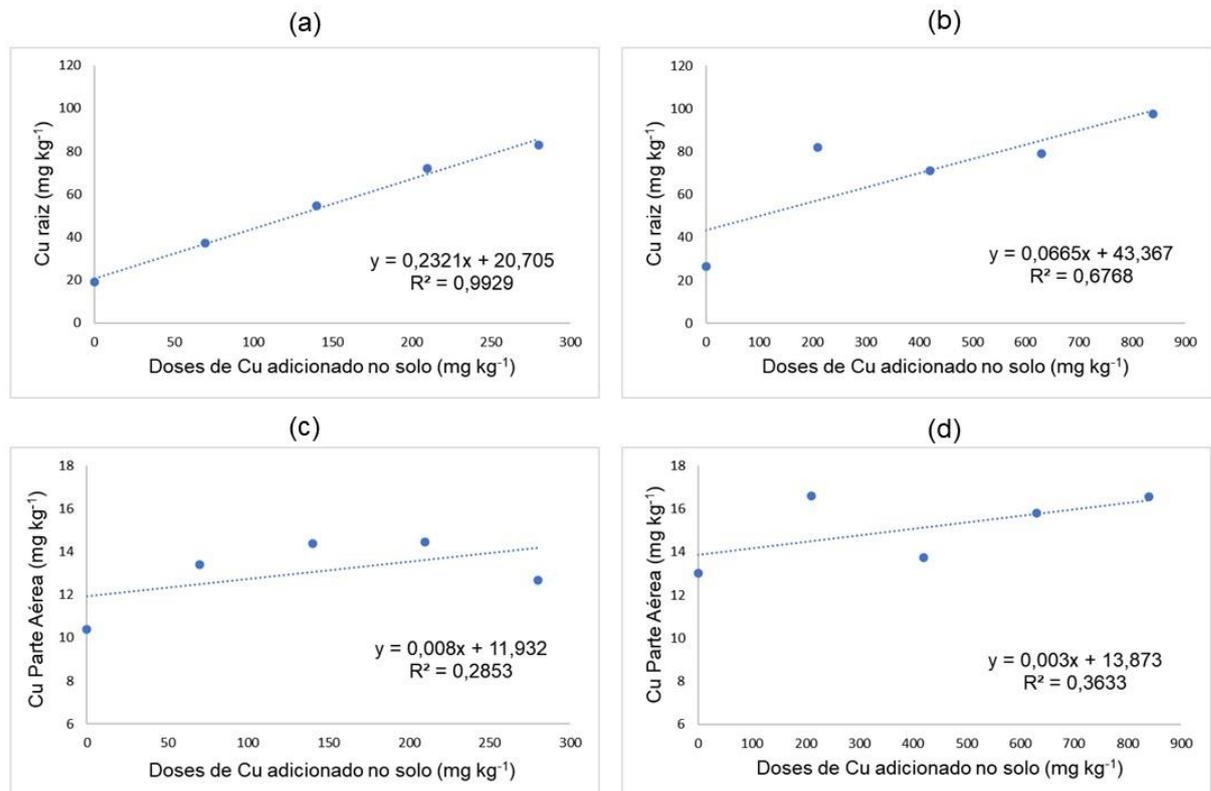


Figura 11 – Concentrações de Cu presente na raiz e parte aérea no experimento 1 (a,c) e experimento 2 (b,d). Fonte: elaborado pelo autor, 2020.

Como pode ser visto, somente a raiz do experimento 1 teve relação de dependência com a quantidade de Cu adicionado no solo (Figura 11a). Para confirmar a dependência, foi realizada a análise de correlação linear de Pearson entre as concentrações de Cu adicionadas no solo e as de Cu total na planta. As quantidades presentes nas partes aéreas (folhas + caule) não apresentaram correlação significativa em relação a quantidade de Cu adicionada no solo, tanto para o experimento 1 ( $r=0,53$ ,  $p>0,05$ ) (Figura 11c) quanto para o experimento 2 ( $r=0,60$ ,  $p>0,05$ ) (Figura 11d).

Já as doses de Cu adicionadas ao solo exerceram influência sobre a quantidade de Cu absorvido pelas raízes no experimento 1 (Figura 11a), obtendo-se correlação forte e significativa ( $r=0,99$ ,  $p<0,05$ ). Contudo, o experimento 2, apesar de ter correlação forte, não foi significativa ( $r=0,82$ ,  $p>0,05$ ) (Figura 11b).

Menegaes et al. (2017), avaliaram a concentração de Cu presente no *Dendranthema grandiflora* Tzevelev (crisântemo) e observaram que a parte radicular apresentou maior correlação em relação as doses de Cu adicionadas no solo ( $R^2 = 0,96$ ) do que a relação entre a parte aérea e as doses de Cu adicionadas ( $R^2 = 0,81$ ).

Atrelado a isso, a maior quantidade de Cu presente na planta estar localizada na parte radicular, pode ser atribuído ao fato de que a planta desenvolveu um mecanismo de adaptação em resposta à toxicidade do metal, como por exemplo, a imobilização do excesso de Cu na raiz e, portanto baixa translocação do metal para a parte aérea (SILVA et al., 2015; YRUELA, 2009).

## 5.8 ÍNDICES DE FITORREMEDIAÇÃO

### 5.8.1 Fator de translocação (FT) e bioconcentração (FBC)

A avaliação e a seleção de plantas para fins de fitorremediação depende inteiramente dos valores de FT e FBC (WU et al., 2011). Os valores destes índices estão apresentados nas Tabelas 12 e 13, para o experimento 1 e 2, respectivamente.

Tabela 12 – FT, FBC e acúmulo de Cu para o experimento 1.

	Cu Adicionado ao solo (mg kg <sup>-1</sup> )	Cu na parte aérea (mg kg <sup>-1</sup> )	Cu na parte radicular (mg kg <sup>-1</sup> )	Cu no solo (mg kg <sup>-1</sup> )*	FT	FBC
T0	0	10,38	19,08	2,58 ± 0,254	0,56 ± 0,098 <sup>a</sup>	<b>7,41 ± 1,351<sup>a</sup></b>
T1	70	13,37	37,22	27,07 ± 2,849	0,36 ± 0,018 <sup>b</sup>	<b>1,40 ± 0,274<sup>b</sup></b>
T2	140	14,38	54,83	43,57 ± 4,804	0,26 ± 0,012 <sup>c</sup>	<b>1,28 ± 0,240<sup>b</sup></b>
T3	210	14,43	71,93	78,25 ± 3,276	0,20 ± 0,010 <sup>cd</sup>	0,92 ± 0,083 <sup>b</sup>
T4	280	12,67	82,97	116,27 ± 12,886	0,15 ± 0,024 <sup>d</sup>	0,73 ± 0,168 <sup>b</sup>

Os dados são apresentados como as médias ± desvio padrão (n = 5). Diferentes letras minúsculas em cada coluna indicam que os valores médios são significativamente diferentes entre os tratamentos a 5% de significância de acordo com o teste de Tukey. Valores de FT e FBC >1 estão em negrito. \* Cu disponível no solo após o plantio. Fonte: Elaborado pelo autor, 2020.

Tabela 13 - FT, FBC e acúmulo de Cu para o experimento 2.

	Cu Adicionado ao solo (mg kg <sup>-1</sup> )	Cu na parte aérea (mg kg <sup>-1</sup> )	Cu na parte radicular (mg kg <sup>-1</sup> )	Cu no solo (mg kg <sup>-1</sup> )*	FT	FBC
T0	0	13,00	26,51	5,71 ± 0,34	0,52 ± 0,148 <sup>a</sup>	<b>4,68 ± 1,301<sup>a</sup></b>
T1	210	16,59	82,02	100,34 ± 5,82	0,20 ± 0,025 <sup>b</sup>	0,82 ± 0,055 <sup>b</sup>
T2	420	13,75	71,01	243,75 ± 3,40	0,19 ± 0,013 <sup>b</sup>	0,29 ± 0,028 <sup>b</sup>
T3	630	15,80	79,27	386,88 ± 6,89	0,20 ± 0,010 <sup>b</sup>	0,21 ± 0,035 <sup>b</sup>
T4	840	16,57	97,74	546,95 ± 7,49	0,17 ± 0,032 <sup>b</sup>	0,18 ± 0,030 <sup>b</sup>

Os dados são apresentados como as médias ± desvio padrão (n = 5). Diferentes letras minúsculas em cada coluna indicam que os valores médios são significativamente diferentes entre os tratamentos a 5% de significância de acordo com o teste de Tukey. Valores de FT e FBC >1 estão em negrito. \* Cu disponível no solo após o plantio. Fonte: Elaborado pelo autor, 2020.

A capacidade das plantas de translocar metais das raízes para parte aérea é estimado pelo FT e a capacidade de acumular metais, retirados do solo, pode ser estimada pelo FBC. O mecanismo de fitoextração requer a translocação de metais para a parte aérea da planta, enquanto o mecanismo de fitoestabilização requer a capacidade de reduzir a translocação de metal e mantê-lo nas raízes. Assim, as plantas com FT e FBC maiores que um (FT > 1, BCF > 1) têm potencial para uso em fitoextração. Plantas com FT menor que um e FBC maior que um (TF < 1, BCF > 1) têm potencial para fitoestabilização. Uma planta hiperacumuladora deve ter BCF > 1 e TF > 1, bem como total acumulação de Cu maior 1000 mg kg<sup>-1</sup> (BINI et al., 2012).

Os valores de FT, para ambos os experimentos, foram inferiores a um ( $FT < 1$ ) logo não houve translocação de Cu da parte radicular para a parte aérea da planta, indicando que a *Lantana fucata* não é adequada para fins de fitoextração.

No entanto, ao avaliar os valores de FBC nas Tabelas 12 e 13 é possível verificar que a *Lantana fucata* apresenta valores de FBC superiores a um ( $FBC > 1$ ) para os tratamentos 1 ( $70 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e 2 ( $140 \text{ mg kg}^{-1}$ ) do experimento 1, além dos tratamentos 0 (sem adição de Cu) para ambos os experimentos. Isto pode ser explicado segundo Kabata-Pendias e Pendias (2001), que dizem que os tecidos radiculares tem forte capacidade de reter o Cu, impedindo o transporte para a parte aérea, tanto em condições de excesso quanto de deficiência deste metal.

Como pode ser visto, nas Tabelas 12 e 13, os valores FBC diminuem conforme as doses de Cu aumentam, para ambos os experimentos. Verifica-se na Equação 6, do item 4.11, usada para o cálculo do FBC, que o Cu presente no solo se encontra no denominador enquanto o Cu absorvido pelas raízes está no numerador. Sabe-se que cada tratamento possui quantidades crescentes do metal e observa-se nas Tabelas 12 e 13 que a quantidade do metal presente na parte radicular da *Lantana fucata*, apresenta valores máximos de 82,97 e 97,74  $\text{mg kg}^{-1}$ . Sendo assim, infere-se que mesmo a planta acumulando metal em suas raízes a alta concentração de Cu remanescente no solo pós-plantio reflete o índice de FBC menor que um ( $FBC > 1$ ), mesmo a planta tendo acumulado metal em seus tecidos.

O mesmo pode ser observado para os valores de FT que diminuem conforme doses de Cu aumentam, para ambos os experimentos. Isto porque, a proporção da concentração de metal presente nas raízes em relação a parte aérea é maior, em todos os tratamentos, tanto para o experimento 1 quanto para o experimento 2.

Contudo, somente o FT do experimento 1 apresentou diferença significativa no teste de Tukey ( $p > 0,05$ ) entre tratamentos, não sendo significativo apenas nas doses de 210 e 280  $\text{mg kg}^{-1}$ . Os demais tratamentos, para ambos experimentos, apresentaram diferença significativa apenas em relação ao controle e não diferiram entre si nos tratamentos, ou seja, o teor de Cu disponível no solo nestes casos não influenciou a resposta encontrada nos fatores (FT e FBC).

Liu et al. (2019) investigaram o potencial fitorremediador da *Lantana camara* para o Cd, em duas áreas de mineração e obtiveram valores superiores a um para ambos os fatores ( $FT > 1$ ,  $BCF > 1$ ), indicando que a espécie em estudo tem potencial

para fins de fitoextração com solos contaminados com Cd. Os autores também analisaram a quantidade de Cu, Pb e Zn presentes no solo e na planta e, para estes metais, obtiveram valores inferiores a um para FT e FBC, o que sugere que a *Lantana camara* pode não ter potencial fitorremediador para o Cu.

A *Lantana fucata*, além de não apresentar o mecanismo de fitoextração também não apresentou característica de uma planta hiperacumuladora, visto que teve um acúmulo de Cu em seus tecidos inferior a  $1000 \text{ mg kg}^{-1}$ , acumulando na faixa de 29,46 a  $95,65 \text{ mg kg}^{-1}$  e 39,51 a  $114,31 \text{ mg kg}^{-1}$ , para o experimento 1 e 2, respectivamente. Entretanto, destaca-se que a *Lantana fucata* absorveu valores acima do considerado normal ( $20 \text{ mg kg}^{-1}$ ) de acordo com Kabata-Pendias e Pendias (2001).

### **5.8.2 Taxa de extração do metal (TEM) e índice de tolerância (IT)**

A TEM relaciona percentualmente a capacidade da planta em extrair o metal do solo em função da sua massa seca e leva em consideração no cálculo o volume do solo enraizado pela planta em estudo. Ou seja, um valor de TEM de 10% significa que 10% do metal no solo podem ser removidos em uma colheita (MERTENS; SEBASTIAAN; VERHEYEN, 2005).

Os resultados da TEM para a *Lantana fucata* podem ser observados na Tabela 14.

Tabela 14 – Valores da TEM para o experimento 1 e 2.

	Experimento 1		Experimento 2	
	Cu Adicionado ao solo (mg kg <sup>-1</sup> )	TEM (%)	Cu Adicionado ao solo (mg kg <sup>-1</sup> )	TEM (%)
T0	0	12,98 ± 1,967 <sup>a</sup>	0	4,36 ± 0,711 <sup>a</sup>
T1	70	2,15 ± 0,329 <sup>b</sup>	210	0,67 ± 0,063 <sup>b</sup>
T2	140	1,95 ± 0,370 <sup>b</sup>	420	0,26 ± 0,025 <sup>b</sup>
T3	210	1,34 ± 0,175 <sup>b</sup>	630	0,16 ± 0,027 <sup>b</sup>
T4	280	0,99 ± 0,154 <sup>b</sup>	840	0,14 ± 0,014 <sup>b</sup>

Os dados são apresentados como as médias ± desvio padrão (n = 5). Diferentes letras minúsculas em cada coluna indicam que os valores médios são significativamente diferentes entre os tratamentos a 5% de significância de acordo com o teste de Tukey. Fonte: elaborado pelo autor, 2020.

Pode-se observar que a TEM diminuiu conforme a dose de Cu adicionada ao solo aumentou, diferenciando significativamente em relação ao controle ( $p < 0,05$ ) para ambos os experimentos.

Como a TEM leva em consideração o volume enraizado pela planta e a massa seca total da planta, faz-se necessário ressaltar a diferença entre os experimentos, visto que no experimento 1 foi utilizado a massa seca de 3 plantas e o volume dos 3 vasos e, para o experimento 2, a massa seca de 5 plantas e o volume do vaso. Isto explica a diferença de TEM para a dose adicionada ao solo de 210 mg kg<sup>-1</sup>, onde obteve-se 1,34 e 0,67 % de extração do metal para o experimento 1 e 2, respectivamente.

A extração de Cu do solo foi mais efetiva no tratamento 0, onde as plantas extraíram 12,98 e 4,36 % do metal, no experimento 1 e 2, respectivamente. Já no tratamento com a dose mais alta de Cu (840 mg kg<sup>-1</sup>), a planta teve capacidade para extrair apenas 0,14 % do metal presente no solo durante o período experimental. Ou seja, para remover 840 mg Cu kg<sup>-1</sup>, presentes nos 7 kg de solo, seriam necessários no máximo 715 ciclos de cultivos, com igual duração, para remover 100% do metal adicionado ao solo. Contudo, na dose mais alta de Cu do experimento 1 (280 mg kg<sup>-1</sup>), a planta obteve extração de 0,99 %, sendo necessários no máximo 101 ciclos de cultivo para remover 100% do metal adicionado. Considerando o VP e o VI do CONAMA a planta precisaria no máximo de 46 e 149 ciclos de cultivo para remover 100%, respectivamente.

O IT mensura a capacidade das plantas de crescer em ambientes com altas concentrações de Cu. O índice é calculado por meio da relação entre a massa seca da planta do tratamento de interesse com a massa seca do controle (SILVA et al., 2015).

A produção de massa seca está relacionada com a tolerância da planta ao metal (MENEGAES et al., 2017), isto porque estas possuem adaptações bioquímicas que controlam a absorção, acúmulo e translocação de metais em níveis tóxicos nos tecidos, permitindo que algumas plantas se tornem tolerantes (SILVA et al., 2015).

A produção de massa seca e o IT para os experimentos 1 e 2 podem ser observados na figura 12. Em relação à quantidade de massa seca, não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos em ambos experimentos, e variou entre 47,62 - 51,06 g para o experimento 1 e 44,21 - 51,78 g para o experimento 2.

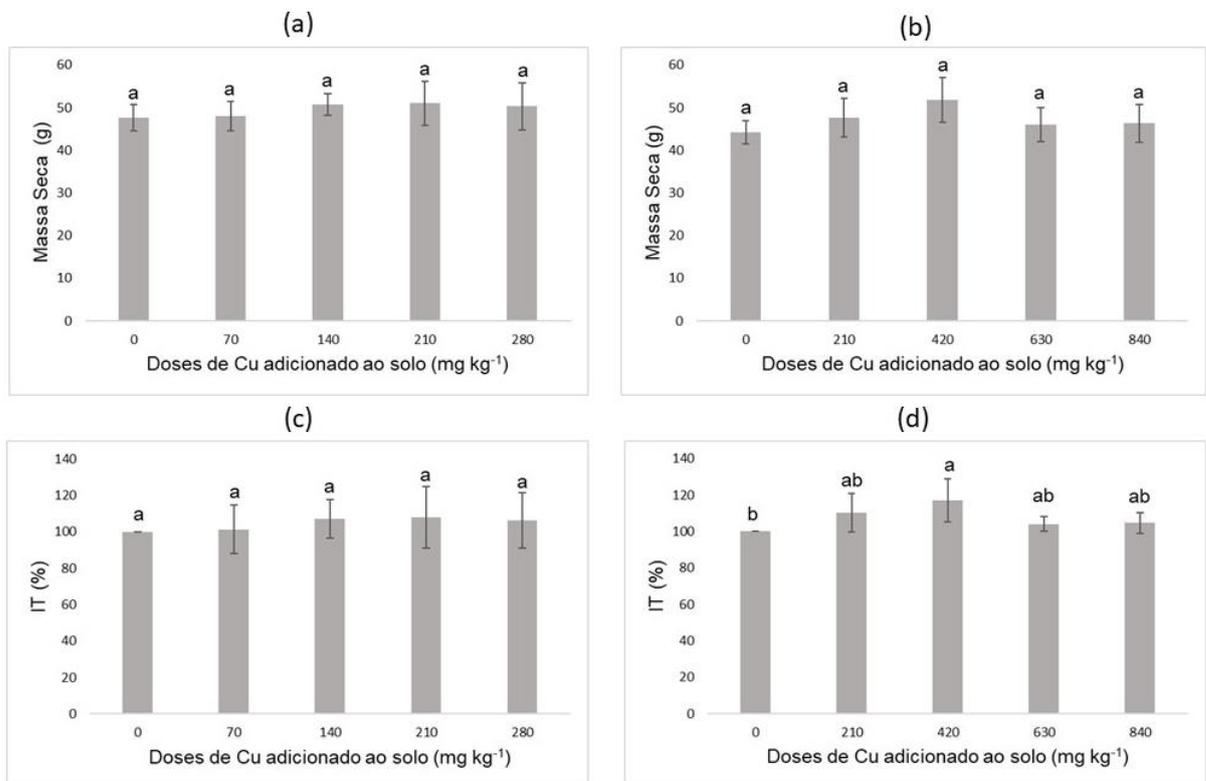


Figura 12– Massa seca total e Índice de Tolerância (IT) no experimento 1 (a,c) e experimento 2 (b,d). Médias (n=5) seguidas de diferentes letras minúsculas em cada barra indicam que os valores médios são significativamente diferentes entre os tratamentos a 5% de significância de acordo com o teste de Tukey. Fonte: elaborado pelo do autor, 2020.

Pode ser observado na Figura 12, que a concentração de Cu em que a *Lantana fucata* apresentou maior IT (117,23 %) foi em 420 mg kg<sup>-1</sup>, correspondente ao T2 do experimento 2, tratamento este em que também apresentou a maior massa seca (Figura 12b), o que corrobora com a relação entre a massa seca e a tolerância citada anteriormente. Além disso, o IT, para o experimento 1 (Figura 12c) não teve diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos, mas para o experimento 2 (Figura 12d) o IT somente para o T2 (420 mg kg<sup>-1</sup>) diferiu significativamente do T0 ( $p>0,05$ ).

Sendo assim, afirma-se que a *Lantana fucata* se mostrou tolerante ao Cu nas doses estudadas, pois todos os tratamentos, quando comparados com o tratamento 0 (IT=100 %), apresentaram boa tolerância ao metal (IT > 100 %).

## 6 CONCLUSÕES

Visando remediar o excesso de Cu no solo, o presente estudo avaliou a capacidade fitorremediadora da *Lantana fucata* planta nativa no Brasil. A espécie teve bom desenvolvimento vegetal, apresentou tolerância de cultivo em solo contaminado, bem como absorveu quantidades do metal superiores ao encontrado normalmente na maioria das espécies vegetais, acumulando principalmente nas raízes. Sendo assim, a *Lantana fucata* tem potencial para ser cultivada em áreas poluídas com resíduo metálico de Cu.

Entretanto, apesar da planta ser tolerante ao metal, ela apresentou baixa eficiência fitorremediativa, sendo fitoestabilizadora em solos apenas nas concentrações inferiores a  $140 \text{ mg kg}^{-1}$  de Cu.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A redução da contaminação de metais no solo pela técnica da fitorremediação é uma alternativa viável. Contudo, é necessário que mais pesquisas sejam realizadas com o intuito de avaliar a capacidade de cada espécie vegetal.

A *Lantana fucata* não se mostrou eficiente para fitorremediação de Cu, nas condições investigadas neste estudo, no entanto trabalhos futuros utilizando amenizantes no solo podem vir a auxiliar no processo, aumentando a eficiência da fitorremediação do Cu pela espécie em estudo, visto que ela apresentou alta tolerância, bem como foi de fácil propagação e plantio. Considerando-se a beleza ornamental da planta e a boa adaptação em diversos locais, acredita-se que a *Lantana fucata* apresenta características vantajosas caso possa ser aplicada como uma tecnologia para fitorremediação de grandes áreas.

Também, podem ser realizados estudos futuros utilizando outros metais, visto que plantas do gênero *Lantana* tem perspectivas na tecnologia da fitorremediação, haja vista a *Lantana camara* que já demonstrou ser hiperacumuladora de Cd.

## REFERÊNCIAS

- ALARIBE, F. O.; AGAMUTHU, P. Lantana camara—an Ecological Bioindicator Plant for Decontamination of Pb-Impaired Soil Under Organic Waste-Supplemented Scenarios. **Pedosphere**, v. 29, n. 2, p. 248–258, 2019.
- ALI, H.; KHAN, E.; SAJAD, M. A. Phytoremediation of heavy metals-Concepts and applications. **Chemosphere**, v. 91, n. 7, p. 869–881, 2013.
- ANDREAZZA, R. et al. Bioremediation of copper contaminated areas. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, n. 2, p. 127–136, 2013.
- ARENA, K. R.; HARTMANN, L. A.; BAGGIO, S. B. Geological controls of copper, gold and silver in the Serra Geral Group, Realeza region, Paraná, Brazil. **Ore Geology Reviews**, v. 63, n. September 2017, p. 178–200, 2014.
- AVIÑÓ, J. P. N.; ALONSO, A.; MOYA, L. Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. **Ecosistemas**, v. 16, n. 2, p. 1–9, 2007.
- BIASSANI, C. A., et al. **Fertilidade dos solos e manejo da adubação de culturas**. Porto Alegre : Metrópole, 2008.
- BINI, C. et al. Effects of heavy metals on morphological characteristics of Taraxacum officinale Web growing on mine soils in NE Italy. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 123, n. December, p. 101–108, 2012.
- BONFIM, A. C. F. **Avaliação de metais e fitorremediação de solos adjacentes à rodovia washington luiz no Rio de Janeiro**. 2018. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.
- CARMO, C. A. F. DE S. DO et al. Métodos de Análises de Tecidos Vegetais Utilizados na Embrapa Solos. **Embrapa solos**, p. 41, 2000.
- CHAVES, L. H. G. et al. Crescimento, distribuição e acúmulo de cobre e zinco em plantas de pinhão-manso. **Revista Ciencia Agronomica**, v. 41, n. 2, p. 167–176, 2010.
- CONAMA. **Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA)**. Resolução 420, de 28 /12/2009 Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. Brasília-DF, Brasil: Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 249. 2009
- CRUZ, L.V.V.; SALIMENA, F.R.G. Verbenaceae J.St.-Hil. do Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil. **Boletim de Botânica**, v. 35, p.65-74, 2017.
- CUSKE, M.; KARCZEWSKA, A.; GAŁKA, B. Ultrasonic Cleaning of Plant Roots in Their Preparation for Analysis on Heavy Metals. n. 35, 2014.

DROZDOVA, I. et al. A comparative study of the accumulation of trace elements in Brassicaceae plant species with phytoremediation potential. **Applied Geochemistry**, v. 108, n. December 2018, p. 1–7, 2019.

EMBRAPA. **Manual de Métodos de Análise de Solo**. 2ª edição - Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2011

EMBRAPA, **Analises químicas e bioquímicas em plantas**- Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2000.

GHAZARYAN, K. et al. Copper phytoremediation potential of wild plant species growing in the mine polluted areas of Armenia. **Environmental Pollution**, v. 249, p. 491–501, 2019.

GIROTTI, E. et al. Triggered antioxidant defense mechanism in maize grown in soil with accumulation of Cu and Zn due to intensive application of pig slurry. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 93, p. 145–155, 2013.

GUO, G.; ZHOU, Q.; MA, L. Q. For the in situ remediation of heavy metal contaminated soils: a review. **Environmental Monitoring and Assessment**. p. 513–528, 2006.

HARRIS, D. C., *Análise Química Quantitativa*, 8ª Edição, Rio de Janeiro: LTC, 2013.

HUNGRIA, L. C. et al. Tolerância de plantas de Jambu (*Acmella oleracea*) cultivadas em solo contaminado por cádmio. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 11, p. 26211–26219, 2019.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos, DOQ-CGCRE-008, 9ª revisão, 2020.

INOUE, M. Phytochelatins. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 17, n. 1, p. 65–78, 2005.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace Elements in Soils and Plants Trace Elements in Soils and Plants**. CRC Press, Boca Ratón, Florida, 2001.

KUMAR, P. B., A. N., DUHENKOV, V., MOTO, H., RASKIN, I. Pytoextracion: The use of plants to remove heavy metals from soils. *Environmental Science & Technology*. V.29, n. 5, p. 1239-1245, 1995.

LORENZI, H. **Plantas Daninhas do Brasil: Terrestres, Aquáticas, Parasitas e Tóxicas**. Instituto Plantarum. Nova Odessa, SP, 4ª ed. 2008. 672p.

LIU, S. et al. A newly discovered Cd-hyperaccumulator *Lantana camara* L. **Journal of Hazardous Materials**, v. 371, n. March, p. 233–242, 2019.

- MARQUES, M.; AGUIAR, C. R. C.; DA SILVA, J. J. L. S. Desafios técnicos e barreiras sociais, econômicas e regulatórias na fitorremediação de solos contaminados. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 9, n. 3, p. 1–11, 2011.
- MEJÍA, P. V. L. et al. Metodologia para Seleção de Técnica de Fitorremediação em Áreas Contaminadas. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais**, v. 31, p. 97–104, 2014.
- MELO, É. E. C. DE et al. Disponibilidade e fracionamento de Cd, Pb, Cu e Zn em função do pH e tempo de incubação com o solo. **Ciência e Agrotecnologia**, [s.l.], v. 32, n. 3, p.776-784, 2008.
- MENEGAES, J. F. et al. Avaliação do potencial fitorremediador de crisântemo em solo com excesso de cobre. **Ornamental Horticulture**, v. 23, n. 1, p. 63, 2017.
- MERTENS, J.; SEBASTIAAN, L.; VERHEYEN, K. Use and abuse of trace metal concentrations in plant tissue for biomonitoring and phytoextraction. **Environmental Pollution**, v. 138, p. 1–4, 2005.
- NETO, E. B.; BARRETO, L. P. Análises químicas e bioquímicas em plantas – Recife: Editora Universitaria UFRPE, 2011.
- ODJEGBA, V. J.; FASIDI, I. O. Phytoremediation of heavy metals by *Eichhornia crassipes*. **Environmentalist**, v. 27, n. 3, p. 349–355, 2007.
- PEREIRA, R. B. E PINHEIRO, J. B. (ISSN 1415-3033) Manejo integrado de doenças em hortaliças em cultivo orgânico. Circular Técnica 111, **Embrapa**, 1° ed, 2012.
- PIETRZAK, U.; MCPHAIL, D. C. Copper accumulation , distribution and fractionation in vineyard soils of Victoria , Australia. **Geoderma**, v. 122, p. 151–166, 2004.
- PILON-SMITS, E., Phytoremediation. Annu. **Rev. Plant Biol.** 56, 15–39. 2005.
- PIRES, F. R. et al. Fitorremediação de solos contaminados com herbicidas. **Planta Daninha**, v. 21, n. 2, p. 335–341, 2005.
- PRINTZ, B. et al. Copper trafficking in plants and its implication on cell wall dynamics. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. May, p. 1–16, 2016.
- ROOHI, R. et al. Application of artificial neural network model for the identification the effect of municipal waste compost and biochar on phytoremediation of contaminated soils. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 208, n. October 2019, p. 106399, 2020.
- SALIMENA, F.R.G., Thode, V., Mulgura, M., O'Leary, N. Verbenaceae *in* **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010.
- SANTANA, N. A. et al. Vermicompost dose and mycorrhization determine the efficiency of copper phytoremediation by *Canavalia ensiformis*. **Environmental**

**Science and Pollution Research**, v. 25, n. 13, p. 12663–12677, 2018.

SCHMITT, O. J. et al. Impact of Cu concentrations in nutrient solution on growth and physiological and biochemical parameters of beet and cabbage and human health risk assessment. **Scientia Horticulturae**, v. 272, n. June, p. 109558, 2020.

SCHMITT, O. J. **Cobre em solos cultivados com hortaliças no Rio Grande do Sul e efeitos de concentrações em plantas de beterraba e repolho**. 2018. 146 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, 2018.

SILVA, R. F. DA et al. Copper translocation and tolerance in seedlings of tree species grown in contaminated soil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, n. 11, p. 1093–1099, 2015.

SILVA, T. R. DOS S.; LIMA, C. T. Flora da Bahia: Verbenaceae 1: Lantana. **SITIENTIBUS série Ciências Biológicas**, v. 12, n. 2, p. 245, 2012.

SINGH, A. et al. Phytoremediation potential of weed plants' oxidative biomarker and antioxidant responses. **Chemistry and Ecology**, v. 32, n. 7, p. 684–706, 2016.

SUN, Y.; ZHOU, Q.; DIAO, C. Effects of cadmium and arsenic on growth and metal accumulation of Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 5, p. 1103–1110, 2008.

TAVARES, S. R. DE L.; OLIVEIRA, S. A. DE; SALGADO, C. M. Avaliação De Espécies Vegetais Na Fitorremediação De Solos Contaminados Por Metais Pesados. **Holos**, v. 5, p. 80, 2013.

WAOO, A. A.; KHARE, S.; GANGULY, S. Evaluation of Phytoremediation Potential of *Lantana camara* for Heavy Metals in an Industrially Polluted Area in Bhopal , India. **International Journal of Engineering and Applied Sciences**, v. 1, n. 2, p. 1–3, 2014.

WU, Q. et al. Phytostabilization potential of *Jatropha curcas* L. in polymetallic acid mine tailings. **International Journal of Phytoremediation**, v. 13, n. 8, p. 788–804, 2011.

YADAV, K. K. et al. Mechanistic understanding and holistic approach of phytoremediation: A review on application and future prospects. **Ecological Engineering**, v. 120, n. May, p. 274–298, 2018.

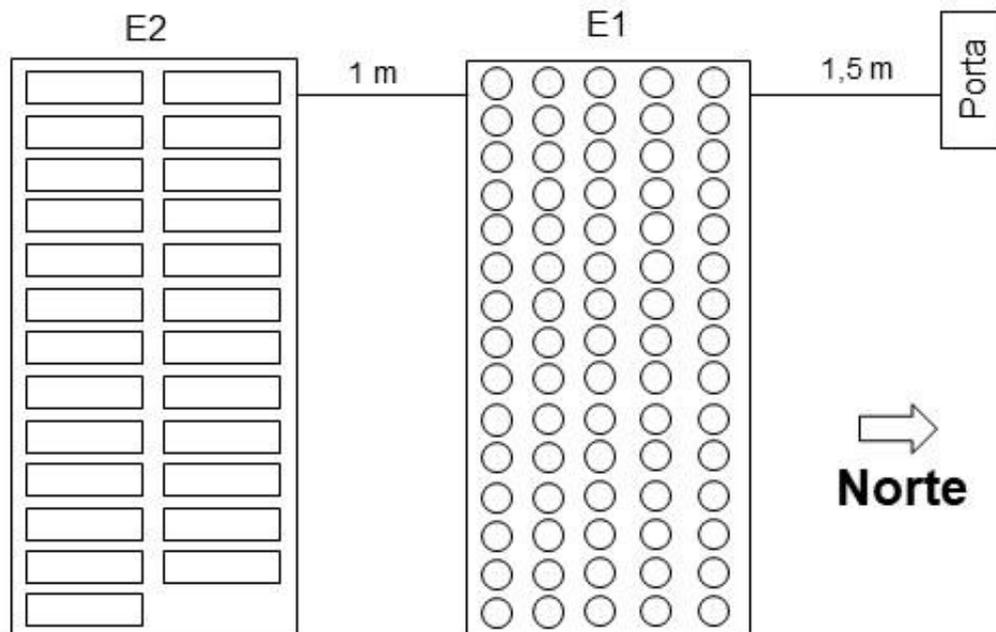
YOON, J. et al. Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. **Science of the Total Environment**, v. 368, p. 456–464, 2006.

YRUELA, I. Copper in plants: Acquisition, transport and interactions. **Functional Plant Biology**, v. 36, n. 5, p. 409–430, 2009.

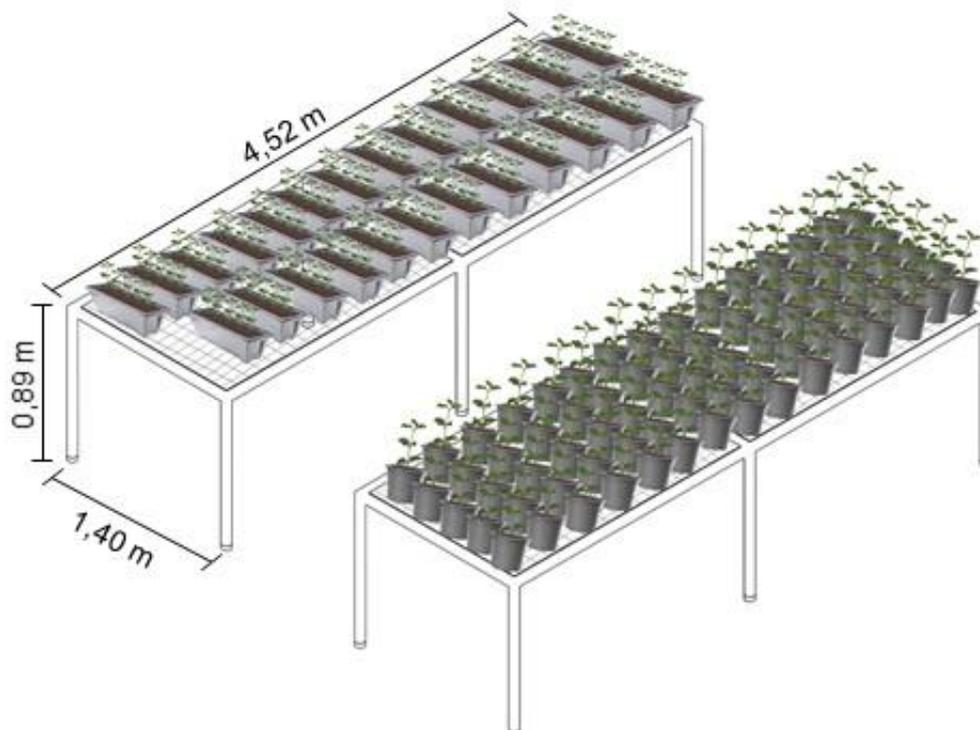
ZANCHETA, A. C. F. et al. Cultivadas Em Solução Nutritiva. **Bragantia**, v. 70, n. 4, p. 737–744, 2011.

## APÊNDICES

Apêndice A - Croqui dos experimentos dentro da casa de vegetação da área experimental da UFFS – Campus Cerro Largo.



Vista superior das bancadas



Vista lateral das bancadas

Fonte: elaborado pelo autor, 2020.

Apendice B – Análise estatística dos dados do sensor ao longo do período experimental.

	Temperatura do Ar (°C)	Umidade relativa do ar (%)	Umidade do solo (%)	Temperatura do solo (°C)
Média	22.25	84.98	50.87	21.13
Desvio Padrão	7.03	19.02	12.79	6.62
Mínima	6.70	32.70	30.00	6.19
Máxima	37.30	99.90	76.00	34.56

Fonte: elaborado pelo autor, 2020.