MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL
CÂMPUS APUCARANA E LONDRINA

MARIA THERESA BETTIN BOLDARINI

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA CONTAMINAÇÃO DE COBRE NO SOLO SOBRE *Mentha crispa* L.

LONDRINA
2017

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL
CÂMPUS APUCARANA E LONDRINA

MARIA THERESA BETTIN BOLDARINI

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA CONTAMINAÇÃO DE COBRE NO SOLO SOBRE *Mentha crispa* L.

Dissertação de Mestrado, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Apucarana/Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof. Drª Alessandra Furtado da Silva
Co-orientador: Prof. Dr. Marcelo Hidemassa Anami

LONDRINA
2017

TERMO DE LICENCIAMENTO

Esta Dissertação está licenciada sob uma Licença Creative Commons *atribuição uso não-comercial/compartilhamento sob a mesma licença 4.0 Brasil*. Para ver uma cópia desta licença, visite o endereço http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/ ou envie uma carta para Creative Commons, 171 Second Street, Suite 300, San Francisco, Califórnia 94105, USA.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca UTFPR - Câmpus Londrina

B687a Boldarini, Maria Theresa Bettin
Avaliação dos efeitos da contaminação de cobre no solo sobre *Mentha crispa L.* / Maria Theresa Bettin Boldarini - Londrina: [s.n.], 2017.
41 f. ; il. ; 30 cm

Orientador: Prof.ª Dr.ª Alessandra Furtado da Silva
Co-orientador: Prof. Dr. Marcelo Hidemassa Anami
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. Londrina, 2017.
Bibliografia: f. 37-41

1.Solo - Contaminação. 2. Cobre. 3. Hortelã. I. Silva, Alessandra Furtado da, orient. II. Anami, Marcelo Hidemassa, co-orient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. IV. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. V. Título.

CDD: 628

Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Pró-reitora de Pesquisa e Pós Graduação
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental
Campus Apucarana/Londrina

TERMO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO

por

Maria Theresa Bettin Boldarini

Dissertação de mestrado apresentada no dia vinte e três de fevereiro de 2017, como requisito parcial para a obtenção do título de MESTRE EM ENGENHARIA AMBIENTAL pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Câmpus Apucarana/Londrina, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. O Candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho Aprovado.

_____
Prof. Dr (ª)- Alessandra Furtado da Silva
(UTFPR- Londrina)

_____
Prof. Dr(ª)- Morgana Suszek Gonçalves
(UTFPR- Campo Mourão)

_____
Prof. Dr(ª)- Lúcia Felicidade Dias
(UTFPR- Londrina)

_____
Prof. Dr Edson Fontes de Oliveira
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental

O Termo de Aprovação assinado encontra-se na Coordenação do Programa de Pós Graduação em Engenharia Ambiental

Dedico esse trabalho a minha melhor amiga, minha confidente, minha maior incentivadora em todos os sentidos da vida, minha mãe. Que durante muito tempo foi pai e mãe, e sempre se desdobrou para realizar seus objetivos, mas, mais do que isso para me ensinar a sonhar e lutar pelos meus. Obrigada por ser esse exemplo de mulher e guerreira, te amo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me dar a oportunidade de estra viva, por ser o Deus do impossível e por me mostrar seu imenso amor sempre nas horas mais necessárias. Agradeço a Nossa Senhora, mãe de Deus e minha mãe Maria, por me fazer sentir a sua presença, por me pegar no colo e me fazer levantar nas horas em que já não me sentia capaz de levantar, pois só ela sabe as verdades que trago em meu coração.

Agradeço a minha família, também conhecida como bando de loucos, meus loucos favoritos, pois ao lado de vocês me sinto segura, em casa e encontro a paz, sorrisos e amor. Agradeço por tudo que fizeram por mim, por estarem sempre ao meu lado, dividindo as alegrias e me ajudando a superar as tristezas. Agradeço em especial ao meu avô, apaixonado por futebol, que infelizmente durante o meu mestrado faleceu, mas sempre foi meu maior torcedor, melhor técnico e as vezes até juiz nas partidas que ganhei e perdi durante a vida

Aos meus orientadores por aceitarem esse desafio comigo, e me aceitarem como orientanda, a caminhada nunca é tão simples, o tempo as vezes parece não colaborar, os equipamentos não funcionam como esperado, mas vocês sempre se mostraram tranquilos, pacientes e compreensivos, um exemplo de profissionais e comportamento.

A todos os professores que fizeram parte dessa jornada, auxiliando com seus conselhos e conhecimento.

Agradeço a todos os membros do *LAMA – Laboratório de monitoramento ambiental* pela ajuda, amizade e parceria pois sem a colaboração de todos, mesmo que singela, esse trabalho não seria possível.

A UTFPR – Londrina, pala oportunidade de estudo.

A Fundação Araucária pela concessão da bolsa de estudos.

Agradeço a todos os meus amigos, os mais antigos por sempre estarem comigo, mas principalmente pelos que conquistei nos últimos dois anos, por me apoiarem em todos os momentos, e quando digo todos podem incluir pegar 120 kg de terram em baixo de sol, peneirar os mesmos, fazer mudas de Menta, macerar amostras (que não eram nada fáceis) e mais todos os outros favores que ainda devo a vocês, podem ter certeza que essa conquista só foi possível pois tinha vocês para me darem apoio moral mas principalmente físico.

Por fim, agradeço a todos que auxiliaram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

O tamanho do seu sucesso é medido pela força dos seus desejos...
A realização de seus sonhos depende de como você lida
com as pedras que encontra ao longo do caminho...
(Autor desconhecido)

RESUMO

BOLDARINI, M.T.B. **Avaliação dos efeitos da contaminação de cobre no solo sobre *Mentha crispa* L.** 2017. 41 p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental (PPGEA), Câmpus Apucarana/Londrina, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2016.

O estudo realizado neste trabalho visou avaliar os efeitos causados na Menta crispa L., cultivada em solos contaminados com doses crescentes de cobre. O experimento foi realizado com oito concentrações diferentes de cobre em cinco replicatas, totalizando 40 amostras. Realizou-se o estudo sob condições naturais de luz e temperatura, em casa de vegetação no intervalo de julho a setembro de 2016, respeitando o período de 120 dias de crescimento da *Mentha crispa* L. Foram realizadas análises físicas e químicas do solo, caracterizando-o como Latossolo Vermelho Distroférrico, e foi determinada a capacidade máxima de adsorção de cobre (529,03 mg $kg^{-1)}$ no solo a partir da Isoterma de Freundlich. A partir da capacidade máxima, foram definidas as concentrações de cobre utilizadas no experimento, de C_0 a C_7, sendo C_0 sem adição de cobre (controle), C_1 com 1/8 da capacidade máxima, C_2 com 1/6, C_3 com 1/4, C_4 com 1/2, C_5 capacidade máxima, C_6 o dobro e C_7 o quádruplo. Durante o período determinado para o experimento foram realizadas contagens quinzenais do número de folhas e brotos, assim como a medição do comprimento da planta e a sintomatologia visual. Passado este período a planta foi retirada do recipiente, devidamente limpa e seca, seguindo para preparação e digestão das amostras. Realizou-se a determinação de cobre usando um espectrômetro de absorção atômica com atomização em forno de grafite, com correção de fundo baseado no efeito Zeeman e auxílio de modificador permanente (Paládio). Foram calculados os fatores de Bioacumulação e Translocação para cobre na *Mentha crispa* L e foram realizadas análises estatísticas ANOVA e MANOVA para análise e validação dos resultados encontrados. Observou-se durante o período de cultivo os efeitos como clorose e diminuição no crescimento da planta, nas concentrações mais altas de cobre. A redução no crescimento em relação ao controle variou de 20 a 25%; a diminuição no número de brotos e folhas chegou a 40% para C_7 para ambos os parâmetros. Considerando a concentração do metal na menta, este se acumula principalmente nas raízes, sendo aproximadamente 6 vezes maior em C_6 e C_7 do que no controle (C_0). Para os fatores de bioacumulação e translocação, os valores encontrados foram menores que 1, o que caracteriza a planta como sendo tolerante ao metal e mostrando que o mesmo fica retido na raiz. Nas maiores concentrações, C_6 e C_7, o acúmulo médio do metal foi de 235 $mg.kg^{-1}$, valor muito superior ao considerado tóxico pelos padrões europeus de limite seguro de concentração de cobre em solo (140 $mg.kg^{-1}$). Os resultados apresentados indicam fortemente o potencial da Mentha crispa L. como planta fitoestabilizadora, podendo ser utilizada como opção para a retirada do excesso de Cu do solo, fato que pode ser de suma importância às lavouras e o desenvolvimento das plantas em geral.

Palavras-chave: Menta. Contaminação. Metal. Fitoestabilização. Fator de bioacumulação. Fator de translocação.

ABSTRACT

BOLDARINI, M.T.B. **Evaluation of the effects of copper contamination in soil on *Mentha crispa* L..** 2017. 41 p**.** Master degree. Environmental Engineering Master Program (PPGEA), campus Apucarana/Londrina, Federal University of Technology - Paraná. Londrina, 2016.

The objective of this study was to evaluate the effects of copper on *Mentha crispa* L., cultivated in soils contaminated with increasing doses of this metal. The experiment was carried out with eight different concentrations of Cu in five replicates, totalling 40 samples. The study was carried out under natural light and temperature conditions, in the vegetation house, from July to September 2016, respecting the 120-day growth period of *Mentha crispa* L.. Soil analyses were carried out to verify the physical and chemical factors characterizing the soil (Dystroferric Red Latosol), to determine the maximum Cu adsorption capacity (529.02877 mg kg-1) through the Freundlich's isotherm. From the maximum adsorption, was defined the increasing doses of contamination used in the experiment, C_0 to C_7, were C_0 without addition of copper (control), C_1 with 1/8 of the maximum capacity, C_2 with 1/6, C_3 with 1/4, C_4 with 1/2, C_5 maximum capacity, C_6 double and C_7 quadruple. During the period determined for the experiment, biweekly counts of the number of leaves and shoots were taken, as well as the measurement of plant length and visual symptomatology. After this period, the plant was removed from the pot, duly cleaned and dried, for then, prepare and digest the samples. The copper determination was carried out using a graphite furnace atomic absorption spectrometer, and background correction based on the Zeeman effect, with the aid of a permanent modifier (Palladium). Bioaccumulation and Translocation Factor was calculated for copper on *Mentha crispa* L. and statistical analysis, ANOVA and MANOVA, were carried out to analysis and validation of the results found. Effects such as chlorosis and decrease in plant growth were observed during the growing period at the highest concentrations of copper. The reduction in growth in relation to the control ranged from 20 to 25%. The decrease in the number of shoots and leaves reached 40% for C_7 for both parameters. Considering the concentration of the metal in the peppermint, it accumulates mainly in the roots, being approximately six times greater in C_6 and C_7 than in the control (C_0). For FB and FT the values found were lower than 1, which characterizes the plant as being tolerant to the contaminant and showing that it is retained in the root. At the highest concentrations C_6 and C_7, the average metal accumulation was 235 $mg.kg^{-1}$, which is much higher than the Europeans safe limits for copper in soil (140 $mg.kg^{-}1$). The results presented strongly indicate the potential of *Mentha crispa* L. as a phytostabilizing plant, and can be used as an option for the removal of excess Cu from the soil, a fact that can be of great importance to the crops and the development of the plants in general.

Key words: Mint. Contamination. Metal. Phytostabilization. Bioaccumulation factor. Translocation factor.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Isotermas de Langmuir e Freundlich obtidas para Cu em Latossolo Vermelho Distroférrico. 24
Figura 2: A - Resultados encontrados para isoterma de Langmuir. B - Resultados encontrados para isoterma de Freundlich 25
Figura 3: a) Recipiente de concentração C_0. b) Recipiente de concentração C_7. 26
Figura 4: Imagens de Mentha crispa L. em solo contaminado com doses crescentes de Cu (C_0 a C_7) na primeira e sétima quinzena do experimento. 27
Figura 5: Imagens das raízes da Mentha crispa L. sob diferentes concentrações de Cu no solo (C_0 a C_7). 28
Figura 6: Relação do comprimento (A); Número de brotos (B) e Número de folhas da Mentha crispa L. (C) em relação ao tempo. 29
Figura 7: Concentração de Cu encontrada na raiz, caule e folha da Mentha crispa L em solo contaminado com doses crescentes do metal (C_0 a C_7) 31
Figura 8: Diagrama de Análise Discriminante Canônica da correlação entre os parâmetros de comprimento, brotos e folha em função do tempo de exposição ao Cu, expresso em 7 quinzenas (1Q a 7Q) avaliadas. 34
Figura 9: Diagrama de Análise Discriminante Canônica da correlação entre as concentrações de metal e partes da planta (Folha, Caule e Raiz). 35
Figura 10:a) Diagrama de Análise Discriminante Canônica para a correlação entre os tratamentos com diferentes concentrações de Cu no solo e comprimento, número de brotos e folhas da Mentha crispa L.. b) Histograma com os escores das concentrações C_0 e C_6 para o eixo ADC 1. 36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Programa de aquecimento para vegetais em digestor assistido por Microondas (Titan MPS, Perkin Elemer). 21

Tabela 2: Fatores de bioacumulação calculados para *Mentha crispa* L. cultivada em solo contaminado com Cu em diferentes concentrações (tratamentos C_1 a C_7) 32

Tabela 3: Fatores de translocação calculados para *Mentha crispa* L. cultivada em solo contaminado com Cu em diferentes concentrações (tratamentos C_1 a C_7). 33

LISTA DE ABREVIATURAS

ADC	Análise Discriminante Canônica
Al	Alumínio
ANOVA	Análise de Variância
ASE	Área Superficial Específica
Ca	Cálcio
$CaCl_2$	Cloreto de cálcio
CTC	Capacidade de troca de cátions
Cu	Cobre
FB	Fator de Bioacumulação
Fe	Ferro
FT	Fator de Translocação
g	Grama
H	Hidrogênio
H2O	Água
H_2O_2	Água Oxigenada
HNO_3	Ácido nítrico
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
K	Potássio
Kg	Quilograma
M	Mol
MANOVA	Análise de Variância Multivariada
Mg	Magnésio
ml	Mililitro
Mn	Manganês
MO	Matéria Orgânica
O	Oeste
pH	Potencial Hidrogeniônico
S	Sul
TFSA	Terra fina seca ao ar
Zn	Zinco
µg	Micrograma
µl	Microlitro
µm	Micrometro

SUMÁRIO

_Toc477943811

1. INTRODUÇÃO 14

2. OBJETIVOS 16

2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS 16

3. MATERIAL E MÉTODOS 17

3.1. COLETA E PREPARAÇÃO DAS MUDAS DE *Mentha crispa* L. 17

3.2. ANÁLISE E PREPARAÇÃO DO SOLO 17

3.3. ISOTERMAS DE ADSORÇÃO E CONTAMINAÇÃO DE COBRE NO SOLO 18

3.4. CULTIVO DA *Mentha crispa* L. EM SOLO CONTAMINADO 19

3.5. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS E DETERMINAÇÃO DE COBRE .. 20

3.6. FATOR DE BIOCUMULAÇÃO (FB) E O FATOR DE TRANSLOCAÇÃO (FT) 21

3.7. TESTE DE TUKEY E ANÁLISE DISCRIMINANTE CANÔNICA 22

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO 23

4.1. ANÁLISES FÍSICAS E QUÍMICAS DO SOLO 23

4.1.3. Isotermas de adsorção 24

4.2. ANÁLISE DA *Mentha crispa* L. 25

4.2.1. Sintomatologia visual 25

4.2.2. Análise do crescimento da *Mentha crispa* L. 29

4.2.3. Concentração de Cu na *Mentha crispa* L. 31

4.3. FATORES DE BIOCUMULAÇÃO E TRANSLOCAÇÃO DE Cu – RELAÇÃO PLANTA/SOLO 32

4.4. CORRELAÇÃO DOS EFEITOS DO Cu NA *Mentha crispa* L. POR MEIO DA ÁNALISE DISCRIMINANTE CANÔNICA (ADC) 33

5. CONCLUSÃO 37

REFERÊNCIAS 38

1. INTRODUÇÃO

A qualidade da vida humana depende da composição química dos alimentos e daquilo que os cercam, e a transferência de metais para as plantas, assim como de nutrientes, faz parte do ciclo químico dos elementos. Portanto, a manutenção da qualidade do solo, produtividade, funções ecológicas e agrícolas é de responsabilidade do ser humano (KABATA-PENDIAS, 2004).

Apesar dos metais serem naturalmente encontrados na natureza, suas concentrações e, às vezes, sua presença têm origens antrópicas, como emissões atmosféricas ou por contaminações cruzadas, por inundações ou contato com águas contaminadas (KABATA-PENDIAS, 2004). Outras fontes de poluição são a aplicação direta no solo de biossólidos, dejetos de animais, compostos de resíduos urbanos, fertilizantes e corretivos agrícolas, fungicidas entre outros (MELO; MELO; MELO, 2006).

A presença de metais em solo é preocupante devido a três fatores: em altas concentrações, pois o metal torna-se potencialmente tóxico; por serem cumulativos no meio ambiente e em organismos vivos; ou pelo fato de não serem elementos degradáveis pela natureza. Estes elementos possuem diferentes níveis de contaminação, e o risco que eles apresentam para o meio ambiente e para a saúde humana dependem da mobilidade em solo, da disponibilidade destes para as plantas e das concentrações em que se encontram (CHOJNACKA *et al*., 2005; KABATA-PENDIAS, 2004; WILSON; FURUKAWA, 2014).

A contaminação por metais em solo é um tipo de poluição de difícil remediação, sendo que as técnicas mais comuns de retirada do contaminante são por métodos físicos ou químicos, processos considerados de alto custo e de grande impacto ambiental (GRATÃO *et al*., 2005; LASAT, 1997).

Uma alternativa de resolver o problema de contaminação é usar plantas que possuem a capacidade de remover metais tóxicos por meio da absorção e acúmulo em suas raízes e folhas, fazendo o transporte de poluentes (MUDGAL; MADAAN; MUDGAL, 2010). O uso dessas plantas, com a capacidade de auxiliar na descontaminação e remediação de solos contaminados por metais, é conhecido como fitorremediação, uma técnica considerada ambientalmente correta, segura e de baixo custo para a eliminação de poluentes (GADD, 2010).

O processo de fitorremediação depende da forma de extração do contaminante pela planta. Estes processos dependem da forma de agir do vegetal sobre a área contaminada, assim a remediação pode ocorrer pela retirada do metal pelas raízes e folhas, pela associação entre a

planta e um microrganismo, pela regulação da biodisponibilidade do poluente ou pela regulação da volatilização do poluente (ALI; KHAN; SAJAD, 2013; ANSARI *et al*., 2015).

O cobre (Cu) é um elemento traço essencial para o perfeito funcionamento dos sistemas biológicos ligados ao solo. No entanto, em elevadas concentrações o Cu é potencialmente tóxico, sua absorção excessiva pode causar distúrbios celulares nos processos de fotossíntese, respiração, interferir no metabolismo da parede celular, corromper a estrutura de certas proteínas, inativar enzimas e inibir o crescimento das plantas. Já para o organismo humano, esse metal tem a capacidade de iniciar algumas oxidações que podem causar danos e interferir em processos celulares, como por exemplo, alguns danos neurológicos que já foram associados à toxicidade de cobre no organismo (GAETKE; CHOW, 2003; MADEROVA; WATSON; PATON, 2011).

Sabe-se que as principais fontes de contaminação de Cu em solo são a calda bordalesa (fungicida à base de sulfato de cobre), dejetos suínos, pesticidas, produtos eletrônicos e resíduos sólido urbanos e industriais. O uso destes materiais pode causar a poluição do solo, levando-o para a cadeia alimentar devido ao seu acúmulo em níveis tóxicos (ARIYAKANON; WINAIPANICH, 2006).

O estudo realizado neste trabalho visou avaliar uma espécie de hortelã, a *Menta crispa* L., planta aromática, altamente utilizada pelas indústrias alimentícia e farmacêutica. A *Mentha crispa* L., é uma planta híbrida, originada do cruzamento entre a *Mentha spicata* e a *Mentha suaveolens,* suas raízes são vastamente radiculadas, o que aumenta o seu potencial a ser uma planta considerada fitorremediadora (SÁ *et al.*, 2014).

Considerando o comportamento diferenciado de cada espécie de menta e as diferentes formas de transporte do metal no sistema da planta, este trabalho teve como objetivo analisar o efeito do Cu sobre o crescimento da *Mentha crispa* L., uma espécie muito popular no Brasil, conhecida como menta de jardim e verificar se a mesma pode ser utilizada como fitorremediadora.

2. OBJETIVOS

Avaliar o comportamento da Mentha crispa L. em latossolo vermelho contaminado por cobre, considerando a possibilidade de absorção do metal por suas raízes e partes aéreas.

2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar análises física e química do solo
- Construir Isotermas de adsorção
- Cultivar as mudas de Mentha crispa L. em solo contaminado
- Avaliar o crescimento da planta (comprimento, número de folhas e brotos)
- Determinar a concentração de Cu através de espectrômetro de absorção atômica
- Avaliar a tolerância de Mentha crispa L. em solo contaminado por Cobre
- Avaliar a possibilidade de utilização de Mentha crispa L. na fitorremediação de solo contaminado por Cobre.
- Publicar o trabalho em periódicos

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado com oito concentrações diferentes de cobre em cinco replicatas, totalizando 40 amostras. Realizou-se o estudo sob condições naturais de luz e temperatura, em casa de vegetação, no intervalo de julho a setembro de 2016, respeitando o período de 120 dias de crescimento da *Mentha crispa* L..

3.1. COLETA E PREPARAÇÃO DAS MUDAS DE *Mentha crispa* L.

Para o preparo das mudas, utilizou-se o solo previamente coletado e peneirado em malha de 2 mm, e então colocado em sacos para mudas de 15 X 20 cm. As mudas foram feitas por estaquia de raiz, segundo Mattos *et al*.(2016), o melhor método encontrado para que houvesse crescimento eficaz e com menor número de perdas.

Posteriormente, utilizando-se da parte subterrânea (rizoma típico), contendo no mínimo três gemas, enterrou-se dois deles e manteve-se um para fora da terra para que assim, as estacas se desenvolvessem e se espalhassem, criando brotos e folhas.

As mudas foram mantidas em casa de vegetação, em ambiente telado (50%) à temperatura ambiente, com irrigação duas vezes ao dia, com 20 minutos de duração.

3.2. ANÁLISE E PREPARAÇÃO DO SOLO

O solo foi coletado a uma profundidade de 0-20 cm no Câmpus da UTFPR, seco em casa de vegetação com circulação de ar a temperatura ambiente (TFSA – Terra fina seca ao ar). O solo foi destorroado manualmente e passado em peneira com abertura de 2 mm, com a finalidade de minimizar as possíveis interferências de sorção, por meio da homogeneização do tamanho das partículas (CLAESSEN; BARRETO, 1997, NASCIMENTO; FONTES, 2004).

Após as amostras de solo serem devidamente homogeneizadas, foram realizadas análises físico-químicas como CTC, pH, teor de matéria orgânica, granulometria e teor de micronutrientes essenciais seguindo a metodologia EMBRAPA (1999). Este solo devidamente

destorroado e analisado foi acondicionado em 40 recipientes de polipropileno contendo 2 kg de solo em cada um. O solo então foi contaminado com doses crescentes de Cu e mantido por 30 dias para o processo de incubação, com nível de umidade de 60% para a estabilização do metal, e em seguida foi feito o plantio das mudas de *Mentha crispa* L (SÁ *et al.*, 2014).

3.3. ISOTERMAS DE ADSORÇÃO E CONTAMINAÇÃO DE COBRE NO SOLO

Para o estudo de adsorção de cobre no solo, foi utilizada 1 g de amostra de solo em pH natural, em triplicata, suspenso em 25 mL de solução com cobre na forma de acetato na presença de $CaCl_2$ 0,01 mol L^{-1}. A escolha do acetato de cobre como sal de cobre utilizado deve-se ao fato de muitos fertilizantes serem compostos nitrogenados, o que causaria interferência no crescimento da planta caso fosse utilizado nitrato de cobre II como contaminante. Já o cloreto de cobre II apresenta riscos em seu manuseio, tornando-se inviável para a pesquisa, ao mesmo tempo por conter ácido clorídrico em sua formulação poderia prejudicar ou mesmo inibir o crescimento da menta.

As soluções de cobre foram preparadas nas concentrações: 0, 10, 20, 40, 80, 160, 320, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1250 e 1500 mg L^{-1},.(ALLEONI *et al.*, 2005; NASCIMENTO; FONTES, 2004)

As concentrações de cobre adsorvidas pelos solos foram calculadas pela diferença entre a concentração adicionada e a concentração remanescente na solução de equilíbrio. Com esses dados experimentais, construiu-se isotermas de adsorção (ordenadas: metal adsorvido; abcissas: concentração de equilíbrio), o ajuste foi feito segundo as equações dos modelos de Langmuir (1) e de Freundlich (2), em sua forma original, de acordo com as equações:

$$q_e = \frac{q_0 K_L \, C_e}{1 + K_L C_e} \qquad (1)$$

$$q_e = K_f {C_e}^{1/n} \qquad (2)$$

Em que:

q_0 - capacidade máxima de adsorção (mg g^{-1});

K_L - constante relacionada à energia de ligação do metal no solo (mg L^{-1});

K_f - constante de Freundlich (mg g^{-1});

n - parâmetro de afinidade do solo pelo soluto (adimensional).

q_e - concentração de metal sorvido (mg g^{-1})

C_e - concentração de equilíbrio no tempo t (mg L^{-1})

Baseando-se na capacidade máxima obtida, o solo foi tratado com doses crescentes de cobre em solução na forma de acetato. O solo sem adição do metal foi chamado de controle (C_0). Para as outras concentrações de Cu os solos foram chamados de C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, e C_7.A concentração C_5 foi considerada onde ocorre a máxima adsorção de cobre no solo, C_4 foi definida sendo a metade de C_5, C_3 com um quarto, C_2 um sexto, C_1 um oitavo, C_6 o dobro e C_7 o quádruplo. Todas as concentrações foram obtidas através da diluição de uma solução estoque de 1,0 mol L^{-1}.

O experimento foi realizado com cinco replicatas para cada concentração de Cu. A metodologia seguiu como modelo o trabalho de Sá *et al*. (2004), realizando as devidas adaptações.

3.4. CULTIVO DA *Mentha crispa* L. EM SOLO CONTAMINADO

Depois de 30 dias de incubação do Cu no solo, realizada na casa de vegetação, onde foram colocados 2 kg de solo e adicionados o contaminante, deixado em descanso, as mudas de hortelã, *Mentha crispa L.*, foram transferidas para os recipientes de polipropileno com solo contaminado por cobre, com aproximadamente 10 cm de comprimento, sendo uma muda por recipiente (SÁ *et al*., 2014).

Os recipientes de polipropileno com as mudas foram cultivados na casa de vegetação, em condições de umidade e temperatura ambiente. Dentro da casa de vegetação as mudas receberam quantidade de água destilada controlada, verificada pelo peso de cada recipiente, para que não houvesse acúmulo de água no fundo dos recipientes de polipropileno, seguindo metodologia de determinação de intervalo hídrico ótimo (IHO) proposta por Moreira *et al.*

(2014), para IHO determinado em laboratório, que consiste na razão da densidade do solo, pelos limites de medida do potencial mátrico.

Visitas diárias foram feitas com a finalidade de verificar os efeitos visuais da presença de cobre no solo sobre a planta. O tempo de exposição à contaminação foi de 120 dias, no período de maio a setembro de 2016, seguindo a metodologia descrita por Sá *et al.* (2014) e Oliveira *et al.* (2012). Após este período as plantas foram coletadas com as raízes e partes aéreas.

As plantas foram avaliadas durante esse período, quinzenalmente, em relação ao brotamento e número de folhas (contagem manual) e comprimento da parte aérea, determinado com o auxílio de uma régua. Foi realizada também a sintomatologia visual da planta com o registro fotográfico quinzenal para acompanhamento durante o crescimento. Os registros fotográficos foram feitos através de um celular Iphone 6.

3.5. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS E DETERMINAÇÃO DE COBRE

Após o tempo de 120 dias, as plantas foram retiradas dos recipientes de polipropileno e lavadas com água corrente, seguido por ácido clorídrico (10% v/v) e finalizando com água ultrapura (Purelab Option Q-7, Elga, Inglaterra) para remoção de poeira e resíduos de solo. Depois da limpeza, o material foi seco em temperatura ambiente e separado em partes aéreas e raízes. Em seguida as raízes e partes aéreas (caule e folha) foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 60°C até obtenção de massa constante. As amostras foram usadas para a determinação da concentração de cobre (EMBRAPA, 2009).

Para a determinação de Cu, o material foi macerado e peneirado em malha de poliéster com diâmetro de abertura ≤ 68 μm. A exposição da planta às oito concentrações diferentes de Cu e sua separação em raiz, caule e folha resultou em 24 amostras de 0,5g cada, que foram submetidas à digestão ácida assistida por microondas.

Para a digestão ácida, foram adicionados 2 mL de HNO_3 (destilado, Subboiling BSB-939-IR, Bergoho, Alemanha) e 3 mL de H_2O_2. A mistura foi submetida ao digestor assistido por microondas (titan MPS, Perkin Elmer, Estados Unidos) por 20 minutos com programa de temperatura apresentado na Tabela 1.

Tabela 1: Programa de aquecimento para vegetais em digestor assistido por Microondas (Titan MPS, Perkin Elemer).

Passo	Temperatura (°C)	Pressão Max (bar)	Tempo inicial (min)	Tempo final (min)	Potência (%)
1	145	30	2	5	70
2	170	30	5	10	80
3	190	30	2	15	90
4	50	30	1	10	0
5	-	-	-	-	-

Fonte: Manual PerkinElmer.

A amostra digerida foi transferida para tubos de polipropileno, finalizando o volume para 50 mL com água ultrapura. Todo o material utilizado foi previamente descontaminado por imersão em ácido nítrico 10 % v/v por pelo menos 2 dias.

Realizou-se a determinação de cobre usando um espectrômetro de absorção atômica com atomização em forno de grafite (Ice 3300, Thermo Scientific, Estados Unidos), equipado com correção de fundo baseado no efeito Zeeman, e modificador permanente Paládiode acordo com metodologia de SILVA, WELZ & CURTIUS, 2002.

Amostras de solo foram preparadas usando o mesmo digestor seguindo a metodologia EPA 3051A para digestão ácida assistida por micro-ondas para solos e sedimentos

3.6. FATOR DE BIOCUMULAÇÃO (FB) E O FATOR DE TRANSLOCAÇÃO (FT)

A habilidade das plantas de absorver e acumular Cu em seus tecidos e a capacidade de transferir este elemento para os seus órgãos da parte aérea foi avaliada por meio do fator de bioacumulação (FB) e do fator de transferência (FT) (SUBHASHINI & SWAMY 2015).

O FB é definido pela razão entre a concentração de Cu na planta e a concentração de Cu no solo. Este fator foi calculado para toda a planta, e também para cada uma de suas partes, raiz, caule e folha separadamente. O FT é definido pela razão entre a concentração de Cu na parte aérea da planta (caule e folhas) e a concentração de Cu nas raízes (SUBHASHINI & SWAMY 2015).

A comparação destes fatores mostra a habilidade que a planta possui em retirar o metal do solo e translocar para as partes aéreas. Plantas tolerantes aos metais contaminantes tem a tendência de reter o metal em suas raízes, e não transloca-lo para as partes aéreas, enquanto

plantas hiperacumuladoras absorvem e translocam o metal ativamente. São consideradas hiepracumuladoras plantas que apresentam FT e FB > 1.

3.7. TESTE DE TUKEY E ANÁLISE DISCRIMINANTE CANÔNICA

O delineamento experimental foi realizado com sete concentrações de Cu e cinco replicatas. Todas as determinações de Cu foram realizadas em triplicatas.

Para validade estatística, cada tratamento foi feito em triplicatas para estimar a absorção de cobre e 3 repetições para a medida do comprimento da planta, número de brotos e folhas. A análise de variância (ANOVA) foi realizada utilizando o programa SISVAR 5.6. As diferenças médias foram analisadas pelo teste de Tukey com nível de significância $P < 0,05$.

A Análise Discriminante Canônica (ADC) é recomendada para determinar as variáveis que são mais importantes na segregação entre dois ou mais grupos formados a priori. Neste tipo de análise, ADC foi usada para verificar quais concentrações do metal Cu foram mais importantes na segregação dos tratamentos de *Mentha crispa* L..

Inicialmente, a Análise de Variância Multivariada (MANOVA) foi usada nas concentrações do elemento para testar a hipótese nula, de que a princípio não existe diferença significativa entre os tratamentos da Menta. A análise MANOVA calculou Wilks Lambda, que varia entre zero (máxima dispersão entre os grupos) e um (nenhuma dispersão entre os grupos). Com a rejeição da hipótese nula, ADC foi usada para avaliar a relação entre metal e os tratamentos da Menta no espaço multivariado através de combinações lineares das variáveis, maximizando a distância entre grupos. Os testes de MANOVA e ADC foram realizados usando o software STATISTIC v.10 (STATSOFT, 2003).

As variáveis com altos valores absolutos de correlação entre os eixos canônicos da ADC contribuem mais para a discriminação do tratamento da *Mentha crispa* L.. O escore canônico das amostras é projetado no espaço reduzido dos eixos canônicos e apresentam os padrões de discriminação durante a análise do tratamento.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. ANÁLISES FÍSICAS E QUÍMICAS DO SOLO

As análises realizadas em solo objetivaram a caracterização do mesmo, vislumbrando suas características físicas, como granulometria para a determinação das dimensões das partículas do agregado e de suas respectivas percentagens de ocorrência, e também as características químicas como pH, CTC, capacidade de adsorção e composição química do solo.

O solo foi coletado em frente ao Câmpus da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, na cidade de Londrina, nas coordenadas 23°10’16’’ S a 23°46’46’’ S e 50°52’33’’ O a 51°19’13’’ O. Este solo encontra-se situado em uma região de LATOSSOLO VERMELHO Distroférrico típico (ARAÚJO-JUNIOR *et al*., 2015; ROSA *et al*., 2015).

Através das análises realizadas constatou-se que o solo utilizado no experimento foi um Latossolo Vermelho Distroférrico, de textura franco-argilosa, com as seguintes características químicas: matéria orgânica 24,02 g dm^{-3}; pH ($CaCl_2$) 4,83; K 0,52 $cmol_c$ dm^{-3}; Ca 4,42 $cmol_c dm^{-3}$; Mg 1,98 $cmol_c$ dm^{-3}; H+Al 6,35 $cmol_c$ dm^{-3}; Al 0,00 $cmol_c$ dm^{-3}; Cu 18,46 mg dm^{-3}; Fe 149,27 mg dm^{-3}; Mn 505,80 mg/dm^{-3}e Zn 7,11 mg dm^{-3} e foi encontrado um valor de CTC efetiva de 6,92 $cmol_c$ dm^{-3}. Dados obtidos em análise feita pela Laborsolos laboratórios, com confirmação de pH e CTC realizadas no laboratório de solo da UTFPR – Londrina.

A análise granulométrica apresentou uma composição de 73,3% de argila, 15,0% de silte e 11,7% de areia. Os resultados da análise granulométrica reafirmam o tipo de solo usado no experimento, LATOSSOLO VERMELHO Distroférrico típico, que tem como uma de suas principais características a textura muito argilosa (BOGNOLA *et al.* 2011).

Nos solos desenvolvidos em regiões tropicais e subtropicais, como na cidade de Londrina, predominam argilominerias 1:1 (caulinita), com altos teores de óxidos de ferro e alumínio, resultando em baixo CTC (MEURER, 2010).

O valor de pH em água encontrado para o solo foi de 5,51, considerado moderadamente ácido. Em solos ácidos e com baixo teor de matéria orgânica, o Cu tende se acumular no horizonte superficial do solo (FELIZ, 2005).

Segundo Joris *et. al.* (2012) a calagem, ou seja, o aumento do pH do solo aumenta a adsorção de Cu. Outro fator que influencia na adsorção desse metal em solo é a matéria

orgânica, esta que se liga fortemente aos íons metálicos formando complexos com as substâncias húmicas. Para o cobre, a matéria orgânica do solo é um dos principais atributos para a formação de complexos que resultam na adsorção do metal.

O solo apresentou uma capacidade de troca catiônica (CTC) efetiva de 6,92%, considerado como sendo um nível de suficiência de valor médio. Essa característica físico-química indica se o solo é capaz de reter íon em determinadas condições e trocar por quantidades estequiometricamente iguais aos íons do mesmo sinal. (RAIJ, 1969).

Em relação aos metais naturalmente presentes no solo, foram encontradas as seguintes concentrações, em mg dm^{-3}: Manganês (Mn) 505,80, Ferro (Fe) 149,27, Cobre (Cu) 18,46 e Zinco (Zn) 7,11. Foi verificado também o teor de Boro (B) na amostra, obtendo 0,32 mg dm^{-3}, considerado um teor médio deste metal.

Tais metais são considerados micronutrientes necessários ao solo para a nutrição das plantas. A ausência desses micronutrientes ou a baixa disponibilidade dos mesmos no solo acarreta distúrbios fisiológicos como baixo desenvolvimento da planta, ou em alto grau de deficiência de nutrientes, leva a morte da planta (FERRAZ; INOCÊNCIO; FURTINI, 2010).

4.1.3. Isotermas de adsorção

Na Figura 1 é possível visualizar as isotermas de Langmuir e Freundlich obtidas com os resultados das análises das amostras de solo em estudo.

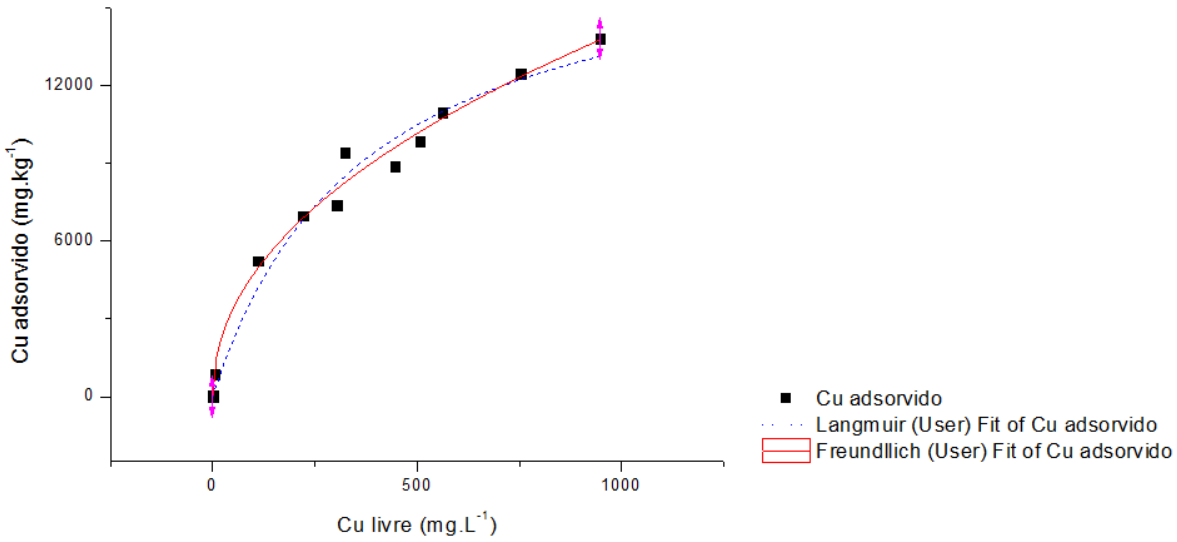

Figura 1: Isotermas de Langmuir e Freundlich obtidas para Cu em Latossolo Vermelho Distroférrico.

Equation	q=qo*KL*Ce/[1+(KL*Ce)]		A
Adj. R-Squa	0,97675		
		Value	Standard Err
Cu adsorvid	qo	18261,682	1719,26477
Cu adsorvid	KL	0,00269	5,88924E-4

Equation	q=Kf*(Ce^(1/n))		B
Adj. R-Square	0,98777		
		Value	Standard Error
Cu adsorvido	Kf	529,02877	110,27463
Cu adsorvido	n	2,10361	0,14854

Figura 2: A - Resultados encontrados para isoterma de Langmuir. B - Resultados encontrados para isoterma de Freundlich

Observa-se que nas menores concentrações de Cu adicionado ao solo, a adsorção ocorre com maior intensidade quando comparada a concentrações maiores do metal.

O modelo de Freundlich apresentou o maior coeficiente de determinação (R^2 = 0,98777) descrevendo mais adequadamente o processo de adsorção de cobre no solo, superior ao encontrado para isoterma de Langmuir (R^2 = 0,97675) como observado na figura 2.

Uma melhor adequação do modelo de Freundlich pode ser explicada pelo fato de seu modelo ser utilizado para demonstrar a adsorção de soluções sobre sólidos com superfícies heterogêneas, o que não ocorre com modelo de Langmuir que foi inicialmente utilizada para descrever adsorção de gases por sólidos de superfícies homogêneas (ALLEONI *et al*., 2005).

Quanto aos parâmetros encontrados para a isoterma de Freundlich, o valor de K_f, 529,02877 mg kg^{-1}, sugere alta adsorção de cobre, indicando grande capacidade do solo em reter o metal. De acordo com Lázaro *et al*. (2008), apud Gonçalves *et al.* (2013) o valor de n está qualitativamente associado à distribuição de sítios energéticos nos colóides do solo, e a relação de 1/n é capaz de demonstrar se o processo de adsorção é favorável (para valores entre 0 e 1) ou desfavorável. O solo em estudo apresenta o valor de 0,47 de 1/n, podendo-se considerar favorável a adsorção do cobre no solo amostrado.

A partir do valor da máxima capacidade de adsorção de Cu obtida pelo modelo de Freundlich (529,03 mg kg^{-1},) as concentrações do metal foram definidas no experimento: C_0 (0,0 mg kg^{-1}); C_1 (66,3 mg kg^{-1}); C_2 (88,3 mg kg^{-1}); C_3 (132,5 mg kg^{-1}); C_4 (265 mg kg^{-1}); C_5 (530 mg kg^{-1}); C_6 (1060 mg kg^{-1}); C_7 (2120 mg kg^{-1});

4.2. ANÁLISE DA *Mentha crispa* L.

4.2.1. Sintomatologia visual

A sintomatologia consistiu no relato visual e fotográfico do desenvolvimento da *Mentha crispa* L.. Então ao longo dos 120 dias de experimento, quinzenalmente, todas as diferenças percebidas foram registradas.

Nos primeiros 30 dias a *Mentha crispa* L. plantadas sob as concentrações C_6 e C_7 apresentaram tons roxos nas folhas. No mês seguinte a partir de C_5, as plantas apresentaram tons de verde diferentes do controle, queda das folhas e as folhas que nasciam encontravam-se com tamanhos menores, cor bem roxa e aspecto rugoso.

A partir da metade do experimento, 60 dias, observou-se que as plantas a partir do tratamento C_3 tinham tons de verde mais claros, quando comparada a C_0 (controle) e os tratamentos C_6 e C_7 apresentaram um crescimento em comprimento, número de folhas e brotos bem inferior às demais.

Na Figura 3 a seguir é possível comparar os tons de verde entre o controle e o tratamento C_7, nota-se o tom roxo presente nas folhas, seu tamanho reduzido e seu aspecto enrugado.

a) b)

Figura 3: a) Recipiente de concentração C_0. b) Recipiente de concentração C_7.

Com 75 dias, as concentrações de C_1 até C_6 apresentavam uma cor amarelada nas folhas, e em seguida, uma perda foliar acentuada.

Do 75° dia até completar os 120 dias, foi observado uma diferença nos tons de verde entre todas as concentrações, variando do verde mais escuro para o controle, passando por verdes mais claros até chegar aos tons amarelados em C_5. Os tratamentos C_6 e C_7 apresentavam tons de roxo.

Na Figura 4 é possível comparar o crescimento e desenvolvimento da planta, da primeira e sétima quinzenas. Os mesmos sintomas foram observados por Ebbs & Kochian (1997) e Silva *et al.* (2014), em seus experimentos com plantas crescendo em solo contaminado por doses

crescentes de Cu, como clorose, diminuição no crescimento da planta, diminuição no número de brotos e folhas.

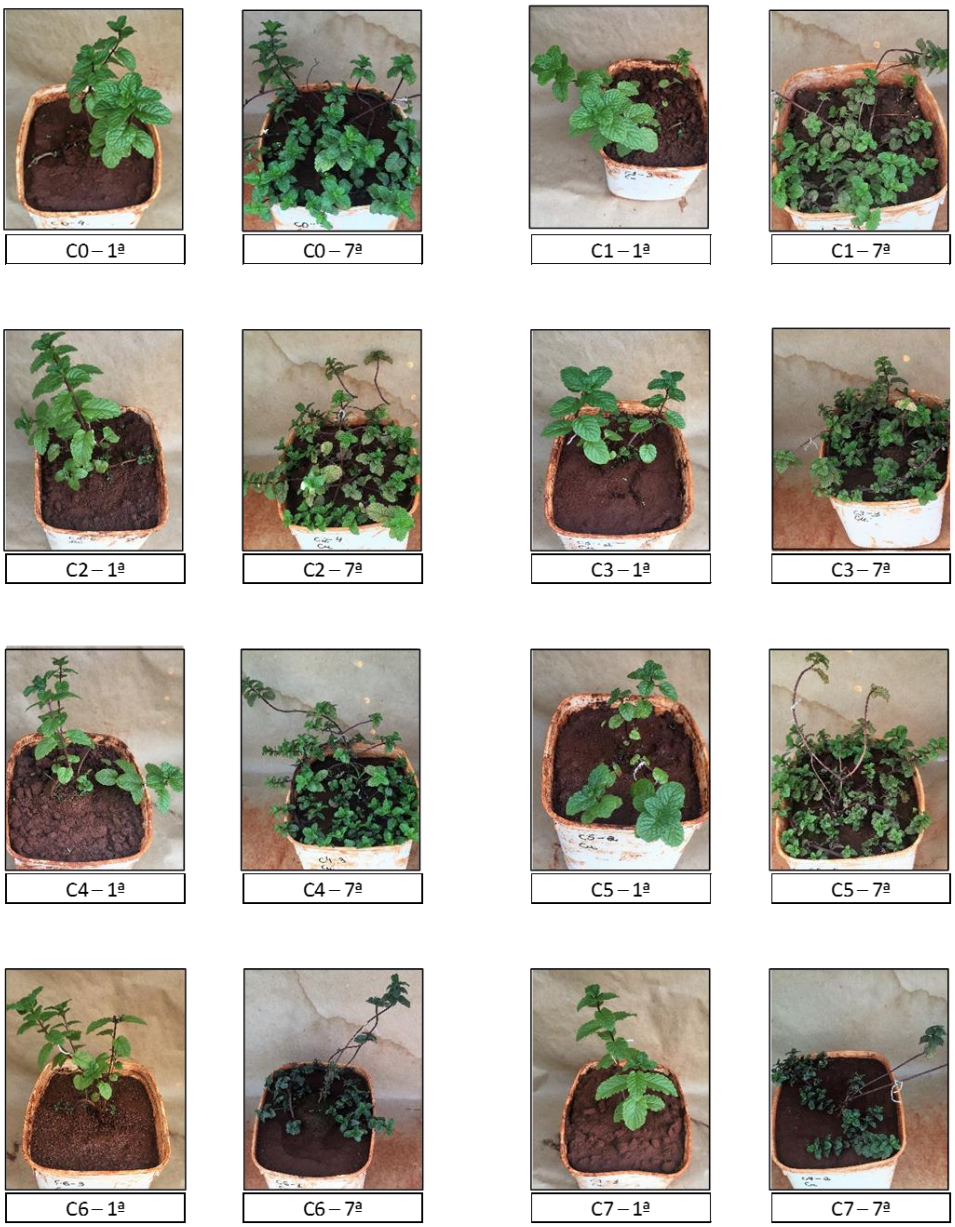

Figura 4: Imagens de *Mentha crispa* L. em solo contaminado com doses crescentes de Cu (C_0 a C_7) na primeira e sétima quinzena do experimento.

Após o período de 120 dias, as plantas foram retiradas do recipiente e devidamente lavadas, as raízes foram analisadas visualmente e notou-se uma grande diferença em relação ao tamanho, comprimento e massa de raiz entre os tratamentos de C_0 a C_7, que podem ser visualizados na Figura 5.

Figura 5: Imagens das raízes da *Mentha crispa* L. sob diferentes concentrações de Cu no solo (C_0 a C_7).

As diferenças visuais mais impactantes foram encontradas nos tratamentos C_5, C_6 e C_7, que em comparação com controle C_0, tiveram seu comprimento, número de folhas, número de brotos, a ramificação de raízes e sistemas radiculares provavelmente inibidos pela presença do metal. Efeito foi também observado por Manikardan *et al*. (2015) em seu experimento com *Mentha arvensis*, onde observaram que a planta teve seu crescimento afetado por doses crescentes de contaminação por mercúrio, e relata que o metal ficou mais retido nas raízes.

Os micronutrientes como Cu, Zn, Fe, Mn entre outros exibem funções específicas no metabolismo da planta, o cobre é um metal essencial para as funções bioquímicas e fisiológicas, sendo constituinte das principais reações de oxirredução e fazendo parte direta de muitas enzimas.

O cobre é um metal essencial às plantas de grande porte ou mesmo algas, pois participa na fotossíntese. Cu é segundo Nagajyoti (2010), o constituinte do principal doador de elétrons na fotossíntese 1 das plantas, pois o metal prontamente doa ou recebe elétrons.

No entanto em excesso o cobre tem um papel citotóxico, induzindo as plantas ao estresse e causando danos, como o retardo no crescimento e clorose (LEWIS, 2001). O excesso de cobre acaba causando um estresse oxidativo, ocasionando distúrbios metabólicos e danos a macromoléculas.

A presença de Cu no solo, em concentrações superiores a 265 mg kg^{-1} (tratamento C_4), influenciou na redução do crescimento das raízes da *Mentha crispa* L. O mesmo comportamento foi observado por Ebbs & Kochian (1997) nas raízes de *Agrostis capillaris*

cultivadas em solo contaminado por Cu, onde ocorreu um decréscimo de 70 a 80% na biomassa da raiz.

4.2.2. Análise do crescimento da *Mentha crispa* L.

Durante os 120 dias de cultivo de *Mentha crispa* L., foram realizadas periodicamente (quinzenal), medições de comprimento, número de brotos e o número de folhas visando analisar o crescimento da *Mentha Crispa* L.. Essas medidas obtidas podem ser observadas na Figura 6.

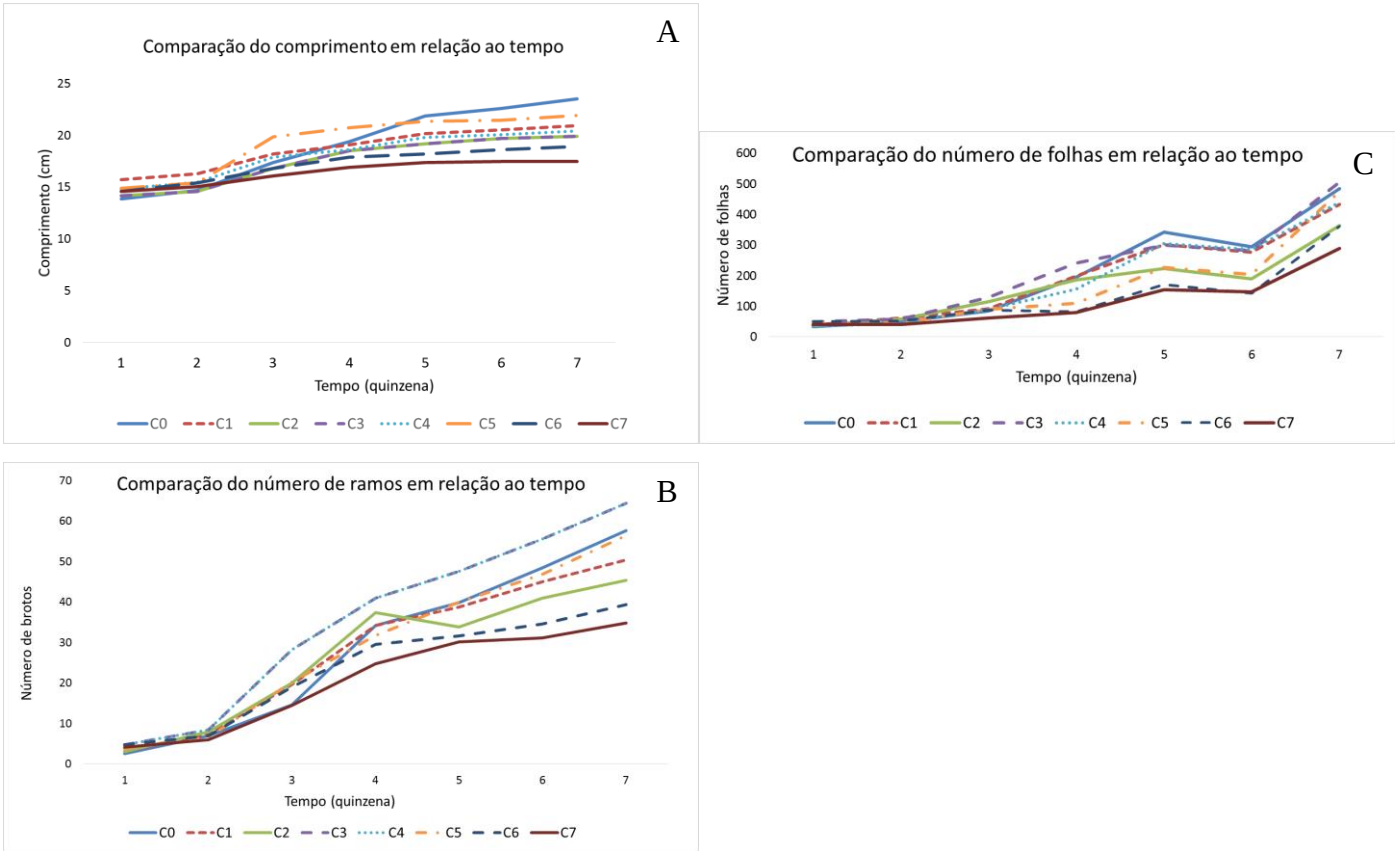

Figura 6: Relação do comprimento (A); Número de brotos (B) e Número de folhas da *Mentha crispa* L. (C) em relação ao tempo.

Em relação ao comprimento das plantas na Figura 6A, pode ser observado que o mesmo foi alterado pelas doses crescentes de Cu, onde a redução em relação ao controle foi de 20 a 25%. Weber *et al.* (1991) e Llorens *et al.* (2000) observaram que altas concentrações de cobre no solo em ambientes radiculares podem influenciar na absorção e metabolismo de nutrientes,

afetando o desenvolvimento das plantas, o que justifica a taxa de crescimento alterada em concentrações a partir de C_5 (concentração máxima de adsorção do metal no solo).

O maior crescimento da *Mentha crispa* L. ocorreu com a planta controle e os tratamentos C_1, C_2, C_3 e C_4, onde não apresentam diferenças significativas de crescimento em relação a C_0. No entanto, em C_7 foi observada uma redução no crescimento de aproximadamente 25% em relação ao controle.

Em concentrações mais altas de cobre, principalmente C_6 e C_7, a planta *Mentha crispa* L. apresentou aspectos visuais de toxicidade. Esse metal pode interferir diretamente no crescimento da parte aérea da planta, como foi observado. Ebbs & Kochian (1997), Lewis (2001) e Meirelles (2004) relatam sobre os efeitos do excesso de Cu sobre a inibição na absorção de nutrientes essenciais ao crescimento, que acabam também levando a clorose das folhas.

Em relação ao número de brotamentos e ramificações (Figura 6B) de *Mentha crispa* L., observou-se que os tratamentos C_3 e C_4 apresentaram um grande número de brotos, maior até que o observado na planta controle. Esse comportamento pode ser devido ao Cu ser considerado um micronutriente essencial para o desenvolvimento adequado das plantas (REEVES & BAKER, 2000).

Nota-se também uma diferença significativa de brotamento entre o controle C_0 e os tratamentos com as maiores concentrações de Cu, onde a taxa de brotamento da Menta é 32% menor para C_6 e 40% para C_7. Segundo Ebbs & Kochian (1997), o excesso de cobre interfere diretamente na absorção de outros micronutrientes essenciais para o desenvolvimento das plantas, entre eles Fe e Mn, cuja deficiência pode contribuir para a redução do desenvolvimento das partes aéreas das plantas, o que foi observado neste trabalho.

Na Figura 6C pode ser observado o número de folhas da Menta em solo contaminado com Cu, no qual os tratamentos C_6 e C_7 foram os que mais afetaram o número de folhas, apresentando uma redução de 25% e 40% respectivamente, quando comparadas ao controle C_0. Os demais tratamentos (C_1 a C_5) apresentaram um crescimento regular das folhas e próximos ao apresentado pelo controle C_0.

Ainda na Figura 6C, nota-se uma queda considerável no número de folhas entre a quinta e a sexta quinzena para todas as concentrações. As causas dessa observação podem ser devido ao período de inverno, no qual as médias mínimas de temperaturas, segundo INMET (2016), se encontravam entre 6 e 18°C, o que desacelera naturalmente o metabolismo das plantas.

4.2.3. Concentração de Cu na *Mentha crispa* L.

Foram determinanadas as concentrações de Cu na raiz, caule e folha da *Mentha crispa* L. cultivada em solo contaminado com esse metal e são apresentadas na Figura 7.

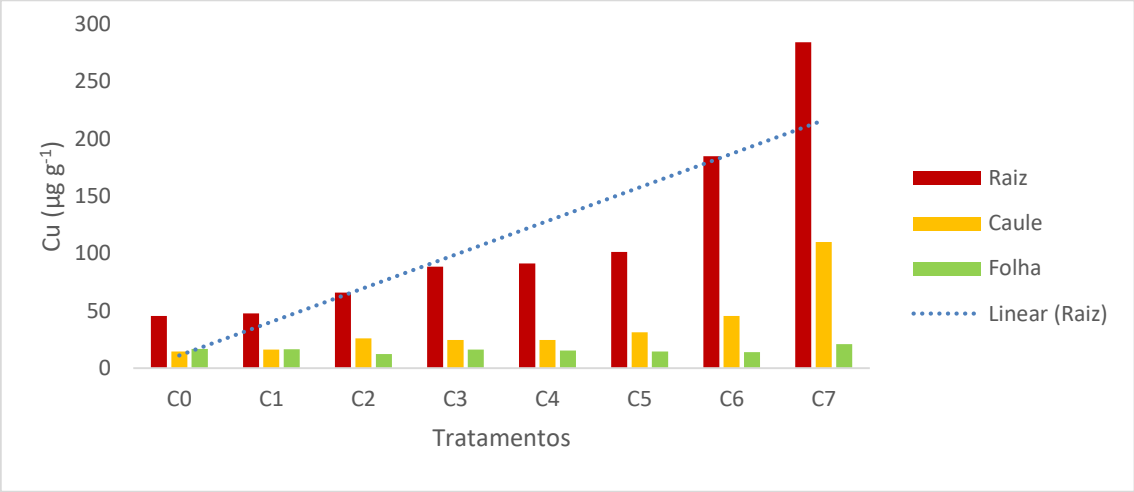

Figura 7: Concentração de Cu encontrada na raiz, caule e folha da *Mentha crispa* L em solo contaminado com doses crescentes do metal (C_0 a C_7)

As doses crescentes de cobre no solo influenciam sobre o acúmulo desse metal nos tecidos da planta, estando presente principalmente no sistema radicular. Os teores de Cu acumulados nos tecidos foram mais evidentes nas duas maiores concentrações, tratamentos C_6 e C_7. O acúmulo de cobre no sistema radicular é citado por Girotto (2010), em experimento com aveia e por Zanqueta (2011), em experimento com sorgo, sendo justificado pela baixa translocação do metal para a parte aérea.

De acordo com teste de Tukey 5%, não houve diferença significativa na absorção do metal pelas raízes para concentrações até C_5, no entanto para C_6 e C_7 é nítido o aumento na concentração de cobre nas raízes, sendo aproximadamente seis vezes maior do que no controle (tratamento C_0). Para as partes aéreas, mesmo em doses mais altas de Cu no solo, a sua concentração é bem menor que nas raízes, apresentando um aumento apenas no caule do tratamento C_7, sendo sete vezes maior que o observado controle (tratamento C_0).

Segundo Berti & Cunninghan (2000) e Santibánez *et al*. (2008), plantas com características de acúmulo do metal em suas raízes e baixa translocação para partes aéreas podem ser consideradas como plantas fitoestabilizadoras, devendo absorver grandes

quantidades de metal. A retirada destes metais pelas raízes acaba facilitando a imobilização do metal, formando complexos mais estáveis e dessa forma menos tóxicos para o meio ambiente.

4.3. FATORES DE BIOCUMULAÇÃO E TRANSLOCAÇÃO DE Cu – RELAÇÃO PLANTA/SOLO

O fator de bioacumulação (FB) foi usado para determinar a quantidade de metal absorvido pela planta do solo. Esse fator mostra a habilidade que a planta tem de acumular determinados metais relacionando-os com a concentração desses no solo.

Na Tabela 2 encontram-se os fatores de bioacumulação calculados para cada tratamento realizado no experimento. Os resultados mostram que nenhum dos fatores calculados é maior que 1 e, segundo Araújo (2011), valores menores que 1 demonstram que a planta é tolerante ao excesso de metal em solo.

Tabela 2: Fatores de bioacumulação calculados para *Mentha crispa* L. cultivada em solo contaminado com Cu em diferentes concentrações (tratamentos C_1 a C_7)

FB						
C_1	C_2	C_3	C_4	C_5	C_6	C_7
0,240	0,275	0,276	0,131	0,116	0,105	0,093

De acordo com os fatores de bioacumulação calculados, pode-se observar que a taxa de absorção de Cu pela planta diminuiu com o aumento da quantidade de Cu adicionada no solo a partir do tratamento C_4. Portanto, pode-se concluir que proporcionalmente a planta não absorveu o metal na medida que este aumentou a concentração, apresentando um grau de saturação na planta.

Outro fator para avaliação da *Mentha crispa* L. frente a absorção de Cu do solo, é o fator de translocação (FT), que avalia o potencial das espécies de translocar o metal absorvido das raízes para as partes aéreas. Yoon *et al*. (2006) afirma que valores de FT < 1 são indicativos de que o metal absorvido pelas plantas é acumulado nas raízes das mesmas, e valores maiores indicam a translocação do metal para a parte aérea. Os valores de FT calculados neste estudo podem ser visualizados na Tabela 3.

Tabela 3: Fatores de translocação calculados para *Mentha crispa* L. cultivada em solo contaminado com Cu em diferentes concentrações (tratamentos C_1 a C_7).

FT							
C_0	C_1	C_2	C_3	C_4	C_5	C_6	C_7
0,685	0,677	0,578	0,458	0,435	0,449	0,320	0,460

Os valores encontrados para FT são menores que 1 para os tratamentos usados no experimento, indicando um acúmulo do metal nas raízes da Menta e a baixa translocação do metal para caules e folhas.

Segundo Dias *et al.* (2010) e Zhao *et al.* (2010) a planta é considerada hiperacumuladora quando FT e FB apresentam valores acima de 1. Nesse estudo, a *Mentha crispa* L., em solo contaminado com Cu, não pode ser considerada hiperacumuladora.

A baixa translocação de cobre para as partes aéreas pode ser observada no fator de translocação (FT), que consiste na capacidade da planta em translocar o metal do sistema radicular para a parte aérea, variaram entre 0,320 a 0,685. Segundo Yoon *et al.* (2006), esses valores representam baixa translocação de cobre para parte aérea, sendo considerados altos somente valores maiores de 1,0.

4.4. CORRELAÇÃO DOS EFEITOS DO Cu NA *Mentha crispa* L. POR MEIO DA ÁNALISE DISCRIMINANTE CANÔNICA (ADC)

Para correlacionar os parâmetros de crescimento (comprimento, número de brotos e folhas) da planta *Mentha crispa* L.,(considerando raiz, caule e folha) com a presença de Cu no solo, foi realizada a Análise Discriminante Canônica (ADC). A correlação entre os parâmetros comprimento, número de brotos e folhas e o tempo de exposição ao Cu expresso em quinzena é apresentada da Figura 8.

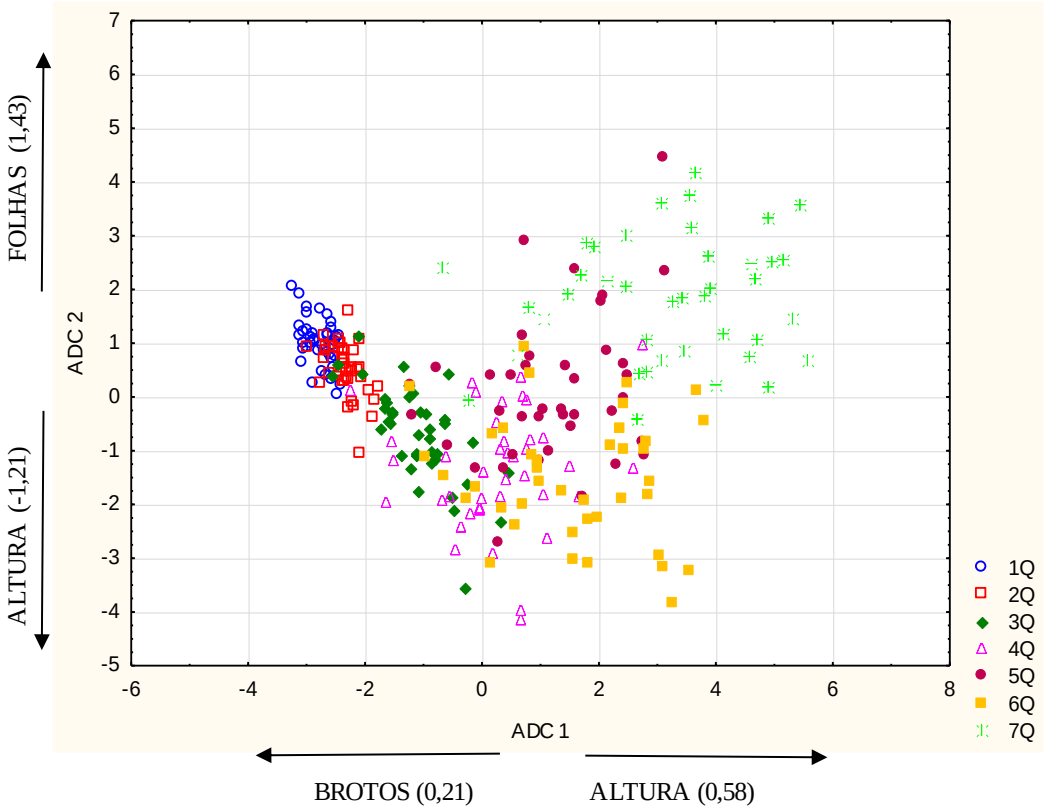

Figura 8: Diagrama de Análise Discriminante Canônica da correlação entre os parâmetros de comprimento, brotos e folha em função do tempo de exposição ao Cu, expresso em 7 quinzenas (1Q a 7Q) avaliadas.

Diferenças significativas foram encontradas entre os parâmetros de crescimento analisados, com a concentração de Cu usando MANOVA (Lambda de Wilks = 0,0798; F = 61,513; p<0,001). O eixo ADC 1 da discriminante se revelou significativamente o mais importante da ordenação do efeito, do tempo de experimento, sobre os parâmetros analisados (autovalor = 4,19; com 75.2% de explicação sobre a variabilidade dos dados).

De acordo com o eixo ADC 1, os dados apresentaram um efeito gradiente em função do tempo nas 7 quinzenas avaliadas. Observa-se que, quanto maior o tempo de exposição ao Cu, os efeitos do metal são maiores sobre o comprimento da planta, seguido por número de folhas e de brotos. Através da sintomatologia foram observadas, nas últimas quinzenas, a inibição do crescimento (comprimento) e redução no número de folhas.

No eixo ADC 2, a sétima quinzena se diferencia quanto ao número de folhas e comprimento em relação às demais quinzenas. A análise estatística corrobora com o relatado durante o acompanhamento do crescimento da Menta, com diminuição expressiva do número de folhas. Outra avaliação estatística realizada foi a correlação canônica entre os tratamentos com diferentes concentrações de Cu no solo (C_0 a C_7) e as partes da planta (raízes caule e folha), que pode ser visualizada na Figura 9.

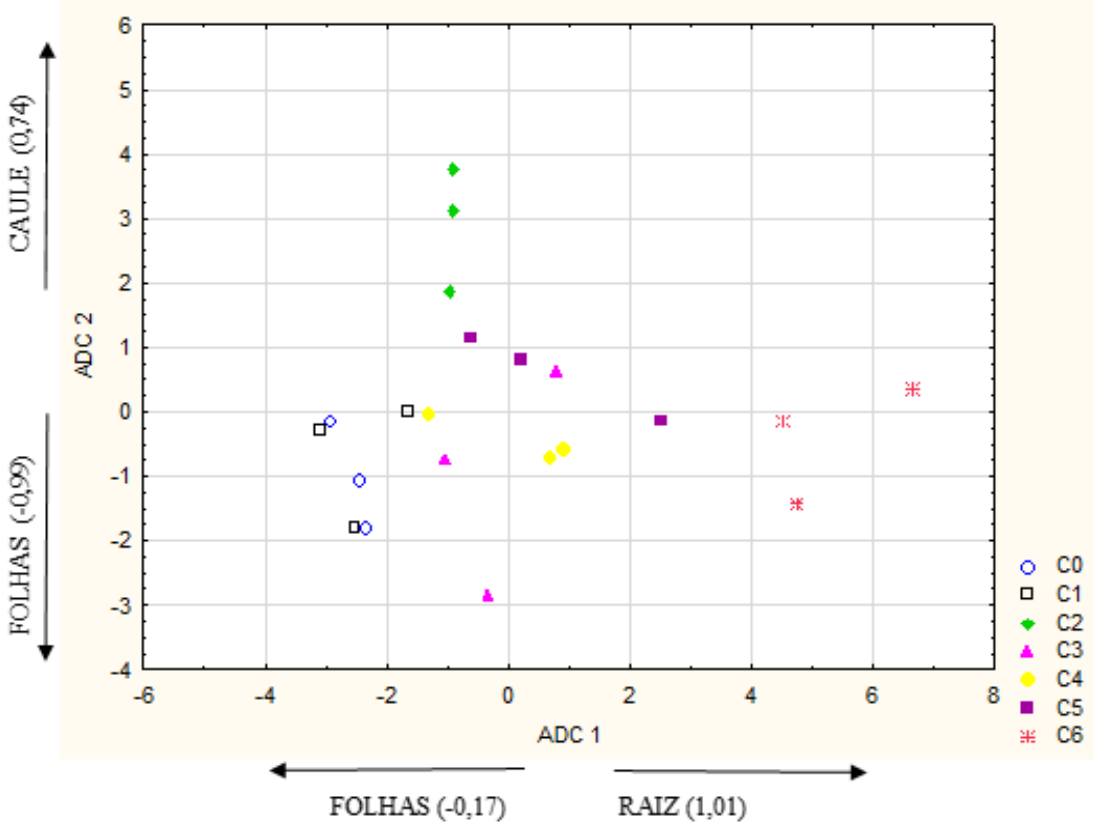

Figura 9: Diagrama de Análise Discriminante Canônica da correlação entre as concentrações de metal e partes da planta (Folha, Caule e Raiz).

Foram encontradas diferenças significativas entre os grupos analisados e as concentrações do metal Cu usando MANOVA (Lambda de Wilks = 0,027; F = 4,87; p<0,001).

O eixo ADC 1 da discriminante se revelou significativamente o mais importante da ordenação do efeito, das diferentes concentrações do metal, sobre os parâmetros analisados (autovalor = 8,98; com 77.9% de explicação sobre a variabilidade dos dados). Nesse eixo observa-se que a presença de Cu nos tratamentos C_0 e C_1 afetam mais o número de folhas das plantas, com maior escore negativo (Coeficiente Canônico = -0,176095), que corrobora com a sintomatologia onde as plantas cultivadas em baixas concentrações do metal no solo apresetaram maior número de folhas.

Por outro lado, o tratamento C_6 afetou mais intensamente as raízes com maior escore positivo (Coeficiente Canônico = 1,015945), onde na sintomatologia observou-se que as raízes da planta cultivadas em solo com as maiores concentrações de Cu foram nitidamente menores.

A Figura 10 apresenta a correlação entre os tratamentos com diferentes concentrações de Cu no solo (C_0 a C_6) e os parâmetros comprimento, número de brotos e folhas da *Mentha crispa L.*.

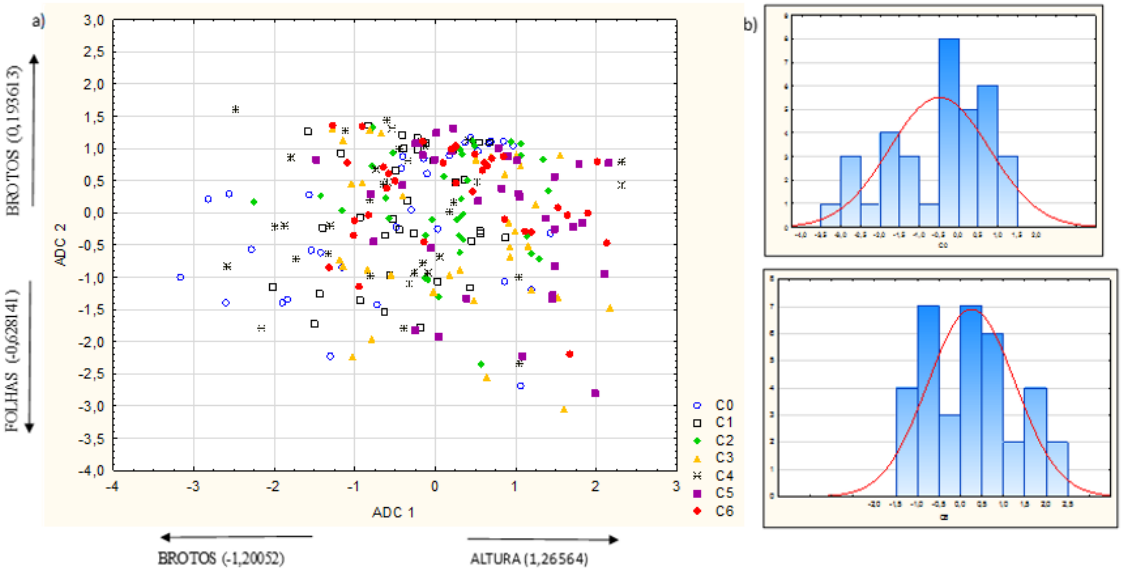

Figura 10:a) Diagrama de Análise Discriminante Canônica para a correlação entre os tratamentos com diferentes concentrações de Cu no solo e comprimento, número de brotos e folhas da *Mentha crispa* L.. b) Histograma com os escores das concentrações C_0 e C_6 para o eixo ADC 1.

A análise MANOVA encontrou diferenças significativas entre os grupos analisados na discriminante (Lambda de Wilks = 0,80; F = 3,00; $p < 0,001$). O eixo ADC 1 da discriminante se revelou significativamente o mais importante da ordenação do efeito das diferentes concentrações do metal, sobre os parâmetros analisados (autovalor = 8,98; com 77,55% de explicação sobre a variabilidade dos dados).

Os tratamentos C_5 e C_6 apresentam escores mais positivos para o eixo ADC 1, revelando maior efeito sobre o comprimento das plantas (Coeficiente Canônico = 1,26). Esse efeito é observado na sintomatologia onde ocorre a redução do comprimento da planta com o aumento expressivo da concentração de Cu no solo. De alguma maneira, o excesso de Cu impede o processo de crescimento da planta em termos de comprimento, redução de brotos e folhas.

Os tratamentos C_0 a C_4 revelaram scores mais negativos para o eixo ADC 1, influenciando mais o desenvolvimento dos brotos (Coeficiente Canônico = -1,2), ou seja, a planta desenvolveu mais brotos nas menores concentrações de Cu no solo.

5. CONCLUSÃO

Com o estudo em questão pode-se concluir que a *Mentha crispa* L. mostrou-se tolerante ao excesso deste metal, absorvendo o mesmo em doses maiores que as necessárias para a nutrição.

Conclui-se também que a menta acumulou o Cu em suas raízes, sem translocação significativa do metal para as partes aéreas, observado pelo baixo valor no fator de translocação obtido. Este comportamento de alocação do Cu é característico de plantas fitoestabilizadoras.

Assim pode-se concluir que a utilização indiscriminada de fungicidas à base de Cu pode trazer danos para a agricultura, já que para menta e outros vegetais houve redução no crescimento e interferência no desenvolvimento da planta. Vale ressaltar que o uso da calda bordalesa é permitido em culturas tradicionais e orgânicas, logo, a preocupação com o acúmulo de cobre em solo aplica-se para ambos os cultivos.

O cultivo de menta em solo contaminado por Cu mostra-se muito interessante para alguns setores industriais, pois a produção de óleo essencial, produto de valor comercial utilizado em áreas farmacêuticas, cosméticas e alimentícias, provavelmente não apresentará contaminação de Cu, uma vez que, o metal fica retido nas raízes.

REFERÊNCIAS

ALI, H.; KHAN, E.; SAJAD, M. A. Phytoremediation of heavy metals—Concepts and applications . **Chemosphere**, v. 91, n. 7, p. 869–881, 2013.

ALLEONI, L.R.F. CAMARGO, O.A.CASAGRANDE, J.C. Atributos do solo relacionados à adsorção de cádmio e cobre em solos tropicais. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 27, n. 4, p. 729–737, 2005.

ARAÚJO, A. S. A., GUILHERME, L. R. G., LOPES, G., & CAMPOS, M. L.. Fitorremediação de solos contaminados com arsênio (As) utilizando braquiária. ***Ciênc agrotec***, v.*35*, p. 84-91, 2011.

ARAUJO-JUNIOR, C. F.; GUIZILINI, I.; SANTORO, P. H.; HAMANAKA, C. A.; SILVA, S.. **Qualidade Física De Um Latossolo Em Sistema Agroflorestal de Cafeeiros Orgânicos**. Curitiba: [s.n.]. Disponível em: <http://www.sbicafe.ufv.br/handle/123456789/3648>. Acesso em 20 de nov. 2015

ARIYAKANON, N.; WINAIPANICH, B. Phytoremediation of Copper Contaminated Soil by Brassica juncea (L .) Czern and Bidens alba (L .) DC. **Journal Science Research Chula University**, v. 31, n. 1, p. 49–56, 2006.

BERTI, W.R. & CUNNIGHAM, S.D. Phytostabilization of metals. In: RASKIN, I. & ENSLEY, B.D. (eds.). Phytoremediation of toxic metals: Using plants to clean up the environment, **New York: Wiley**, p.71-88, 2000.

BOGNOLA; CURCIO, I.A.; VASCONCELLOS, G. R. G.; CAVIGLIONE, J. B.; UHLMAN, A.;CARDOSO, A.; CARVALHO, A. P. **Legenda de identificação das unidades de mapeamento de solo do município de Londrina, PR.** Londrina: IAPAR, 2011.

CHOJNACKA, K.; CHOJNACKI, A.;GÓRECKA, H.;GÓRECKI, H..
. Bioavailability of heavy metals from polluted soils to plants. **Science of the Total Environment**, v. 337, n. 1-3, p. 175–182, 2005.

CLAESSEN, M. E. C.; BARRETO, W. DE O. **Manual de Métodos de Análise de Solo**. 2. ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 1997.

DA SILVA, A. F., WELZ, B., e CURTIUS, A. J. Noble metals as permanent chemical modifiers for the determination of mercury in environmental reference materials using solid sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry and calibration

against aqueous standards. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 57, n. 12, p. 2031-2045, 2002.

DE OLIVEIRA, A. R. M. F., JEZLER, C. N., OLIVEIRA, R. A., & do BOMFIM COSTA, L. C. Influência da idade da planta na produção de óleo essencial de alevante. **Revista Ceres**, v. 59, n. 2, p. 241-245, 2012.

DIAS, L.E., MELO, R.F., MELLO, J.W.V., OLIVEIRA, J.A., DANIELS, W.L. Growth of seedlings of pigeon pea (Cajanus cajan (L.) millsp), wand riverhemp (Sesbania virgata (cav.) pers.), and lead tree (*Leucaena leucocephala* (lam.) de wit) in an arseniccontaminated soil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.34, p.975-983, 2010.

EBBS, S. D., & KOCHIAN, L. V.. Toxicity of zinc and copper to Brassica species: implications for phytoremediation. **Journal of Environmental Quality**, v.26, n.3, p.776-781, 1997.

EMBRAPA. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. **Embrapa Informação Tecnológica**, p. 370, 2009.

FELIZ, F. F. *Comportamento Do Cobre Aplicado No Solo Por Calda Bordalesa*. 2005. 85 f.- Dissertação (Mestrado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura, Universidade de São Paulo. 2005.

FERRAZ, F. M.; INOCÊNCIO, M. F.; FURTINI, A. E. **Dinâmica de Boro , Cobre , Ferro e Manganês em Solo Submetido à Aplicação de Zinco na Cultura da Soja em Sete Lagoas**, **MG**. v. 4, 2010.

GADD, G. M. Metals, minerals and microbes: Geomicrobiology and bioremediation. **Microbiology**, v. 156, n. 3, p. 609–643, 2010.

GAETKE, L. M.; CHOW, C. K. Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. **Tóxicology**, v. 189, n. 1-2, p. 147–163, 2003.

GIROTTO, E. **Alterações fisiológicas e bioquímicas em plantas cultivadas em solos com acúmulo de cobre e zinco**. (Tese de Doutorado) Universidade Federal de Santa Maria. 152p. , Santa Maria, RS, 2010.

GOMES, S., Carneiro, E. P., da Costa Vasconcellos, M. E., & Gomes, J. C. 2007. Eficácia de extratos de nim para o controle do oídio do feijoeiro**. Summa Phytopathologica**, v. *33*, n.1, p. 34-39, 2007.

GONÇALVES, M. S.; BETTIN, J. P.; JUNIOR, L. C. S. SILVA; SAMPAIO, S. C.; BOSCO, T. C. DAL. Adequação dos modelos de langmuir e freundlich na adsorção de cobre em solo argiloso do sul do brasil. **Holos**, v. 4, p. 37–44, 2013.

GRATÃO, P. L.; PRASAD, M. N. V.; CARDOSO, P. F.; LEA, P. J.; AZEVEDO, R. A.. Phytoremediation: green technology for the clean up of toxic metals in the environment. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 17, n. 1, p. 53–64, 2005.

INMET – Instituto Nacional de Meteorologia. (s.d.). Acesso em novembro de 2016, disponível em INMET – Instituto Nacional de Meteorologia: http://www.inmet,gov.br

JORIS, H. A. W.; FONSECA, A. F.; ASAMI, V. Y.; BRIEDIS, C.; BORSZOWSKEI, P. R.; GARBUIO, F. J. Adsorção de metais pesados após calagem superficial em um Latossolo sob sistema de plantio direto. Revista Ciência Agronômica. v. 43, p. 1 - 10, 2012.

KABATA-PENDIAS, A. Soil-plant transfer of trace elements - An environmental issue. **Geoderma**, v. 122, n. 2-4 SPEC. IIS., p. 143–149, 2004.

LASAT, M. M. The Use of Plants for the Removal of Toxic Metals from Contaminated Soil. **American Association for the Advancement of Science Environmental Science and Engineering Fellow**, v. 18, p. 359–362, 1997.

LEWIS S, DONKIN ME, DEPLEDGE MH. Hsp 70 expression in Enteromorpha intestinalis (Chlorophyta) exposed to environmental stressors. **Aqua Toxicol**, v. 51, p.277–29, 2001.

LLORENS, N., AROLA, L., BLADE, C., Mas, A.,. Effects of copper exposure upon nitrogen metabolism in tissue cultured Vitis vinifera. **Plant Science**, v. 160, n. 1, p. 159-163, 2000.

MADEROVA, L.; WATSON, M.; PATON, G. I. Bioavailability and toxicity of copper in soils: Integrating chemical approaches with responses of microbial biosensors. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 43, n. 6, p. 1162–1168, 2011.

MANIKANDAN, R., SAHI, S. V., & VENKATACHALAM, P.. Impact assessment of mercury accumulation and biochemical and molecular response of *Mentha arvensis*: a potential hyperaccumulator plant. **The Scientific World Journal**, 2015.

MEIRELLES, L. Os metais tóxicos e seus efeitos deletérios. 2001. Disponível em: <http://fisiculturismo.com.br/artigo.php?id=168>. Acesso em: 05 dez. 2016.

MELO, G. M. P. DE; MELO, V. P. DE; MELO, W. J. DE. Metais Pesados no Ambiente Decorrente da Aplicaçao de Lodo de Esgoto em Solo Agricola. Disponível em: http://www.mma.gov.br/port/conama/processos/CB5F6214/LODOMETAL.pdf . Acesso em: 10 de dez. 2015

MEURER, E.J.; RHEINHEIMER, R,D. E BISSANI, C.A.; **Fenômenos de Sorção em Solos, In In Fundamentos de Química do Solo**; Meurer, E.J.; Evangraf LTDA, 2010.

MOREIRA, W. H., TORMENA, C. A., JUNIOR, E. B., FIGUEIREDO, G. C., da SILVA, Á. P., & GIAROLA, N. F. B.. Quantificação do intervalo hídrico ótimo de um latossolo vermelho utilizando duas estratégias metodológicas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, n. 6, p. 1772-1783, 2014.

MUDGAL, V.; MADAAN, N.; MUDGAL, A. Heavy metals in plants : phytoremediation : Plants used to remediate heavy metal pollution. **Griculture and Biology Journal of North America**, v. 1, n. 1, p. 40–46, 2010.

NAGAJYOTI, P. C., Lee, K. D., & SREEKANTH, T. V. M. (2010). Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. **Environmental Chemistry Letters**, 8(3), 199-216.

NASCIMENTO, C. W. A.; FONTES, R. L. F. Correlação entre características de latossolos e parâmetros de equações de adsorção de cobre e zinco. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, v. 28, n. 6, p. 965–971, 2004.

PRASAD, A.; SINGH, A. K.; CHAND, S.; CHANOTIYA, C.S.; PATRA, D. D..
. Effect of Chromium and Lead on Yield, Chemical Composition of Essential Oil, and Accumulation of Heavy Metals of Mint Species. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 41, n. November 2008, p. 2170–2186, 2010.

RAIJ, B. VAN. A capacidade de troca de catíons das frações orgânica e mineral em solo. **Bragantia**, v. 28, n. 8, p. 85 – 112, 1969.

REEVES RD, BAKER AJM. Metal-accumulating plants. In: Raskin I, Ensley BD (eds) Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment. Wiley, **New York**, p. 193–22, 2000.

ROSA, F. R. T.; ARAUJO-JUNIOR, C. F.; HAMANAKA, C. A.; SILVA, A. S. DA.; CARDUCCI, C. E.. **Propriedades Físicas De Um Latossolo Em Sistema De Cultivo**

Physical Properties of a Latosol in High Coffee Tree Density. Curitiba: SPCB - Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 2015. Disponível em: <http://www.sbicafe.ufv.br/handle/123456789/3663>.

SÁ, R. A.; SÁ, R. A.; ALBERTON, O.; GAZIM, Z. C.; LAVERDE JR., A.; CAETANO, J.; AMORIN, A. C.; DRAGUNSKI, D. C.. Phytoaccumulation and effect of lead on yield and chemical composition of *Mentha crispa* essential oil. **Desalination and Water Treatment**, n. May, p. 1–11, 2014.

SANTIBÁÑEZ, C. ; VERDUGO, C. ; GINOCCHIO, R. Phytostabilization of copper mine tailings with biosolids: implications for metal uptake and productivity of Lolium perenne. **Science of the Total Environment**, v. 395, n. 1, p. 1-10, 2008.

SILVA, R. F. D., MISSIO, E. L., STEFFEN, R. B., WEIRICH, S. W., KUSS, C. C., & SCHEID, D. L. Effects of copper on growth and quality of Stryphnodendron polyphyllum Mar. and Cassia multijuga Rich. **Ciência Florestal**, v. 24, n. 3, p. 717-725, 2014.

SUBHASHINI, V.; SWAMY, A. V. V. S. Phytoremediation of Heavy Metals Contaminated Soils by Catharanthus roseus. **International Journal of Science and Research (IJSR)**, v. 5, n. 12, p. 726–729, 2016.

WEBER, M. B.; SCHAT, H.; TEN BOOKUM-VAN DER MAAREL, W. M. The effect of copper toxicity on the contents of nitrogen compounds in Silene vulgaris (Moench) Garcke. **Plant and soil**, v. 133, n. 1, p. 101-109, 1991.

WILSON, J. J.; FURUKAWA, M. Evaluation of the patient with hip pain. **American Family Physician**, v. 89, n. 1, p. 27–34, 2014.

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

ZANQUETA, A.C.F.; ABREU, C.A.; ZAMBROSI, F.C.B.; ERISMANN, N.M. & LAGÔA, A.M.M.A. Fitoextração de cobre por espécies de planta cultivadas em solução nutritiva. **Bragantia**, v. 70 p.737-744, 2011.

ZHAO, F.J., MCGRATH, S.P., MEHARG, A.A.. Arsenic as a Food Chain Contaminant: Mechanisms of Plant Uptake and Metabolism and Mitigation Strategies. **Annual Review of Plant Biology**. v.6, p. 535–59, 2010.