

EDUARDO DA SILVA DANIEL

**APLICAÇÃO DE COBRE, CRESCIMENTO, MORFOGÊNESE E NUTRIÇÃO
MINERAL EM GRAMÍNEAS TROPICais**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito para obtenção do grau de Doutor em Ciência do Solo.

Orientadora: Dra. Mari Lucia Campos
Co-orientador: Dr. David José Miquelluti

**LAGES
2018**

**Ficha catalográfica elaborada pelo(a) autor(a), com
auxílio do programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CAV/UDESC**

Daniel, Eduardo da Silva
Aplicação de cobre, crescimento, morfogênese e
nutrição mineral em gramíneas tropicais / Eduardo da
Silva Daniel. - Lages , 2018.
109 p.

Orientadora: Mari Lucia Campos
Co-orientador: David José Miquelluti
Tese (Doutorado) - Universidade do Estado de
Santa Catarina, Centro de Ciências
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em
Ciência do Solo, Lages, 2018.

1. Crescimento de plantas. 2. Elementos-traço. 3.
Gramíneas forrageiras. I. Campos, Mari Lucia . II.
Miquelluti, David José. , .III. Universidade do
Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em
Ciência do Solo. IV. Título.

EDUARDO DA SILVA DANIEL

**APLICAÇÃO DE COBRE, CRESCIMENTO, MORFOGÊNESE E NUTRIÇÃO
MINERAL EM GRAMÍNEAS TROPICais**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo da Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciência do Solo.

Banca examinadora:

Orientadora:

Prof. Dra. Mari Lucia Campos
(UDESC/Lages)

Membro interno:

Prof. Dr. Álvaro Luiz Mafra
(UDESC/Lages)

Membro interno:

Prof. Dr. André Fischer Sbrissia
(UDESC/Lages)

Membro externo:

Prof. Dra. Aquidauana Miqueloto
(IFSC/São Miguel do Oeste)

Membro externo:

Prof. Dr. Cláudio Roberto Fonsêca Sousa Soares
(UFSC/Florianópolis)

Lages, 25/04/2018

Para Mariuccia, minha esposa, pela força,
carinho e compreensão.
Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Maria Janete e Mário, e familiares, pela força e apoio;

À minha esposa Mariuccia pela compreensão, paciência, carinho, apoio, companheirismo e auxílio durante todo a jornada na pós-graduação; a ela, minha mais profunda gratidão;

Agradeço especialmente à orientadora Mari Lucia Campos, por todo o apoio técnico e profissionalismo, pela confiança, incentivo e amizade;

Um agradecimento especial também ao coorientador David José Miquelluti, pela contribuição no trabalho e amizade;

Aos professores Cristiano André Steffens, Clenilso Sehnen Mota, André Fischer Sbrissia e Álvaro Luís Mafra, pelos ensinamentos e contribuições para a condução e análise dos experimentos;

Aos demais professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo e Produção Vegetal do Centro de Ciência Agroveterinárias pelos ensinamentos prestados;

Aos professores Johannes Bernhard Wehr e Mal Hunter, pelos ensinamentos e contribuições nos trabalhos desenvolvidos durante o doutorado sanduíche na Austrália;

Aos acadêmicos Vinício Denardi, pelo auxílio técnico nas análises de fotossíntese, e Helena Grossl e Marcos Müller, pelo auxílio na condução dos experimentos e análises;

Ao amigo Evandro pelo apoio, a todos os colegas do PPG em Ciência do Solo, em especial ao Gabriel e ao Andrei, pelo companheirismo e contribuição no trabalho, e aos colegas de laboratório, pelo compartilhamento de experiências nas análises e coleguismo;

Aos laboratoristas Matheus Rodrigo Machado e Éderson Rodrigues Pereira pelo fundamental auxílio na execução das análises;

À Universidade do Estado de Santa Catarina e à Universidade de Queensland, pela oportunidade, e à CAPES/FAPESC, pela concessão da bolsa de estudos.

A todos, muito obrigado!

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.” **(José de Alencar)**

RESUMO

As atividades antrópicas têm aumentado os teores de cobre (Cu) nos solos. As gramíneas forrageiras são as pastagens mais cultivadas no Brasil. Todavia, pouco se sabe dos efeitos do Cu a essas plantas. Os objetivos do trabalho foram: definir a dose crítica inferior e superior de Cu para plantas de capim xaraés; e avaliar a toxicidade do Cu em gramíneas forrageiras tropicais, considerando dois níveis de Cu na solução nutritiva. Para tanto, foram realizados dois experimentos em casa de vegetação. No primeiro, plantas de capim xaraés foram cultivadas em vasos com Cambissolo Háplico com doses de 0 a 200 mg kg⁻¹ de Cu. Primeiramente, foi verificada a disponibilidade do Cu no solo. Aos 41 dias de crescimento, foram avaliadas trocas gasosas, índice SPAD e altura das plantas, e após a colheita, a área foliar, área foliar específica e massa seca. Foram determinadas a concentração e translocação de Cu nas plantas, e a acumulação de nutrientes na parte aérea. Os dados foram submetidos ao ajuste de equações de regressão. No segundo experimento, plantas de 11 gramíneas forrageiras tropicais foram cultivadas em solução nutritiva, em duas concentrações de Cu: 0,3 e 20 µmol L⁻¹, durante 30 dias. Foram avaliadas a morfogênese, do 15º ao 30º dia, e o índice SPAD, no 30º dia. Após a colheita, foram avaliadas a área foliar, massa seca e área foliar específica, bem como o comprimento total, área, volume, diâmetro médio, área específica, densidade, densidade de comprimento e o comprimento específico de raízes. Foram determinadas a concentração e translocação de Cu nas plantas. Os dados foram submetidos ao teste de médias. Para plantas de capim xaraés cultivadas em Cambissolo Háplico com doses crescentes de Cu, a dose crítica inferior estimada para superar a deficiência corresponde a 62,60 mg kg⁻¹, e a dose crítica superior estimada para causar toxicidade corresponde a 128,92 mg kg⁻¹. Na concentração de 20 µmol L⁻¹ de Cu em solução nutritiva há prejuízo do crescimento das raízes de humidícola, hemártria e Jiggs, e da parte aérea de humidícola, hemártria, Jiggs, xaraés e Tanzânia. Nesta concentração, há benefícios para o crescimento de raízes de marandu, Aruana, piatã, xaraés, Tanzânia e Tifton-85, e para a parte aérea de marandu, Aruana, piatã, Tifton-85 e missioneira gigante. Na concentração de Cu de 20 µmol L⁻¹ as plantas apresentam maior concentração de Cu nas raízes e parte aérea, e menores fatores de translocação.

Palavras-chave: Crescimento de plantas. Elementos-traço. Gramíneas forrageiras.

ABSTRACT

Anthropogenic activities have increased the levels of copper (Cu) in soils. Forage grasses are the most cultivated pastures in Brazil. However, little is known about the effects of Cu to these plants. The objectives of the study were: to define the lower and upper critical dose of Cu for xaraés grass plants; and to evaluate the Cu toxicity to tropical forage grasses, considering two levels of Cu in the nutrient solution. For that, two experiments were carried out under greenhouse conditions. In the first, xaraés grass plants were cultivated in pots with Typic Dystrudepts with Cu doses of 0 to 200 mg kg⁻¹. Firstly, the Cu availability in the soil was verified. At 41 days of growth, gas exchange, SPAD index and plant height were evaluated. After harvest, leaf area, specific leaf area and dry mass were determined. Cu concentration and translocation in the plants were determined, as well as the accumulation of nutrients in the shoots. The data were submitted to the adjustment of regression equations. In the second experiment, plants of 11 tropical forage grasses were grown in nutrient solution at two Cu concentrations: 0.3 and 20 µmol L⁻¹, for 30 days. Morphogenesis, from 15th to 30th day, and the SPAD index, on 30th day, were evaluated. After harvesting, leaf area, dry mass and specific leaf area, as well as the total length, area, volume, mean diameter, specific area, density, length density and specific length of roots were evaluated. Cu concentration and translocation in plants were determined. The data were submitted to comparison of means. For xaraés grass plants grown in Cambisol Haplic with increasing Cu doses, the critical lower dose estimated to overcome the deficiency corresponds to 62.60 mg kg⁻¹, and the highest critical dose estimated to cause toxicity corresponds to 128.92 mg kg⁻¹. At the concentration of 20 µmol L⁻¹ of Cu in nutrient solution, there was damage to the growth of the roots of humidicola, hemarthria and Jiggs, and to the growth of the shoots of humidicola, hemarthria, Jiggs, xaraés and Tanzania. In this concentration, there were benefits to the growth of the roots of marandu, Aruana, piatã, xaraés, Tanzania and Tifton-85, and to the growth of the shoots of marandu, Aruana, piatã, Tifton-85 and missioneira gigante. At the concentration of Cu of 20 µmol L⁻¹, the plants presented higher concentration of Cu in the roots and shoots, and lower translocation factors.

Key words: Plant growth. Trace element. Forage grasses.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Plantas de capim xaraés desenvolvidas em solo com doses crescentes de Cu após 42 dias da semeadura.....	44
Figura 2 -	Concentração de Cu disponível com a aplicação de doses crescentes de Cu no solo.....	48
Figura 3 -	Área foliar, área foliar específica, índice SPAD e altura estendida de plantas de capim xaraés desenvolvidas em solo com doses crescentes de Cu.	49
Figura 4 -	Massa seca total, de folhas, colmos e raízes de plantas de capim xaraés desenvolvidas em solo com doses crescentes de Cu.	50
Figura 5 -	Relação folha:colmo (RFC) e raiz:parte aérea (RRPa) de plantas de capim xaraés desenvolvidas em solo com doses crescentes de Cu.	51
Figura 6 -	Taxa fotossintética líquida, taxa de transpiração, condutância estomática e concentração de CO ₂ intercelular em folhas de plantas de capim xaraés desenvolvidas em solo com doses crescentes de Cu.	54
Figura 7 -	Acumulação de Ca, Mg, Zn, Mn, P, K, Fe e N na parte aérea de plantas de capim xaraés desenvolvidas em solo com doses crescentes de Cu.	56
Figura 8 -	Concentração de Cu nas raízes e parte aérea das plantas de capim xaraés desenvolvidas em solo com doses crescentes de Cu.	58
Figura 9 -	Fator de translocação de Cu em plantas de capim xaraés desenvolvidas em solo com doses crescentes de Cu.	59
Figura 10 -	Aspecto geral do experimento com as 11 gramíneas forrageiras cultivadas em solução nutritiva com Cu em concentrações de 0,3 e 20 µmol L ⁻¹	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Valores recuperados pelo método utilizado na determinação da concentração de Cu nas amostras de tecido vegetal das plantas de capim xaraés	46
Tabela 2 -	Doses críticas inferiores e superiores (DCI e DCS) de Cu aplicadas no solo de acordo com as variáveis de crescimento, trocas gasosas e acumulação de nutrientes avaliadas para as plantas de capim xaraés.....	60
Tabela 3 -	Dose crítica de Cu na solução nutritiva para a redução de 50% (DC50) da taxa de crescimento da altura de colmo+pseudocolmo de Aruana, hemártria, humidícola, Jiggs, marandu, missioneira gigante, pensacola, piatã, Tanzânia, Tifton-85 e xaraés cultivadas em solução nutritiva com doses crescentes de Cu.....	73
Tabela 4 -	Valores recuperados pelo método utilizado na determinação da concentração de Cu nas amostras de tecido vegetal das forrageiras.....	75
Tabela 5 -	Área, comprimento total e volume radicular por perfilho de plantas de Aruana, hemártria, humidícola, Jiggs, marandu, missioneira gigante, pensacola, piatã, Tanzânia, Tifton-85 e xaraés cultivadas em solução nutritiva com Cu em concentrações de 0,3 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	77
Tabela 6 -	Tabela 6 — Densidade e diâmetro médio de raízes de plantas de Aruana, hemártria, humidícola, Jiggs, marandu, missioneira gigante, pensacola, piatã, Tanzânia, Tifton-85 e xaraés cultivadas em solução nutritiva com Cu em concentrações de 0,3 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	78
Tabela 7 -	Área radicular específica, comprimento radicular específico e densidade de comprimento de raízes de plantas de Aruana, hemártria, humidícola, Jiggs, marandu, missioneira gigante, pensacola, piatã, Tanzânia, Tifton-85 e xaraés cultivadas em solução nutritiva com Cu em concentrações de 0,3 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	79
Tabela 8 -	Taxa de crescimento da altura de colmo + pseudocolmo e taxa de crescimento da altura estendida de plantas de Aruana, hemártria, humidícola, Jiggs, marandu, missioneira gigante, pensacola, piatã, Tanzânia, Tifton-85 e xaraés cultivadas em solução nutritiva com Cu em concentrações de 0,3 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	80
Tabela 9 -	Taxa de aparecimento de folhas, taxa de expansão foliar e taxa de senescência foliar de plantas de Aruana, hemártria, humidícola, Jiggs, marandu, missioneira gigante, pensacola, piatã, Tanzânia, Tifton-85 e xaraés cultivadas em solução nutritiva com Cu em concentrações de 0,3 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	81
Tabela 10 -	Área foliar por perfilho, área foliar específica e índice SPAD de plantas de Aruana, hemártria, humidícola, Jiggs, marandu, missioneira gigante, pensacola, piatã, Tanzânia, Tifton-85 e xaraés cultivadas em solução nutritiva com Cu em concentrações de 0,3 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	82
Tabela 11 -	Massa seca raízes, colmos e folhas por perfilho de plantas de Aruana, hemártria, humidícola, Jiggs, marandu, missioneira gigante, pensacola, piatã, Tanzânia, Tifton-85 e xaraés cultivadas em solução nutritiva com Cu em concentrações de 0,3 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	86
Tabela 12 -	Massa seca total de plantas de Aruana, hemártria, humidícola, Jiggs, marandu, missioneira gigante, pensacola, piatã, Tanzânia, Tifton-85 e xaraés cultivadas em solução nutritiva com Cu em concentrações de 0,3 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	87

Tabela 13 - Relação raiz:parte aérea e relação folha:colmo de plantas de Aruana, hemártria, humidícola, Jiggs, marandu, missioneira gigante, pensacola, piatã, Tanzânia, Tifton-85 e xaraés cultivadas em solução nutritiva com Cu em concentrações de 0,3 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	88
Tabela 14 - Concentração de Cu nas raízes e parte aérea e fator de translocação para o Cu em plantas de Aruana, hemártria, humidícola, Jiggs, marandu, missioneira gigante, pensacola, piatã, Tanzânia, Tifton-85 e xaraés cultivadas em solução nutritiva com Cu em concentrações de 0,3 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	91

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

<i>A</i>	Taxa fotossintética líquida das folhas
Al	Alumínio
ALA	Ácido aminolevulínico
ATP	Adenosina trifosfato
ATPase	Adenosinatrifosfatasas
Ca	Cálcio
CC	Capacidade de campo
Cd	Cádmio
cm	Centímetro
cmol _c	Centimol de carga
CO ₂	Gás carbônico
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CQFS RS/SC	Comissão de Química e Fertilidade do Solo dos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina
Cr	Cromo
CTC	Capacidade de troca de cátions
CATHR	College of Tropical Agriculture and Human Resource
<i>Ci</i>	Concentração de CO ₂ intercelular
Cu	Cobre
CuCl ₂	Cloreto de cobre
CuNO ₃	Nitrato de cobre
CuSO ₄	Sulfato de cobre
dag	Decagrama
DCI	Dose crítica inferior
DCS	Dose crítica superior
DFFFA	Densidade do fluxo de fótons fotossinteticamente ativos
dm	Decímetro
<i>E</i>	Taxa de transpiração das folhas
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
F AES	Espectrofotometria de emissão de chama
Fe	Ferro

g	Grama
gs	Condutância estomática
GSH	Glutationa
H ₂ O	Água
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
ha	Hectare
HCl	Ácido clorídrico
Hg	Mercúrio
HNO ₃	Ácido nítrico
HR CS FAAS	Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua, com atomização em chama acetileno
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICP-OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
K	Potássio
kg	Quilograma
L	Litro
LMT	Limite máximo tolerável
m	Metro
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
Mg	Magnésio
mg	Miligramma
mL	Mililitro
mM	Milimol
mm	Milímetro
Mn	Manganês
N	Nitrogênio
NH ₄ ⁺	Amônio
Ni	Níquel
NIST	National Institute of Standards and Technology
NO ₃	Nitrato

O	Oeste
O ₂	Oxigênio
°C	Graus Celsius
P	Fósforo
Pb	Chumbo
pH	Potencial hidrogeniônico
PSI	Fotossistema I
PSII	Fotossistema II
RuBisCO	Ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenasse
S	Enxofre
S	Sul
s	Segundo
SOD	Superóxido dismutase
Ti	Titânio
USEPA	United States Environmental Protection Agency
UV Vis	Espectrometria de absorção molecular
VI	Valor de investigação
VP	Valor de prevenção
Zn	Zinco
µmol	10 ⁻⁶ mol

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	25
1.1	HIPÓTESES.....	28
1.2	OBJETIVO GERAL.....	28
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	29
2.1	SOLO E CONTAMINAÇÃO COM ELEMENTOS-TRAÇO.....	29
2.2	O CU NO SOLO E EM PLANTAS.....	30
2.2.1	O Cu no solo.....	30
2.2.2	O Cu em plantas.....	31
2.2.2.1	Efeito da exposição ao Cu a espécies gramíneas.....	36
2.3	CARACTERÍSTICAS DAS GRAMÍNEAS UTILIZADAS NOS EXPERIMENTOS.....	38
3	CRESCIMENTO E NUTRIÇÃO MINERAL DE <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Xaraés EM CAMBISSOLO HÁPLICO CONTENDO DOSES CRESCENTES DE COBRE.....	39
3.1	RESUMO.....	39
3.2	ABSTRACT.....	40
3.3	INTRODUÇÃO.....	41
3.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	43
3.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
3.6	CONCLUSÕES.....	60
3.7	REFERÊNCIAS.....	60
4	EFEITOS DA TOXICIDADE AO COBRE A GRAMÍNEAS FORRAGEIRAS TROPICAIS.....	67
4.1	RESUMO.....	67
4.2	ABSTRACT.....	68
4.3	INTRODUÇÃO.....	69
4.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	70
4.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	76
4.5.1	Efeito do Cu às raízes das forrageiras.....	76
4.5.2	Efeito do Cu à parte aérea das forrageiras.....	80
4.5.3	Efeito do Cu à massa seca das forrageiras.....	85
4.5.4	Concentração de Cu nas raízes, parte aérea e fator de translocação de Cu.....	90
4.6	CONCLUSÕES.....	94
4.7	REFERÊNCIAS.....	95
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	101
	REFERÊNCIAS.....	103

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, as pastagens representam a base da criação de animais ruminantes. Segundo o Instituto brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (2006), a área estimada de pastagens é de aproximadamente 158,7 milhões de hectares (ha), dos quais as forrageiras nativas abrangem cerca de 57,3 milhões de ha e o restante (101,4 milhões de ha) é ocupado por forrageiras cultivadas.

O cobre (Cu) é um elemento essencial às plantas. Nos cloroplastos, é constituinte da plastocianina, proteína que possui papel fundamental no transporte de elétrons entre o PSI e o PSII, na fase luminosa da fotossíntese. O Cu também é um constituinte da enzima Cu/Zn superóxido dismutase, a qual se localiza no estroma dos cloroplastos e os protege de espécies reativas de oxigênio gerados durante o estresse oxidativo derivado de reações fotossintéticas.

O Cu também pode desempenhar um papel significativo nas reações de carboxilação da fotossíntese, uma vez que está presente naturalmente na molécula da enzima ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (RuBisCO), a qual se envolve na fixação do CO₂ no ciclo de Calvin (STIBOROVÁ; DOUBRAVOVÁ; LEBLOVÁ, 1986). Também integra a enzima citocromo *c* oxidase, que é a oxidase terminal envolvida na cadeia de transporte de elétrons da respiração mitocondrial, a qual realiza a redução do O₂ a H₂O. Em nível celular, o Cu cumpre papel essencial na sinalização da transcrição e maquinaria de transporte de proteínas, fosforilação oxidativa e mobilização de Fe (YRUELA, 2009; TAIZ; ZIEGER, 2010).

Um suprimento reduzido de Cu às plantas reduz a produção da biomassa de raízes e parte aérea. Os efeitos da deficiência podem ser diretos ou indiretos. Eles afetam a fotossíntese, devido à redução no transporte de elétrons no fotossistema I (PSI) com a diminuição da síntese de plastocianina, e à redução na atividade do fotossistema (PSII), como resultado de alterações nas membranas dos tilacoides dos cloroplastos. A fotossíntese também é afetada pela redução no conteúdo de clorofilas e carotenoides e na síntese de plastoquinona (DROPPA, 1984). Além disso, a deficiência em Cu pode afetar a atividade de enzimas, uma vez que o elemento-traço está envolvido nos passos iniciais da assimilação de nitrato (NO₃) (HRISTOZKOVA et al. 2006). Sintomas típicos de deficiência aparecem primeiramente no ápice e, posteriormente, se estendem às margens das folhas jovens. As folhas podem ficar retorcidas ou malformadas e apresentar cloroses ou até mesmo necroses (YRUELA, 2009).

Em altas concentrações nas plantas, o Cu induz a peroxidação lipídica, a qual acelera a taxa de degradação de membranas e componentes celulares e inibe a taxa de restauração desses componentes, afetando a fotossíntese, respiração, síntese e atividade de enzimas e proteínas,

entre outros processos fisiológicos (CHEN; KAO, 1999; YRUELA, 2009). A fotossíntese é afetada pela redução do conteúdo de clorofitas e pela alteração da estrutura de cloroplastos e da composição das membranas tilacóides, as quais comprometem a conformação e a atividade fotoquímica do PSI e PSII (DROPPA, 1984). A redução da taxa fotossintética líquida pode residir também no efeito de concentrações tóxicas do Cu à atividade da RuBisCO (LIDON; HENRIQUES, 1991).

Os sintomas da fitotoxicidade são caracterizados pela necrose, encarquilhamento, engrossamento e redução do comprimento de raízes, além da inibição da formação de raízes secundárias. Na parte aérea, a toxicidade ao Cu é evidenciada pela redução do comprimento de caules e folhas, diminuição do número de folhas e área foliar, e do aparecimento de cloroses (MARSCHNER, 2012; ADREES et al., 2015; FEIGL et al., 2015). Os efeitos tóxicos do elemento-traço às raízes podem resultar em uma redução dramática da absorção de água e nutrientes, levando à inibição do crescimento e desenvolvimento das plantas (PANOU-FILOTHEOU; BOSABALIDIS, 2004).

Naturalmente, a concentração de Cu no solo varia entre 14 e 109 mg kg⁻¹, e a média mundial corresponde a 38,9 mg kg⁻¹. A regularidade na ocorrência indica que o material de origem e os processos de formação governam o status inicial de Cu no solo. Entretanto, várias fontes significativas como fertilizantes, lodo de esgoto, estercos, resíduos de subprodutos industriais e a qualidade das águas de irrigação tem contribuído para o aumento dos níveis de Cu em solos agrícolas. Níveis de Cu aumentados também são observados em solos em torno de minas de Cu e siderúrgicas (KABATA-PENDIAS, 2011).

O Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo através na resolução nº 420 (BRASIL, 2009). Esta resolução determina o valor de prevenção (VP), concentração limite de determinada substância no solo, tal que ele seja capaz de sustentar as suas funções principais, que para o Cu foi fixado em 60 mg kg⁻¹; e o valor de investigação (VI), concentração de determinada substância no solo acima da qual existem riscos potenciais, diretos ou indiretos, à saúde humana, que para o Cu, em solos agrícolas, foi fixado em 200 mg kg⁻¹.

A *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf desenvolve-se em condições ambientais adversas à maioria das espécies forrageiras (BARDUCCI, 2009). Devido à sua ampla adaptabilidade aos tipos de solos e climas, e à elevada produção de biomassa, desponta-se como uma das forrageiras mais utilizadas no Brasil (RAO; KERRIDGE; MACEDO, 1996).

Em trabalho desenvolvido por Borges et al. (2016), o qual visava avaliar os efeitos de duas doses de Cu no solo (0 e 200 mg kg⁻¹) em diferentes forrageiras do gênero *Brachiaria*,

verificaram que plantas de *Brachiaria brizantha* cvs. Marandu, Piatã e Xaraés (MG-5) desenvolvidas na dose de 200 mg kg⁻¹ não apresentaram redução da produção de massa seca de raízes e parte aérea em relação à dose 0 mg kg⁻¹. Dentre esses cultivares, o capim xaraés apresentou o melhor desempenho de produção de massa seca da parte aérea, quando desenvolvido na maior dose. Todavia, ainda se faz necessário compreender a tolerância do capim xaraés ao Cu, bem como definir doses críticas para o crescimento das plantas dessa forrageira. O estudo dos efeitos da toxicidade ao Cu também é essencial na identificação de outras gramíneas forrageiras tão promissoras quanto o capim xaraés.

Em revisão realizada por Kopittke et al. (2010), os autores encontraram 39 trabalhos em que plantas foram desenvolvidas em solução nutritiva, para os quais a fitotoxicidade foi encontrada em concentrações de Cu de 0,3 a 80 µmol L⁻¹. Desta maneira, a sensibilidade ao elemento-traço varia substancialmente conforme a espécie vegetal considerada, mesmo entre gramíneas forrageiras tropicais. Para o capim Urocloa, Kopittke et al. (2009b) verificaram redução da produção de massa fresca de 50% entre 1,0 e 1,2 µmol L⁻¹ de Cu na solução nutritiva. Para o sorgo, entretanto, Wei et al (2008) verificaram queda de 22% na produção de massa seca à 50 µmol L⁻¹ de Cu na solução nutritiva.

As gramíneas forrageiras se utilizam dos recursos morfogenéticos e estruturais, de forma funcional e guardando suas devidas magnitudes entre diferentes condições ambientais, para potencializar o fluxo de tecidos, independentemente do gênero ou da espécie (CRUZ et al., 2002). O nível de fertilidade do solo é uma das variáveis ambientais que podem alterar a morfogenética e crescimento das espécies forrageiras. Alterações na morfogênese de estruturas vegetais provocadas pelo Cu envolvem uma orientação ativa do crescimento de plantas (CRUZ et al., 2002; PASTERNAK et al., 2005).

O presente trabalho encontra-se estruturado em cinco partes. A primeira parte contém introdução geral, hipóteses e objetivo geral. Na segunda parte, são abordados os aspectos teóricos do trabalho. A terceira parte descreve as atividades realizadas no primeiro experimento, intitulado “Crescimento e nutrição mineral de *Brachiaria brizantha* cv. xaraés em Cambissolo Háplico contendo doses crescentes de cobre”, o qual teve por objetivo avaliar os efeitos da aplicação de doses de Cu sobre a disponibilidade do Cu no solo e o crescimento, as trocas gasosas nas folhas, a acumulação de nutrientes na parte aérea e a concentração de Cu nas plantas, com o intuito de calcular a dose crítica inferior (deficiência) (DCI) e a dose crítica superior (toxicidade) (DCS). A quarta parte descreve as atividades realizadas no segundo experimento, intitulado “Efeitos da toxicidade ao cobre a gramíneas forrageiras tropicais”, o qual teve por objetivo avaliar a toxicidade diferenciada do Cu a gramíneas forrageiras tropicais,

com o aumento dos níveis de Cu na solução nutritiva de 0,3 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$, considerando a morfogênese, crescimento e concentração de Cu de raízes e parte aérea das plantas. Para finalizar, o item Considerações Finais descreve aspectos práticos e recomendações, com base nos resultados dos experimentos, e aponta direções para pesquisas futuras.

1.1 HIPÓTESES

O aumento de doses de Cu aplicadas no solo provoca o aumento do crescimento de plantas de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés devido ao aumento da fotossíntese e acumulação de nutrientes na parte aérea, todavia, há um limite máximo a partir do qual o aumento das doses acarreta em prejuízo para essas variáveis, com redução do crescimento das plantas;

Gramíneas forrageiras tropicais apresentam respostas distintas à toxicidade ao Cu em função das alterações na morfogênese, crescimento e concentração do Cu nas plantas, quando há um aumento da concentração do elemento-traço na solução nutritiva.

1.2 OBJETIVO GERAL

Definir a dose critica inferior e superior de cobre plantas de capim xaraés e avaliar a toxicidade diferenciada do Cu a gramíneas forrageiras tropicais cultivadas em solução nutritiva.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 SOLO E CONTAMINAÇÃO COM ELEMENTOS-TRAÇO

O solo desempenha papel fundamental na sustentabilidade do ecossistema terrestre por servir de habitat para diversos organismos, manter a ciclagem da água e nutrientes e agir como filtro natural, tampão e meio de adsorção, degradação e transformação de substâncias químicas e resíduos orgânicos. No entanto, a função mais importante do solo é ser um aliado da produção agrícola, que é fundamental para a sobrevivência dos seres humanos. Assim, a manutenção das funções ecológicas e agrícolas dos solos é de responsabilidade da humanidade (KABATA-PENDIAS, 2011). A contaminação do solo por elementos-traço pode limitar o seu uso e comprometer a qualidade dos alimentos.

O termo ‘elemento-traço’ tem sido usado para definir metais catiônicos e oxiâniões presentes em baixas concentrações (usualmente $< 0,1 \text{ dag kg}^{-1}$) em solos e plantas (ESSINGTON, 2004). Este termo tem sido preferido em diversas publicações recentes que tratam desse assunto, em detrimento da expressão metal pesado, a qual nunca foi definida por nenhum órgão oficial na área de química (p.e., IUPAC).

Em condições naturais, os teores de elementos-traço no solo são baixos, e dependem do material de origem, do grau de intemperismo do solo e nível de desenvolvimento do solo (SILVA et al., 2016). No entanto, nos últimos anos, o crescimento populacional e o desenvolvimento de atividades econômicas têm contribuído para o aumento da concentração de elementos-traço nos solos, tornando a contaminação devido à ação humana a mais comum. As principais fontes antropogênicas de elementos-traço no solo são as emissões de indústrias e da mineração, disposição inadequada de resíduos com alta concentração de elementos-traço, uso de combustíveis fósseis e tintas, aplicação de fertilizantes, adubos de origem animal, lodos de esgoto, pesticidas, utilização de águas residuais para a irrigação, derramamento de produtos petroquímicos e a deposição atmosférica (WUANA; OKIEIMEN, 2011).

Os processos de acúmulo e transporte de elementos-traço no solo dependem, em grande parte, das suas interações com a fase sólida do sistema. Estas interações são bastante complexas, envolvendo reações de adsorção e dessorção, precipitação e dissolução, complexação e oxi-redução (HE; YANG; STOFFELLA, 2005). Entre os principais fatores que influenciam essas interações estão o pH, a textura e mineralogia da fração argila, teor e constituição da matéria orgânica, capacidade de troca de cátions (CTC) e o potencial de redução e oxidação do solo, bem como as propriedades dos elementos-traço (ALAMGIR, 2016).

Os elementos-traço associam-se a diversos componentes do solo, apresentando-se sob várias espécies químicas que regulam a solubilidade e mobilidade, assim como a sua disponibilidade aos sistemas biológicos. Consideram-se prontamente disponíveis os elementos-traço em formas solúveis, dissolvidos na solução do solo, ou na forma trocável, adsorvido às cargas do solo. Os elementos-traço precipitados, ocluídos e formando quelatos pouco solúveis com a matéria orgânica apresentam baixa ou nula disponibilidade (ALLOWAY, 2013).

2.2 O CU NO SOLO E EM PLANTAS

Elementos-traços podem estar presentes nos organismos sem qualquer função específica ou conhecida, tais como o cádmio (Cd), o chumbo (Pb) e o mercúrio (Hg), e são chamados de não-essenciais. Esses elementos podem ser tóxicos sob baixas concentrações. Entretanto, o Cu é um nutriente essencial, indispensável para o desenvolvimento de aproximadamente todas as plantas superiores e animais, por ser cofator de várias enzimas e constituinte de moléculas. Dessa forma, quando presente em teores abaixo do adequado, causa deficiência e pode influenciar negativamente o metabolismo dos organismos vivos. Todavia, é requerido em baixas concentrações que, ao serem superadas, podem causar problemas de toxicidade (DROPPA, 1984; CHEN; KAO, 1999; EPSTEIN; BLOOM, 2005).

2.2.1 O Cu no solo

A concentração inicial de Cu no solo depende do material de origem e dos processos de formação do solo. Entretanto, várias fontes significativas como fertilizantes, lodo de esgoto, estercos, resíduos de subprodutos industriais e a qualidade das águas de irrigação tem contribuído para o aumento dos níveis de Cu em solos agrícolas. Níveis de Cu aumentados também são observados em solos em torno de minas de Cu e siderúrgicas. Como o Cu é pouco móvel na maioria das condições de solo, conteúdos elevados podem persistirem por longos períodos (KABATA-PENDIAS, 2011).

O Cu possui grande habilidade em interagir com os componentes minerais e orgânicos do solo. Entretanto, é pouco móvel no solo devido à sua forte adsorção aos colóides orgânicos e inorgânicos. Ocorre nas formas cuprosa (Cu^+) e cúprica (Cu^{+2}), mas pode também ocorrer na forma metálica em alguns minerais (ABREU; LOPES; SANTOS, 2007).

Apesar da baixa mobilidade, é abundante nas soluções de todos os tipos de solos. Suas formas mais comuns na solução de solos ácidos são os quelatos orgânicos solúveis (RUTKOWSKA; SZULC; BOMZE, 2012).

Uma das interações mais relevantes do Cu no solo é a adsorção do elemento-traço às partículas sólidas, principalmente aos óxidos de ferro (Fe) e manganês (Mn), matéria orgânica, sulfetos e carbonatos. A adsorção específica parece desempenhar um papel mais importante do que a adsorção não-específica. Os óxidos de Mn e a matéria orgânica são mais propensos a se ligar ao Cu de forma não-trocável. A complexação à matéria orgânica nas formas de ácido húmico e fúlvico é um mecanismo eficaz de retenção do Cu nos solos. Dessa forma, a capacidade máxima de sorção do Cu de diferentes solos varia significativamente de acordo com as propriedades físicas e químicas das substâncias orgânicas (BRADL, 2004).

Entre os principais atributos que influenciam as interações do Cu com o solo estão o pH (SHAHEEN et al., 2015), o teor de matéria orgânica e de minerais do solo, incluindo óxidos de Fe, alumínio (Al) e Mn, óxidos, hidróxidos e carbonatos (COUTO et al., 2015; BRUNETTO et al., 2018;) a CTC e a composição da matéria orgânica (FERNÁNDEZ-CALVIÑO et al., 2010).

2.2.2 O Cu em plantas

O Cu é um metal de transição e um micronutriente essencial que se apresenta em concentrações muito pequenas em tecidos biológicos. Um nível ótimo de Cu é necessário para o crescimento e desenvolvimento normal das plantas devido ao seu envolvimento em numerosos processos vegetais. Esse nível ótimo, na massa seca da parte aérea, varia de 2-5 mg kg⁻¹ a 15-30 mg kg⁻¹, dependendo da espécie analisada (ADREES et al., 2015). Sendo constituinte de proteínas, o Cu é necessário para o funcionamento normal de mais de 30 enzimas, principalmente catalisando as reações redox. As proteínas constituídas por Cu mais abundantes em tecidos verdes são a plastocianina e a Cu/Zn superóxido dismutase (EPSTEIN; BLOOM, 2005). Grande parte do Cu nas plantas está presente nos cloroplastos, onde é principalmente associado a proteínas envolvidas na cadeia de transporte de elétrons (HÄNSCH; MENDEL, 2009). Uma característica importante do Cu²⁺ é a sua capacidade de se ligar a moléculas pequenas, tais como o O₂, como ligantes. Assim, o Cu é cofator de um grande número de oxidases (YRUELA, 2009). O Cu também pode desempenhar um papel significativo nas reações de carboxilação da fotossíntese, uma vez que está presente naturalmente na molécula da enzima RuBisCO, a qual se envolve na fixação do CO₂ no ciclo de Calvin (STIBOROVÁ; DOUBRAVOVÁ; LEBLOVÁ, 1986).

O sistema radicular das plantas desempenha um papel ativo na absorção de Cu a partir da solução do solo. Primeiramente, o Cu é adsorvido na superfície das raízes, onde se dissocia de suas formas complexas, antes da absorção pelas plantas (LIU et al., 2017). A parede celular

da superfície das raízes é formada por uma rede de celulose, pectinas e glicoproteínas que possuem cargas negativas que atraem o Cu por meio de ligações iônicas (PRINTZ et al., 2016). O Cu também se liga na parede celular da superfície das raízes através de reações não-iônicas de grupos de coordenação contendo fosfatases e peroxidases (MARSCHNER, 2012). O apoplasto das raízes é um importante compartimento de acumulação de elementos-traço nas plantas (MEYCHIK, 2016). A absorção de Cu propriamente dita nas células radiculares ocorre por meio de transporte passivo (não metabólico) e/ou ativo (metabólico) através de diferentes transportadores, tais como os das famílias COPT/Ctr e ZIP ou co-transportadores. (PRINTZ, 2016).

Após a absorção pelas raízes, o Cu é translocado para a parte aérea através do xilema e floema (ANDO et al., 2013). O carregamento no xilema ocorre principalmente através de duas rotas: apoplástica e simplástica. O transporte apoplástico do Cu ocorre através dos espaços intercelulares. A transferência de solutos de baixo peso molecular, tais como elementos-traço complexados ou livres, ocorre por difusão da solução do solo para os espaços intercelulares, antes de ser bloqueada pelas estrias de Caspary na endoderme. O transporte simplástico de Cu ocorre através da membrana plasmática celular com a ajuda de diferentes transportadores (MARSCHNER, 2012). Pouco se sabe como ocorre o carregamento do Cu no xilema. Deng et al. (2013) sugerem que a ATPase OshMA5, que está localizada no pericílio de raízes maduras e na região dos tecidos vasculares, está envolvida no transporte do Cu(I) das raízes à parte aérea. Durante esse processo, ocorre a reoxidação do Cu(I) à Cu(II) e a complexação a quelantes metálicos, permitindo o seu transporte à longas distâncias (RYAN et al., 2013). O transporte de Cu complexado é feito por membros da família YSL, uma subfamília da família de transportadores OPT (ZHENG et al., 2012). Metalotioneínas, metalochaperonas e transportadores da família COPT/Ctr são responsáveis pela remobilização e redistribuição do Cu nas plantas (MIRA; MARTÍNEZ-GARCÍA; PEÑARRUBIA, 2001; JUNG et al., 2012; WAN; SCHICHT; FREISINGER, 2013).

O Cu é moderadamente móvel nas plantas. A maior parte parece permanecer em raízes e folhas velhas até a senescência; apenas pequenas quantidades são transportadas para tecidos jovens (KABATA-PENDIAS, 2011). Nas raízes, grande parte do Cu está localizado na epiderme, sobretudo associado à parede celular e ligantes do grupo histidina, ou sequestrado nos vacúolos de células corticais adjacentes à endoderme (SHI et al., 2008; KOPITTKE et al., 2009b). Na parte aérea, o excesso de Cu é imobilizado por mecanismos eficientes de sequestro quelação (LANGE et al., 2016).

A concentração de Cu abaixo de 2-5 mg kg⁻¹ na parte aérea pode ocasionar uma redução severa no crescimento das plantas, quando os sintomas de deficiência se tornam evidentes (ADREES et al., 2015). Plantas deficientes de Cu apresentam alterações na expressão gênica e na ativação de mudanças morfológicas, tais como na arquitetura de raízes e folhas. O Cu é um nutriente de baixa mobilidade na planta. Assim, sintomas típicos de deficiência aparecem primeiramente no ápice e, posteriormente, se estendem às margens das folhas jovens. As folhas podem ficar retorcidas ou malformadas e apresentar cloroses ou até mesmo necroses (YRUELA, 2009).

O principal processo afetado pela deficiência de Cu nas plantas é a fotossíntese. Essa carência ocasiona redução no transporte de elétrons no PSI devido à diminuição da síntese de plastocianina. Uma redução na atividade do PSII também ocorre em cloroplastos deficientes em Cu, como resultado de alterações nas membranas dos tilacóides. Além da desintegração das membranas dos tilacóides dos cloroplastos, plantas deficientes em Cu apresentam redução no conteúdo de clorofilas e carotenoides e na síntese de plastoquinona (DROPPA, 1984).

Em muitas espécies, o crescimento das plantas é inibido quando a parte aérea apresenta concentração que varia de 15 a 30 mg kg⁻¹ de Cu na massa seca. Os sintomas da fitotoxicidade são caracterizados pela necrose, encarquilhamento, engrossamento e redução do comprimento de raízes, além da inibição da formação de raízes secundárias. Na parte aérea, a toxicidade ao Cu é evidenciada pela redução do comprimento de caules e folhas, diminuição do número de folhas e área foliar, e do aparecimento de cloroses (MARSCHNER, 2012; ADREES et al., 2015).

Como um elemento de transição ativa de oxirredução, o Cu tem a habilidade de induzir e iniciar a peroxidação lipídica através da produção de radicais de oxigênio, principalmente radicais hidroxila, através da reação de Fenton/Haber-Weiss, os quais danificam proteínas, ácidos nucléicos e lipídios nas células (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1984). O elemento-traço pode ainda iniciar diretamente a quebra oxidativa de lipídeos poli-insaturados. Esses efeitos podem ainda ser acentuados devido à redução da atividade da glutationa redutase induzida pelo estresse ao Cu, enzima responsável pela proteção dos cloroplastos contra o dano oxidativo. Dessa maneira, a peroxidação lipídica induzida ou provocada pelo Cu pode acelerar a taxa de degradação de membranas e componentes celulares e inibir a taxa de restauração desses componentes, afetando a fotossíntese, respiração, síntese e atividade de enzimas e proteínas e outros processos fisiológicos (CHEN; KAO, 1999; YRUELA, 2009; YRUELA, 2013).

A toxicidade do Cu à maquinaria fotossintética ocorre através da redução do conteúdo de clorofilas e da alteração da estrutura de cloroplastos e da composição das membranas tilacóides. Essas alterações comprometem a conformação e a atividade fotoquímica do PSI e PSII (YRUELA, 2013). A redução do conteúdo de clorofilas ocorre provavelmente como resultado da inibição induzida pelo Cu do ácido aminolevulínico desidrogenase (ALA-desidrogenase), uma enzima do ciclo da biossíntese das porfirinas (FERNANDES; HENRIQUES, 1991) e/ou pelo estímulo da peroxidação da clorofila pela indução da produção de radicais hidroxila (MARTINOIA; DALLING; MATILE, 1982). O Cu, em excesso nas plantas, pode induzir à deficiência de Fe, que inibe a síntese de protoclorofila (LIDON; HENRIQUES, 1992). Também pode substituir o magnésio (Mg) nas clorofilas do complexos-antena e dos centros de reação do PSI e PSII, danificando, assim, sua estrutura e função (KÜPPER; KRONECK, 2005). A redução da taxa fotossintética líquida pode residir também no efeito de concentrações tóxicas do Cu à atividade da RuBisCO (LIDON; HENRIQUES, 1991).

Os efeitos tóxicos do elemento-traço às raízes podem resultar em uma redução dramática da absorção de água e nutrientes, levando à inibição do crescimento e desenvolvimento das plantas (PANOU-FILOTHEOU; BOSABALIDIS, 2004).

Para o desenvolvimento ideal, as plantas devem manter não só uma quantidade adequada de Cu ativo nas células, mas também um equilíbrio com os demais nutrientes. Devido às funções significativas do Cu em enzimas e sua valência variável, os íons que têm afinidade semelhante ao Cu para proteínas e outros compostos podem ter inter-relações antagonistas. Muitas interações complexas de Cu com outros elementos são observadas nos tecidos das plantas e também na rizosfera, particularmente nos processos de absorção e transporte (KABATA-PENDIAS, 2011).

Em relação aos micronutrientes, Cu e zinco (Zn) são absorvidos pelas raízes pelo mesmo mecanismo e, portanto, cada um pode inibir competitivamente a absorção do outro (KABATA-PENDIAS, 2011). O Cu provoca a redução do Fe na parte aérea das plantas devido à competição entre esses micronutrientes metálicos pela nicotianamina, um quelante de metais em plantas superiores que está envolvido tanto no transporte de longa distância quanto dentro de células (TAKAHASHI et al., 2003). O antagonismo do Cu ao Mn é evidenciado pela redução da translocação do elemento das raízes às folhas (KOPITTKE et al., 2009b).

Considerando os macronutrientes, o Cu diminui a absorção de nitrogênio (N) mineral pelas raízes (LLORENS et al., 2000), e compete com o amônio (NH_4^+) por transportadores nas membranas, além de alterar a atividade de algumas enzimas como nitrito redutase, glutamina

sintase ou transferase, resultando na falta de determinados aminoácidos (SIEDLESKA, 1995). Grande parte do Cu nos tecidos vegetais está associado a fosfatos e oxalatos não dissolvidos, presentes na parede celular ou nos vacúolos (TINGTING et al., 2014). Dessa maneira, o aumento nos níveis do metal nas plantas pode provocar a elevação do fósforo (P) nos tecidos, atuando preventivamente na defesa dos efeitos nocivos do metal. O Cu atua no efluxo de potássio (K) no lado citossólico da membrana plasmática das células das raízes, afetando negativamente esse nutriente nas plantas (RODRIGO-MORENO et al., 2013). As interações de Cu-Ca (cálcio) são, geralmente, antagônicas, uma vez que os íons de Cu²⁺ tendem a deslocar os íons Ca²⁺ dos sítios de ligação, reduzindo assim a concentração de Ca nos tecidos vegetais (MATEOS-NARANJO et al., 2008). Como já citado anteriormente, o Cu tem efeito antagonista ao Mg, uma vez que este nutriente é substituído pelo Cu na molécula central da clorofila (KÜPPER; KRONECK, 2005).

Para evitar a toxicidade do Cu, as plantas possuem mecanismos primários de tolerância para manter a concentração correta em diferentes partes ativas da planta. A primeira estratégia de defesa é evitar o acúmulo de concentrações tóxicas em locais sensíveis dentro das células para prevenir os efeitos nocivos, em vez de desenvolver proteínas que possam resistir aos efeitos do elemento-traço (YRUELA, 2009). Esses mecanismos incluem: a redução da absorção através da ação de micorrizas ou de exsudatos extracelulares; a imobilização do excesso de Cu nas raízes; a exclusão do elemento-traço da parte aérea; o estímulo do efluxo do Cu do citoplasma para o meio externo das células através da membrana plasmática; a quelação do elemento-traço por fitoquelatinas, metalotioneínas, ácidos orgânicos ou proteínas; e a compartmentalização do Cu nos vacúolos celulares (HALL, 2002; KRÄMER; CLEMENS, 2006).

As plantas podem tolerar o excesso de Cu como espécies de Cu(I) ligadas ao enxofre (S), que se assemelham a proteínas ricas em glutationa/cisteína, tanto nas raízes quanto nas folhas das plantas (RYAN et al., 2013). Nas plantas, a glutationa (GSH) controla os níveis de espécies reativas ao oxigênio em diferentes compartimentos celulares, tais como citosol, cloroplasto, vacúolos, etc. (YADAV, 2010). A tolerância ao excesso de Cu também está envolvida com a modulação da composição da parede celular (COLZI et al., 2012), pelo aumento de proteínas nessas estruturas que se ligam ao Cu (AL-HAKIMI; HAMADA, 2011). A toxicidade ao Cu em plantas pode também aumentar a concentração de ânions orgânicos que podem complexar o Cu e reduzir sua toxicidade pela redução de íons de Cu livres (KELLER et al., 2015). Além disso, foi relatado que Cu foi ligado principalmente, em paredes celulares de

raízes, aos grupos carboxila e hidroxila de compostos ácidos polares, como celulose, hemicelulose e polissacarídeos (KANG et al., 2015).

Em condições de estresse por Cu em plantas, as atividades de enzimas antioxidantes que permitem o controle de espécies reativas ao oxigênio também aumentam, configurando um mecanismo de defesa contra a sua toxicidade (MORALES et al., 2012).

2.2.2.1 Efeito da exposição ao Cu a espécies gramíneas

As gramíneas apresentam características que as destacam como um grupo evoluído e diversificado de plantas. Têm importância fundamental do ponto de vista ecológico, ajudando na recuperação, proteção e revitalização do solo. Possuem desempenho fotossintético eficiente em diversas condições, são eficientes na produção e dispersão de diásporos, possuem sistema radicular fasciculado, além de produzirem estolões e rizomas. Apresentam rápido crescimento, diferentes níveis de exigência do solo, alta capacidade de perfilhamento e cobertura do solo, sistema radicular que proporciona alto suporte mecânico para o solo, além da grande produção de biomassa. (PEREIRA, 2006).

Todavia, genótipos diferentes podem apresentar respostas distintas em relação à exposição ao Cu, mesmo que os meios de crescimento apresentem condições idênticas. Dessa forma, espécies gramíneas podem apresentar maior ou menor grau de sensibilidade ao elemento-traço (KOPITTKE et al., 2009a).

Plenderleith e Bell (1990) estudaram os efeitos do Cu em 12 gramíneas forrageiras desenvolvidas em solo arenoso com doses crescentes de 0 a 600 mg kg⁻¹ (fonte: CuSO₄). Até a dose de 50 mg kg⁻¹ do elemento-traço no solo, o capim de Rhodes, Buffel, Guiné, macaricam, decumbens, Urocloa, indiano, jaraguazão, chorão, a grama bermuda e o milheto apresentaram redução na massa seca da parte aérea das plantas inferior a 35%. Quando a dose subiu para 95 mg kg⁻¹, apenas o capim de Rhodes, Urocloa e indiano, e o milheto, apresentaram redução inferior a 50%.

No trabalho de Vassilev et al. (2002), no qual foi avaliado os efeitos do Cu em plantas de cevada cultivadas em areia com doses crescentes do elemento-traço, de 0 a 15 mg kg⁻¹ (fonte: CuSO₄), foram verificadas reduções significativas na massa seca das plantas equivalentes a 50% nas raízes e 33% na parte aérea, para a dose de 15 mg kg⁻¹.

Em trabalho desenvolvido por Borges et al. (2016), o qual visava avaliar os efeitos de duas doses de Cu no solo (0 e 200 mg kg⁻¹; fonte: Cu(NO₃)₂) em diferentes gramíneas das espécies *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf. e *Brachiaria decumbens* Stapf., a *B.*

brizantha cvs. MG-5, Piatã e a *B. decumbens* não apresentaram redução da massa seca de raízes e parte aérea, quando desenvolvidas na dose de 200 mg kg⁻¹, em relação à dose de 0 mg kg⁻¹; a *B. brizantha* cv. Marandu também não apresentou redução para a massa seca de raízes; entretanto, inclusive, para a parte aérea, houve um aumento de 84%.

Ali, Bernal e Ater (2002), verificando os efeitos do Cu em plantas de *Phragmites australis* (Cav.) Trin ex. Steud. e milho cultivadas em solução nutritiva com doses crescentes do elemento-traço de 0,5 a 157 µmol L⁻¹ (fonte: CuSO₄), observaram reduções significativas na massa fresca nas doses de 78,7 e 7,85 µmol L⁻¹ para *Phragmites australis* e para o milho, respectivamente.

Em plantas de capim de Rhodes desenvolvidas em solução nutritiva com doses crescentes de Cu de 0,10 a 2,06 µmol L⁻¹ (fonte: resina saturada com Cu), Sheldon e Menzies (2005) encontraram doses críticas (redução de massa seca de 10%) entre 0,6 a 1,1 µmol L⁻¹ de Cu na solução nutritiva.

Plantas de sorgo desenvolvidas em solução nutritiva com Cu de 0,32 a 50 µmol L⁻¹, (fonte: CuSO₄) tiveram redução de aproximadamente 20 e 25% na massa seca da parte aérea e raízes, respectivamente, na maior dose, comparativamente à dose de 0,32 µmol L⁻¹ (WEI et al., 2008).

Em plantas de capim Urocloa desenvolvidas em solução nutritiva contaminada com doses crescentes de Cu (0,12 a 2,30 µmol L⁻¹, fonte: CuCl₂), Kopittke et al. (2009b) encontraram redução de 50% na massa fresca das plantas quando a atividade de Cu na solução atingiu 1,0 e 1,2 µM, respectivamente para raízes e parte aérea.

Kopittke et al. (2009a), verificando a tolerância de gramíneas ao Cu quando cultivadas em areia com a adição de solução nutritiva com o elemento-traço (0 a 11 µmol L⁻¹; fonte: CuCl₂), encontraram doses críticas (redução de 50% da massa seca da parte aérea) na dose de 1,7 µmol L⁻¹ para *Dichanthium sericeum* (R.Br.) A. Camus; 2,4 µmol L⁻¹, para *Astrebla lappacea* (Lindl.) Domin; 2,8 µmol L⁻¹ para capim decumbens; 4,4 µmol L⁻¹ para capim de Rhodes; 4,5 µmol L⁻¹ para *Austrodanthonia richardsonii* cv. Hume; 5,7 µmol L⁻¹ para *Themeda australis* Forssk.; e 10 µmol L⁻¹ para capim Urochloa.

Em estudo de Keller et al. (2015) visando avaliar os efeitos do Cu em plantas de trigo duro cultivadas em solução nutritiva com o elemento-traço em concentrações de 0 a 7,65 µmol L⁻¹ de Cu (fonte: CuSO₄), não foi encontrada redução significativa da biomassa durante todo o intervalo de doses avaliado. Todavia, os autores verificaram redução do comprimento de raízes a partir da dose de 1,79 µmol L⁻¹.

2.3 CARACTERÍSTICAS DAS GRAMÍNEAS UTILIZADAS NOS EXPERIMENTOS

A *Brachiaria brizantha* desenvolve-se em condições ambientais adversas à maioria das espécies forrageiras (BARDUCCI, 2009). Devido à sua ampla adaptabilidade aos tipos de solos e climas, e à elevada produção de biomassa, desonta-se como uma das forrageiras mais utilizadas no Brasil (RAO; KERRIDGE; MACEDO, 1996).

A *Brachiaria humidicola* é pouco exigente em solos e demora mais tempo para cobrir o solo, com baixo crescimento no período de estiagem, no entanto é tão produtiva quanto as outras braquiárias (PEREIRA, 2006).

Plantas de *Cynodon dactylon* toleram ampla faixa de textura e pH, baixa fertilidade e encharcamento do solo, e possuem elevada produção de biomassa (CTAHR, 2011).

Axonopus catharinensis, ou grama missioneira gigante, possui alta resistência ao frio e ao pisoteio, à seca e ao excesso de umidade, com alta cobertura do solo, e moderada produção de biomassa (DUFLOTH, 2002).

A *Hemarthria altissima* é uma gramínea tolerante a ambientes mal drenados e ao frio, com moderada produção de massa seca. Pode se desenvolver em condições de baixo pH; no entanto necessita adubação. Destaca-se por apresentar ampla capacidade adaptativa e boa cobertura do solo (QUESENBERRY, 1993).

O *Paspalum notatum* é uma gramínea forrageira comumente empregada em solos arenosos, de baixa fertilidade e de alta saturação de Al, tolerante à seca e inundações esporádicas, também com produção de massa seca moderada (NEWMAN; VENDRAMINI; BLOUNT, 2011).

Plantas de *Panicum maximum* são altamente produtivas, porém adaptadas a solos profundos, bem drenados e de boa fertilidade (HERLING; BRAGA; LUZ, 2000).

3 CRESCIMENTO E NUTRIÇÃO MINERAL DE *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés EM CAMBISSOLO HÁPLICO CONTENDO DOSES CRESCENTES DE COBRE

3.1 RESUMO

As atividades antrópicas têm aumentado os teores de Cu nos solos. A *Brachiaria brizantha* (Hochst.) Stapf. desenvolve-se bem em condições ambientais adversas à maioria das plantas forrageiras, sendo uma das espécies mais cultivadas para pastagem no Brasil. No entanto, ainda são necessárias maiores informações a respeito dos efeitos do Cu à essa espécie. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de doses de Cu em cambissolo háplico a plantas de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés (capim xaraés), considerando a disponibilidade de Cu, crescimento, trocas gasosas, acumulação de nutrientes e concentração de Cu nas plantas, com o intuito de calcular a dose crítica inferior (deficiência) e a dose crítica superior (toxicidade). Um experimento foi conduzido em casa de vegetação com unidades experimentais que se constituíram de plantas de capim xaraés cultivadas em vasos com solo com doses crescentes de Cu (0, 30, 60, 120 e 200 mg kg⁻¹), em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Antes do cultivo das plantas, foi determinada a disponibilidade de Cu no solo. Aos 41 dias de crescimento, foram avaliadas as trocas gasosas, o índice SPAD e a altura estendida das plantas, e após a colheita, a área foliar e a massa seca de raízes, colmos, folhas e total. De posse desses dados foram calculados a área foliar específica, a relação raiz:parte aérea e a relação folha:colmo. Seguidamente, foram determinadas a concentração de Cu nas raízes e parte aérea e de nutrientes na parte aérea, bem como calculados a acumulação de nutrientes na parte aérea e o fator de translocação do Cu nas plantas. O aumento das doses de Cu aplicadas no solo aumentou linearmente a disponibilidade de Cu às plantas. Esse aumento provocou o aumento do crescimento das plantas até doses estimadas que variaram de 65,07 a 106,92 mg kg⁻¹, e a redução, em doses superiores. Aumentou a taxa fotossintética líquida, taxa de transpiração e condutância estomática até doses estimadas que variaram de 75,12 a 84,25 mg kg⁻¹, com redução para as doses superiores. Aumentou a acumulação de nutrientes na parte aérea das plantas até doses estimadas que variaram de 75,12 a 84,25 mg kg⁻¹, com redução para as doses superiores. Houve aumento exponencial da concentração de Cu nas raízes. Apesar do aumento de Cu na parte aérea, os valores não superam 12,70 mg kg⁻¹. Houve redução exponencial do fator de translocação. Plantas de capim xaraés cultivadas em cambissolo háplico com doses crescentes de Cu, tem como dose crítica inferior 62,60 mg kg⁻¹, e dose crítica superior, 128,92 mg kg⁻¹.

Palavras-chave: Elementos-traço. Nutrição de plantas. Gramíneas forrageiras.

**GROWTH AND MINERAL NUTRITION OF *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés IN
TYPIC DYSTRUDEPTS WITH COPPER INCREASING DOSES**

3.2 ABSTRACT

Anthropogenic activities have increased the levels of copper (Cu) in soils. *Brachiaria brizantha* (Hochst.) Stapf. develops well under adverse environmental conditions to most forage plants, being one of the most cultivated species for grazing in Brazil. However, further information is needed about the effects of copper (Cu) to this species. The objective of this work was to evaluate the effects of the application of Cu doses in Typic Dystrudepts to plants of *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés (xaraés grass), considering Cu availability, growth, gas exchange, nutrient accumulation and Cu concentration in plants, with the aim of to calculate the lower critical dose (deficiency) and the higher critical dose (toxicity). An experiment was carried out in greenhouse with experimental units consisting of xaraés grass plants cultivated in pots with soil containing increasing doses of Cu (0, 30, 60, 120 and 200 mg kg⁻¹) in completely randomized design, with four replicates. Before plant cultivation, the availability of Cu in the soil was determined. At 41 days of growth, gas exchange, SPAD index and plant height were evaluated, and after harvest, leaf area and dry mass of roots, culms, leaves and total were measured. With these data, the specific leaf area, the root:shoot ratio and leaf:stem ratio were calculated. The concentration of Cu in the roots and shoots and the concentration of nutrients in the shoots were determined, and the accumulation of nutrients in shoots and the translocation factor of Cu in the plants were calculated. The increasing doses of Cu applied to the soil resulted in linear increase of Cu availability to the plants. This increase resulted in increase to plant growth until estimated doses that varied from 65.07 to 106.92 mg kg⁻¹, and decrease at higher doses. There was increase of net photosynthetic rate, transpiration rate and stomatal conductance until estimated doses that varied from 75.12 to 84.25 mg kg⁻¹, with reduction at higher doses. There was increase of nutrient accumulation in shoots until estimated doses that varied from 75.12 to 84.25 mg kg⁻¹, and reduction at higher doses. There was exponential increase in the Cu concentration in the roots. Despite the increase of Cu in the aerial part, the values do not exceed 12.70 mg kg⁻¹. There was exponential decrease of the translocation factor. Plants of xaraés grass cultivated in Typic Dystrudepts with increasing doses of Cu have a minimum critical dose of 62.60 mg kg⁻¹ and a maximum critical dose of 128.92 mg kg⁻¹.

Keywords: Trace elements. Nutrition of plants. Forage grasses.

3.3 INTRODUÇÃO

Os teores originais de cobre (Cu) no solo dependem do material de origem e dos processos de formação do solo. Entretanto, a aplicação de fertilizantes, lodos de esgoto, estercos, resíduos de subprodutos industriais e a qualidade das águas de irrigação tem contribuído para o aumento dos níveis de Cu em solos agrícolas. Altos teores do elemento-traço também são observados em solos do entorno de minas e siderúrgicas. Como o Cu é pouco móvel na maioria das condições de solo, concentrações elevadas podem persistirem por longos períodos (KABATA-PENDIAS, 2011).

O Cu é um elemento essencial às plantas por estar envolvido em muitos processos fisiológicos. Participa do transporte de elétrons na fotossíntese e respiração mitocondrial, uma vez que é constituinte da plastocianina e da enzima citocromo *c* oxidase, das reações de carboxilação da fotossíntese, através da associação à RuBisCO, e com respostas ao estresse oxidativo, por integrar a enzima Cu/Zn superóxido dismutase (STIBOROVÁ; DOUBRAVOVÁ; LEBLOVÁ, 1986; EPSTEIN; BLOOM, 2005; HÄNSCH; MENDEL, 2009; TAIZ; ZIEGER, 2010). Também tem papel fundamental no metabolismo da parede celular e na sinalização hormonal. Em nível celular, desenvolve funções essenciais na sinalização da transcrição de proteínas, fosforilação oxidativa e mobilização de Fe (YRUELA, 2009).

Concentrações ótimas de Cu, na massa seca da parte aérea, podem variar de 2-5 a 15-30 mg kg⁻¹, dependendo da espécie analisada (MAHMOOD; ISLAM, 2006; AZOOZ et al., 2012; ADREES et al., 2015).

O principal processo afetado pela deficiência de Cu nas plantas é a fotossíntese, devido à redução no transporte de elétrons no PSI, com à diminuição da síntese de plastocianina. Uma redução na atividade do PSII também ocorre em cloroplastos deficientes em Cu, como resultado de alterações nas membranas dos tilacóides. Além da desintegração das membranas dos tilacóides dos cloroplastos, plantas deficientes em Cu apresentam redução no conteúdo de clorofilas e carotenoides e na síntese de plastoquinona (DROPPA, 1984). Sintomas típicos de deficiência aparecem primeiramente no ápice e, posteriormente, se estendem às margens das folhas jovens. As folhas podem ficar retorcidas ou malformadas e apresentar cloroses ou até mesmo necroses (YRUELA, 2009).

Sob concentrações tóxicas nas plantas, o Cu induz a peroxidação lipídica, a qual acelera a taxa de degradação de membranas e componentes celulares e inibe a taxa de restauração desses componentes, afetando a fotossíntese, respiração, síntese e atividade de enzimas e proteínas, entre outros processos fisiológicos (CHEN; KAO, 1999; YRUELA, 2009; YRUELA,

2013). A fotossíntese é afetada pela redução do conteúdo de clorofila e pela alteração da estrutura de cloroplastos e da composição das membranas tilacóides, as quais comprometem a conformação e a atividade fotoquímica do PSI e PSII (DROPPA, 1984). Os sintomas da fitotoxicidade são caracterizados pela necrose, encarquilhamento, engrossamento e redução do comprimento de raízes, além da inibição da formação de raízes secundárias. Na parte aérea, a toxicidade ao Cu é evidenciada pela redução do comprimento de caules e folhas, diminuição do número de folhas e área foliar, e do aparecimento de cloroses (MARSCHNER, 2012; ADREES et al., 2015; FEIGL et al., 2015). Os efeitos tóxicos do elemento-traço às raízes podem resultar em uma redução dramática da absorção de água e nutrientes, levando à inibição do crescimento e desenvolvimento das plantas (PANOU-FILOTHEOU; BOSABALIDIS, 2004).

Para o desenvolvimento ideal, as plantas devem manter não só uma quantidade adequada de Cu ativo nas células, mas também um equilíbrio com os demais nutrientes. Devido às funções significativas do Cu em enzimas e sua valência variável, os íons que têm afinidade semelhante ao Cu para proteínas e outros compostos podem ter inter-relações antagonistas. Muitas interações complexas de Cu com outros elementos são observadas nos tecidos das plantas e também na rizosfera, particularmente nos processos de absorção e transporte (KÜPPER; KRONECK, 2005; MATEOS-NARANJO et al., 2008; KOPITTKE et al., 2009 KABATA-PENDIAS, 2011).

A *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf apresenta elevada produção de biomassa, sistema radicular vigoroso e profundo, elevada tolerância à deficiência hídrica e absorção de nutrientes em camadas mais profundas do solo. Desenvolve-se em condições ambientais adversas à maioria das culturas utilizadas para pastagem e cobertura do solo. É indicada para solos de média a alta fertilidade, no entanto é adaptada a solos ácidos e de baixa fertilidade natural, dado sua rusticidade (BOTREL et al., 1999; BARDUCCI, 2009). Devido a essas características, é uma das espécies de gramíneas forrageiras mais comumente cultivadas em países de clima tropical, inclusive o Brasil (RAO; KERRIDGE; MACEDO, 1996).

Borges et al. (2016), avaliando os efeitos de duas doses de Cu no solo (0 e 200 mg kg⁻¹) em forrageiras do gênero *Brachiaria*, verificaram que plantas de *Brachiaria brizantha* cvs. Marandu, Piatã e Xaraés (MG-5) desenvolvidas na dose de 200 mg kg⁻¹ não apresentaram redução da produção de massa seca de raízes e parte aérea em relação à dose 0 mg kg⁻¹. Dentre esses cultivares, o capim xaraés apresentou o melhor desempenho de produção de massa seca da parte aérea, quando desenvolvido na maior dose. Ainda assim, são necessárias maiores informações a respeito dos efeitos da aplicação de doses de Cu no solo dentro da faixa avaliada naquele trabalho às plantas de capim xaraés.

Dessa maneira, este trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da aplicação de doses de Cu em Cambissolo Háplico ao capim xaraés, considerando a disponibilidade do Cu no solo e o crescimento, as trocas gasosas nas folhas, a acumulação de nutrientes na parte aérea e a concentração de Cu nas plantas, a fim de calcular a dose crítica inferior (deficiência) e a dose crítica superior (toxicidade).

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento em vasos com solo foi conduzido entre os meses de fevereiro e março de 2015, em casa de vegetação em Lages, SC ($27^{\circ}48'58"S$ e $50^{\circ}19'34"O$). O solo foi coletado com o auxílio de pá-de-corte, em perfil de 0 a 20 cm de um Cambissolo Háplico (EMBRAPA, 2013), em ambiente de vegetação de Campos, no mesmo município. O material de origem foi caracterizado como produto da alteração de rocha efusiva do tipo riocacito. Posteriormente, o solo foi seco em estufa com circulação de ar forçada à 65°C por 48h, destorrado, moído, homogeneizado e tamisado em peneira de 2 mm.

Amostras de solo foram tomadas para a determinação das características físico-químicas, as quais seguem: pH em água de 4,5; CTC em pH 7,0 de $15,18 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; teores de Al, Ca e Mg trocáveis de 7,72; 3,31 e $1,04 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$, respectivamente; teores de K trocável e P disponível de 52 e $0,6 \text{ mg dm}^{-3}$; teor de Cu disponível de $2,53 \text{ mg dm}^{-3}$; e teor de matéria orgânica de $24,7 \text{ dag kg}^{-1}$, em que as análises e determinações foram procedidas de acordo com Tedesco et al., 1995. O Cu total foi determinado de acordo com a ISO11047/1998(E) (1998), resultando em $12,37 \text{ mg kg}^{-1}$. A argila, silte e areia, com 205,00, 87,41 e $707,59 \text{ g kg}^{-1}$, respectivamente, foram obtidos através do método do densímetro (EMBRAPA, 1997).

Esse solo foi selecionado por apresentar alto teor de areia e baixos teores de argilas não silicatadas e de matéria orgânica, características que, associadas ao baixo pH natural, proporcionam alta disponibilidade de Cu às plantas (KABATA-PENDIAS, 2011).

O solo foi adubado para correção total de N, P e K, de acordo com os níveis de fertilidade adequados para o cultivo de gramíneas de estação quente, com as doses de 200 kg ha^{-1} de N, 120 kg ha^{-1} de P_2O_5 e 100 kg ha^{-1} de K_2O (CQFS-RS/SC, 2004). Não foi procedida a correção do pH.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, e os tratamentos se consistiram da aplicação de doses crescentes de Cu (0, 30, 60, 120 e 200 mg kg^{-1}) adicionadas ao substrato, cada qual com 4 repetições. Essas doses foram definidas com base nos valores de orientadores de qualidade do solo para o Cu: 60 mg kg^{-1} representa o valor de

prevenção, e 200 mg kg⁻¹ representa o valor de investigação, concentração máxima permitida para solos agrícolas, estabelecidos pelo CONAMA (BRASIL, 2009). A contaminação foi procedida através de soluções de nitrato de Cu [Cu(NO₃)₂]. A aplicação de nitrato de Cu para as doses de Cu 0, 30, 60, 120 e 200 mg kg⁻¹ equivale a um acréscimo de 25, 50, 100 e 170 kg ha⁻¹ de N no solo, respectivamente. Subsequentemente, o solo foi mantido incubado com umidade na capacidade de campo (CC), até a estabilização do pH, que ocorreu em 4,3.

Em cada unidade experimental, constituída por 0,5 kg de solo em vaso, foram semeadas 10 sementes comerciais não tratadas. O desbaste foi realizado após 10 dias da semeadura, deixando-se 5 plantas em cada vaso. A partir da semeadura, as plantas cresceram por 42 dias (ver Figura 1), período em que a umidade do solo foi mantida em CC, e a temperatura entre 15 e 25 °C e a umidade do ar entre 70 e 95%, controladas por sistema automatizado, sob condições naturais de fotoperíodo e intensidade luminosa. A aleatorização dos vasos foi procedida a cada 5 dias.

Figura 1 - Plantas de capim xaraés desenvolvidas em solo com doses crescentes de Cu após 42 dias da semeadura.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2015.

Antes do cultivo das plantas, foi determinado a concentração de Cu disponível no solo, de acordo com Tedesco et al. (1995), em que a extração foi procedida com HCl 0,1 mol L⁻¹, e

a análise realizada através de espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua, com atomização em chama ar-acetileno (HR CS FAAS) (ContrAA 700; Analytyc Jena, Jena, Alemanha).

Aos 41 dias de crescimento, foram mensurados parâmetros relacionados às trocas gasosas das plantas. Para tanto, amostrou-se a folha mais jovem completamente expandida em cada repetição por tratamento. Para as trocas gasosas, a taxa fotossintética líquida das plantas (A), a taxa de transpiração (E), a condutância estomática (gs) e a concentração de CO₂ intercelular (Ci) foram determinadas através de um analisador de gases por infravermelho portátil (LI-6400XT Portable Photosynthesis and Fluorescence System; LICOR, Lincoln, EUA) equipado com uma câmara foliar com fonte de LED (6400-02b). Tais determinações foram obtidas sob densidade de fluxo de fôtons fotossinteticamente ativos (DFFFA) de 1.000 μmol de fôtons m⁻² s⁻¹, temperatura foliar de 25 °C, e concentração constante de 380 ± 5 μmol de CO₂ na câmara de amostra, provida por um tampão de volume, entre às 9 e 10 horas da manhã.

Ao término do cultivo, foram tomadas medidas do índice SPAD das folhas, através de um clorofilômetro portátil (SPAD 502; Konica Minolta®, Tóquio, Japão). Esta variável é altamente correlacionada com o teor de clorofila das folhas: valores próximos de 0 (zero) indicam baixa concentração, e próximos de 100 indicam alta concentração de clorofilas. As medidas foram realizadas no terço inferior, médio e superior das folhas totalmente expandidas, em 9 folhas de cada unidade experimental, no período entre às 9 e 10 horas da manhã. Nesta ocasião, também foram tomadas medidas da altura estendida das plantas (base do colmo ao ápice da maior folha).

As plantas foram colhidas, lavadas em água deionizada e divididas em folhas, colmos e raízes. A área foliar (AF) foi determinada através de integrador de área foliar (LI-3050A; LICOR, Lincoln, EUA), tendo sido utilizadas todas as folhas para esta análise. A parte aérea e raízes das plantas foram então secas em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C durante 72 horas. Em balança de precisão (0,0001 g), foi determinada a massa seca de raízes (MSR), colmos (MSC) e folhas (MSF). O material seco em estufa foi processado em moinho tipo Wiley e tamisado em peneira de malha de 20 mesh, sendo posteriormente armazenado em frascos plásticos vedados.

Os dados de massa seca e área foliar foram utilizados para obtenção da área foliar específica (AFE), relação raiz:parte aérea (RRPa) e relação folha:colmo (RFC), de acordo com as equações (1), (2) e (3), respectivamente:

$$AFE = AF / MSF \quad (1)$$

$$\text{RRPa} = \text{MSR} / (\text{MSC} + \text{MSF}) \quad (2)$$

$$\text{RFC} = \text{MSF} / \text{MSC} \quad (3)$$

Para quantificar a concentração de Cu nas raízes e parte aérea das plantas, procedeu-se a abertura das amostras através de digestão ácida assistida por forno micro-ondas, segundo o método 3052 da United States Environmental Protection Agency – USEPA (1996). As amostras se constituíram de 0,25 g (precisão de 0,0001) de matéria seca dos tecidos vegetais, as quais foram transferidas para frascos de digestão de perfluoroalcoxi, onde foram adicionados 9 mL de ácido nítrico concentrado (65%).

Logo após, os tubos foram inseridos em invólucros de pressão de poliéster-éter-cetona. A abertura das amostras foi procedida em forno microondas Multiwave 3000 (Anton Paar, Graz, Áustria) por 30 minutos, à temperatura de 180 °C, com compensação da pressão até 20 Bar. Após o resfriamento, o material foi filtrado em papel filtro quantitativo de 0,00014 g, e os tubos e filtros foram lavados com 10 mL de água ultra-pura. O material resultante da filtragem foi diluído a 15 mL e armazenados em tubos tipo *falcon*. A determinação da concentração de Cu foi realizada através de HR-CS FAAS (ContrAA 700; Analytyc Jena, Jena, Alemanha).

A quantificação foi realizada em triplicata. Foram utilizadas oito provas em branco para a determinação do limite de detecção do instrumento, o qual correspondeu a 0,02 mg L⁻¹, para as três triplicatas. A confiabilidade do método analítico empregado para a determinação da concentração de Cu nas plantas foi definida em 100±5%, utilizando-se como referência a amostra SRM 1573a (folhas de tomate), certificada pela National Institute of Standards and Technology (NIST). Os valores recuperados da amostra referência encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 - Valores recuperados pelo método utilizado na determinação da concentração de Cu nas amostras de tecido vegetal das plantas de capim xaraés.

Amostra	Triplicata	Valor certificado (mg kg ⁻¹)	Valor recuperado (mg kg ⁻¹)	Recuperação (%)
SRM 1573a	1	4,70	4,89	104,04
	2	4,70	4,84	102,98
	3	4,70	4,75	101,06

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

Uma vez que a lavagem com água deionizada não remove o Cu adsorvido às raízes, a concentração do elemento-traço determinada inclui tanto a fração absorvida quanto a fração adsorvida à superfície dessa estrutura.

Com as concentrações de Cu nas raízes e parte aérea, foram calculados os fatores de translocação (FT) para o elemento-traço entre essas estruturas, de acordo com a equação (4):

$$FT = \text{Concentração de Cu na parte aérea} / \text{Concentração de Cu nas raízes} \quad (4)$$

Na parte aérea, também foi avaliada a acumulação de Ca, K, Mg, N e P, em que a abertura das amostras foi realizada através da digestão por ácido sulfúrico (H_2SO_4) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) com mistura de digestão, descrita por Tedesco et al. (1995). A concentração de Ca e Mg foi determinadas por HR CS FAAS; a concentração de K foi determinada por espectrofotômetro de emissão de chama (F AES) (DM-62; Digimed, Campo Grande) e a concentração de N foi determinada em destilador micro-Kjeldahl (MA036; Marconi, Piracicaba) seguindo as metodologias de determinação descritas por Tedesco et al. (1995). Para o P, a digestão seguiu da mesma maneira como a descrita acima, no entanto a determinação da concentração foi obtida por espectrofotômetro de absorção molecular (UV Vis) (SPEKOL® 1300; Analytik Jena, Jena, Alemanha), seguindo a metodologia descrita por Murphy e Riley (1962). Ademais, foram avaliados, na parte aérea das plantas, as acumulações de Fe, Mn e Zn, em que a digestão seguiu a mesma metodologia descrita para o Cu, e a determinação da concentração foi realizada por HR CS FAAS. A acumulação de cada nutriente na parte aérea das plantas foi calculada de acordo com a equação 5:

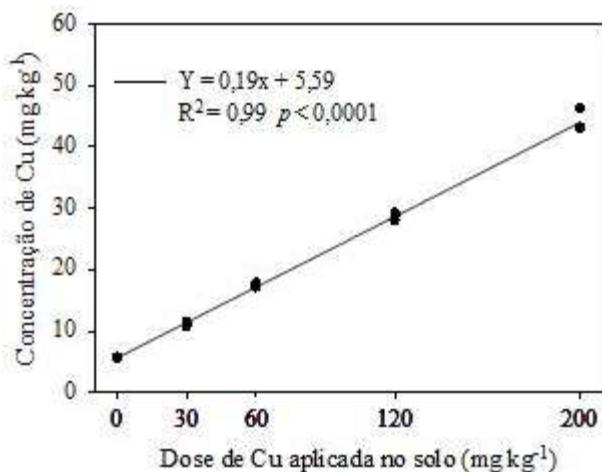
$$\text{Acumulação do nutriente} = \text{Concentração do nutriente na parte aérea} \times (\text{MSC} + \text{MSF}) \quad (5)$$

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk, ao teste de homogeneidade das variâncias de Bartlett e à análise de variância. A seguir, foram ajustadas equações de regressão entre as doses de Cu aplicadas no solo e as variáveis analisadas, com o auxílio do programa Sigma Plot (2011), considerando-se $p < 0,05$.

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de Cu disponível foi afetado significativamente pela aplicação de doses de Cu no solo (ver Figura 2). Houve aumento linear entre as doses de 0 e 200 mg kg⁻¹, correspondendo a 5,60 e 43,82 mg kg⁻¹, 32 e 54% do Cu total no solo (teores originais + dose de Cu aplicada) respectivamente para essas doses, revelando alta proporção do elemento-traço ligado à fração disponível de Cu do solo (ver Figura 2). Em solos ácidos de vinhedo, com horizontes superficiais arenosos e histórico de aplicação de defensivos químicos à base de Cu, Brunetto et al. (2018) encontraram valores de Cu disponível no solo em torno de 72%.

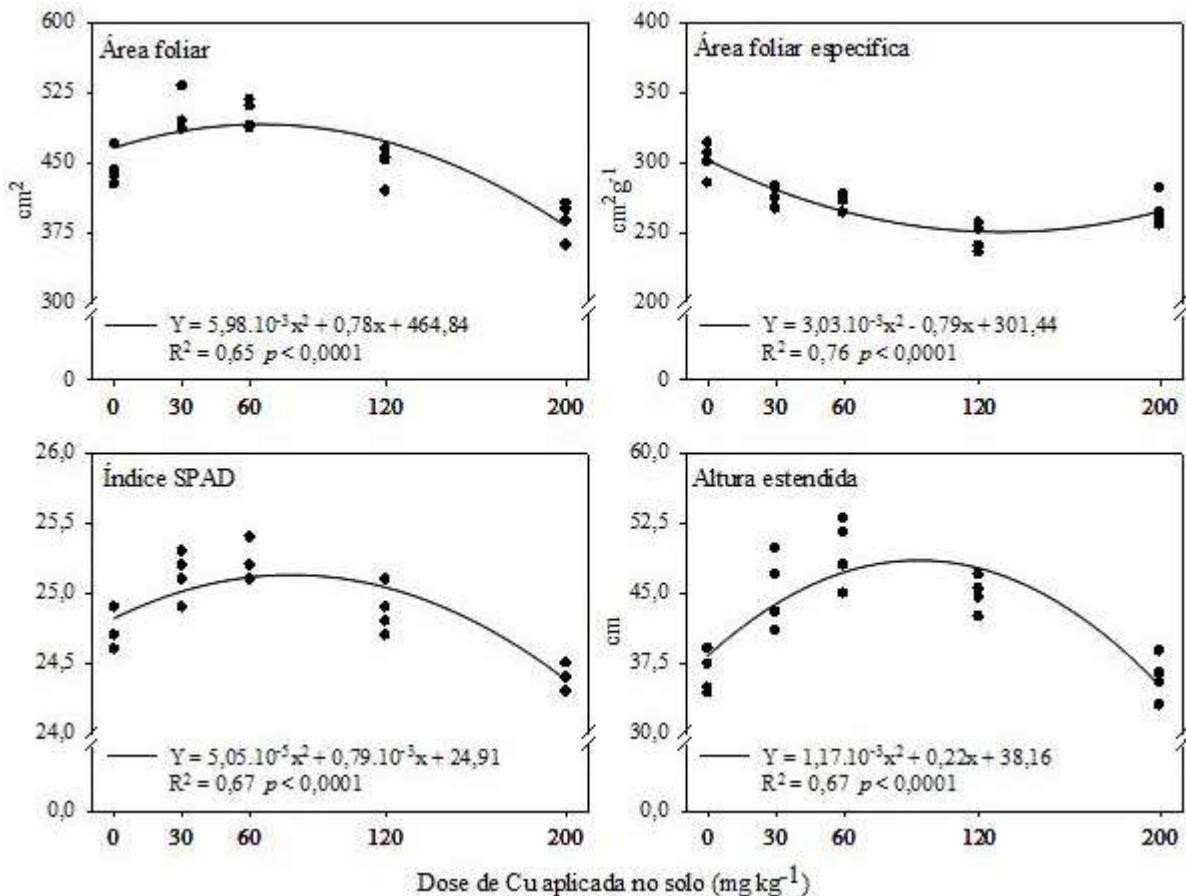
Figura 2 - Concentração de Cu disponível com a aplicação de doses crescentes de Cu no solo.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

A aplicação de doses de Cu no solo resultou em efeitos significativos e comportamento quadrático para a área foliar, área foliar específica, índice SPAD e altura estendida de plantas de capim xaraés (ver Figura 3). Para a área foliar, houve aumento de 5% entre a dose 0 mg kg⁻¹ e a dose estimada de 65,07 mg kg⁻¹, e redução de 22% entre essa dose e a dose de 200 mg kg⁻¹ (ver Figura 3). Para a área foliar específica, houve redução de 17% entre a dose 0 mg kg⁻¹ e a dose estimada de 130,51 mg kg⁻¹ (ver Figura 3). O índice SPAD aumentou 1% entre a dose de 0 e a dose estimada de 77,71 mg kg⁻¹, e reduziu 3% entre essa dose e a dose de 200 mg kg⁻¹ (ver Figura 3). Para a altura estendida, houve aumento de 27% entre a dose 0 mg kg⁻¹ e a dose estimada de 93,59 mg kg⁻¹ (ver Figura 3), com redução de 27% entre essa dose e a dose de 200 mg kg⁻¹.

Figura 3 - Área foliar, área foliar específica, índice SPAD e altura estendida de plantas de capim xaraés desenvolvidas em solo com doses crescentes de Cu.

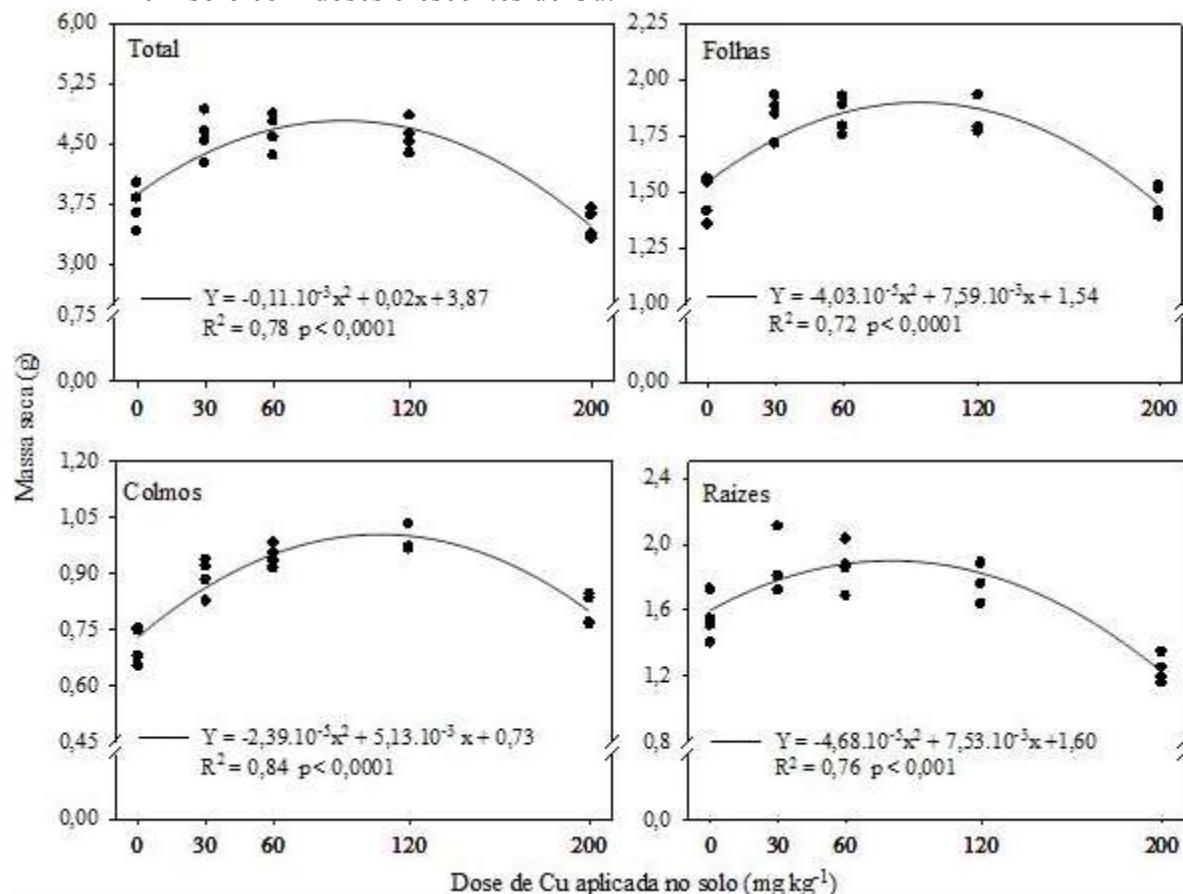


Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

A aplicação de doses de Cu no solo resultou em efeitos significativos e comportamento quadrático para a massa seca total, de folhas, colmos e raízes de plantas de capim xaraés (ver Figura 4). Para a massa de folhas, houve aumento de 23% entre a dose 0 mg kg⁻¹ e a dose estimada de 94,89 mg kg⁻¹, e redução de 23% entre essa dose e a dose de 200 mg kg⁻¹ (ver Figura 4). Para a massa de colmos, houve aumento de 38% entre a dose 0 mg kg⁻¹ e a dose estimada de 106,92 mg kg⁻¹, e redução de 21% entre essa dose e a dose de 200 mg kg⁻¹ (ver Figura 4). Para a massa de raízes, houve aumento de 19% entre a dose 0 mg kg⁻¹ e a dose estimada de 80,08 mg kg⁻¹, e redução de 36% entre essa dose e a dose de 200 mg kg⁻¹ (ver Figura 4).

A variação na massa seca total foi reflexo da contribuição dos efeitos do Cu na massa seca das folhas, colmos e raízes, os quais foram semelhantes ao que ocorreu para aquela variável. Para a massa seca total, houve aumento de 24% entre a dose 0 mg kg⁻¹ e a dose estimada de 91,22 mg kg⁻¹, e redução de 27% entre essa dose e a dose de 200 mg kg⁻¹ (ver Figura 4).

Figura 4 - Massa seca total, de folhas, colmos e raízes de plantas de capim xaraés desenvolvidas em solo com doses crescentes de Cu.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

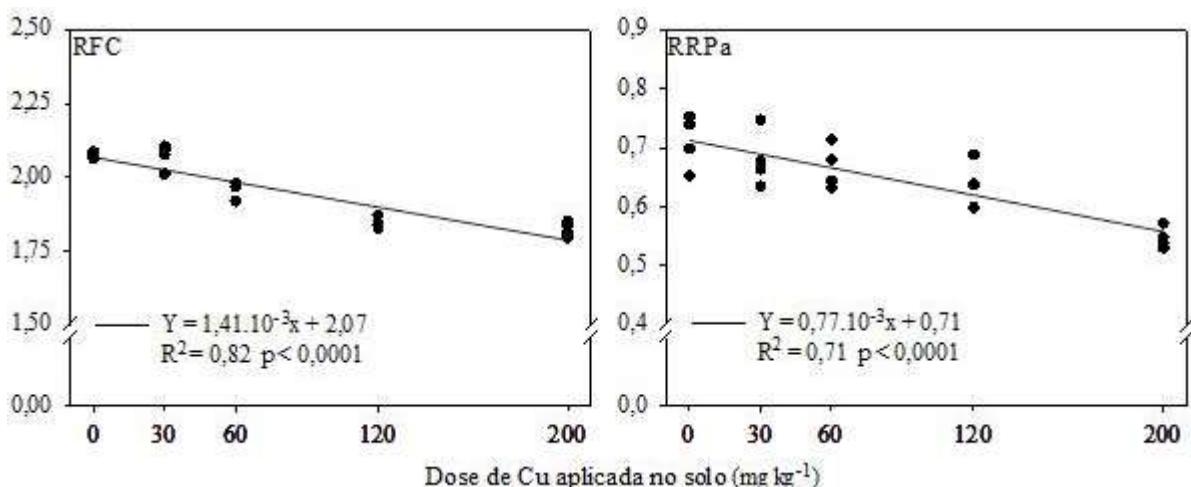
Plenderleith e Bell (1990), estudando os efeitos do Cu em 12 gramíneas forrageiras desenvolvidas em solo com doses crescentes de 0 a 600 mg kg⁻¹ do elemento-traço, verificaram redução da produção de massa seca da parte aérea para o milheto entre as doses de 95 e 175 mg kg⁻¹; para o capim de Rhodes, Buffel, Guiné, macaricam, decumbens, Urocloa, setaria, chorão, grama bermuda, a redução ocorreu entre as doses de 50 e 95 mg kg⁻¹; e para o jaraguazão, a redução ocorreu entre as doses de 2 e 50 mg kg⁻¹.

No trabalho de Vassilev et al. (2002), no qual foi avaliado os efeitos do Cu em plantas de cevada cultivadas em areia com doses crescentes do elemento-traço, de 0 a 15 mg kg⁻¹, foram verificadas reduções significativas na massa seca das plantas equivalentes a 42% nas raízes e 31% na parte aérea, para a dose de 15 mg kg⁻¹.

Borges et al. (2016) não identificaram diferença significativa na produção de massa seca de raízes e parte aérea de plantas de capim xaraés desenvolvidas nas doses de 0 e 200 mg kg⁻¹ de Cu no solo.

A aplicação de doses de Cu no solo resultou em efeitos significativos e comportamento linear para a relação folha:colmo e para a relação raiz:parte aérea (ver Figura 5). A relação folha:colmo sofreu redução durante o intervalo testado, correspondendo a 12% entre a dose 0 e 200 mg kg⁻¹ (ver Figura 5). A relação raiz:parte aérea também sofreu redução linear ao longo da faixa de doses avaliada (ver Figura 5). Essa redução correspondeu a 23% entre as doses de 0 e 200 mg kg⁻¹ de Cu aplicado no solo (ver Figura 5).

Figura 5 - Relação folha:colmo (RFC) e raiz:parte aérea (RRPa) de plantas de capim xaraés desenvolvidas em solo com doses crescentes de Cu.



Fonte: Elaborada pelo próprio autor, 2018.

O aumento do índice SPAD até a dose estimada de 77,71 mg kg⁻¹ concomitante à redução da área foliar específica reside na essencialidade do Cu na síntese da plastocianina, proteína responsável pela transferência de elétrons entre as clorofilas dos centros de reação do PSII e PSI (YRUELA, 2013). Mesmo que tenha havido redução do índice SPAD a partir dessa dose, a redução da área foliar específica continuou até a dose de 130,51 mg kg⁻¹, sugerindo que a redução do índice SPAD até o ponto mínimo da área foliar específica em intervalos superiores ao ponto máximo pode ocorrer devido ao aumento da proporção de parênquimas não-clorofilianos ou ao aumento do tamanho de células nas folhas.

Nos intervalos posteriores aos pontos máximos de produção de massa seca de folhas e mínimo de área foliar específica para o Cu aplicado no solo, a redução do índice SPAD sugere a redução da concentração de clorofilas, que pode ocorrer pela redução da sua biossíntese e/ou pela sua degradação (MARTINOIA; DALLING; MATILE, 1982; FERNANDES; HENRIQUES, 1991; LIDON; HENRIQUES, 1992; KÜPPER; KRONECK, 2005), ou pela redução da proporção de parênquimas clorofilianos.

O aumento da área foliar até a dose estimada de 65,07 mg kg⁻¹, concomitante à redução da área foliar específica, sugerem efeito benéfico do Cu às folhas, que pode ocorrer em virtude da promoção do aumento da fotossíntese, síntese de aminoácidos, prolina e da atividade de enzimas antioxidantes em função do aumento das doses de Cu no solo (MAHMOOD; ISLAM, 2006; AZOOZ et al, 2012). Já a redução da área foliar, a partir dessa dose, concomitante ao aumento da área foliar específica, configuram status de toxicidade do Cu às folhas. A exposição a altas doses de elementos-traço pode provocar redução do tamanho de células do mesófilo e o colapso dos parênquimas paliçádico e lacunoso. Uma redução no número de vasos condutores foi reportado na literatura como uma medida adaptativa para reduzir o fluxo de água nas plantas (PANOU-FILOTHEOU; BOSABALIDIS; KARATAGLIS, 2001; GOMES et al., 2011).

O aumento da área foliar e a redução da área foliar específica até as doses estimadas de 65,07 e 130,51 mg kg⁻¹, respectivamente, contribuíram para o aumento da massa seca das folhas até a dose estimada de 94,89 mg kg⁻¹. A redução da área foliar e aumento da área foliar específica contribuíram para a redução da massa seca das folhas, nos segmentos posteriores do intervalo de doses. Os aumentos da massa seca de colmos e raízes, bem como da altura estendida das plantas, entre a dose 0 mg kg⁻¹ e as doses estimadas de 106,92, 80,08 e 93,59 mg kg⁻¹, respectivamente, são devidos aos efeitos benéficos da essencialidade do Cu às plantas (MAHMOOD; ISLAM, 2006; AZOOZ et al, 2012), ao passo que as reduções da massa seca dessas estruturas e da altura estendida a partir dessas doses podem ter ocorrido devido à perturbação do elemento-traço nos processos fisiológicos das plantas, ou aos efeitos diretos na redução do crescimento dessas estruturas (PANOU-FILOTHEOU; BOSABALIDIS, 2004; HÄNSCH; MENDEL, 2009; KOPITTKE et al., 2009; YRUELA, 2009).

O Cu²⁺ se liga fortemente à parede celular, especialmente nas raízes. O produto de sua redução, o Cu⁺, pode promover reações de Fenton e a produção de radicais hidroxila, uma molécula excessivamente reativa que rompe polissacarídeos estruturais e pode, portanto, provocar o afrouxamento da parede celular, o que pode estimular a expansão celular (FRY; MILLER; DUNVILLE, 2002). Isto pode ter contribuído para o aumento do volume das células, e, consequentemente, para o aumento da área foliar, altura estendida de plantas e produção de biomassa de raízes, colmos e folhas, até as doses estimadas para os valores máximos. De acordo com MURPHY et al. (1999), níveis tóxicos de Cu podem provocar a peroxidação lipídica, resultando em danos às membranas plasmáticas capazes de reduzir a absorção de K nas raízes, nutriente necessário para o processo de expansão das células. Isso pode ter contribuído para a redução do volume das células, e, consequentemente, para a redução da área foliar, altura

estendida de plantas e produção de biomassa de raízes, colmos e folhas, das doses estimadas para os valores máximos até 200 mg kg⁻¹ de Cu aplicado no solo.

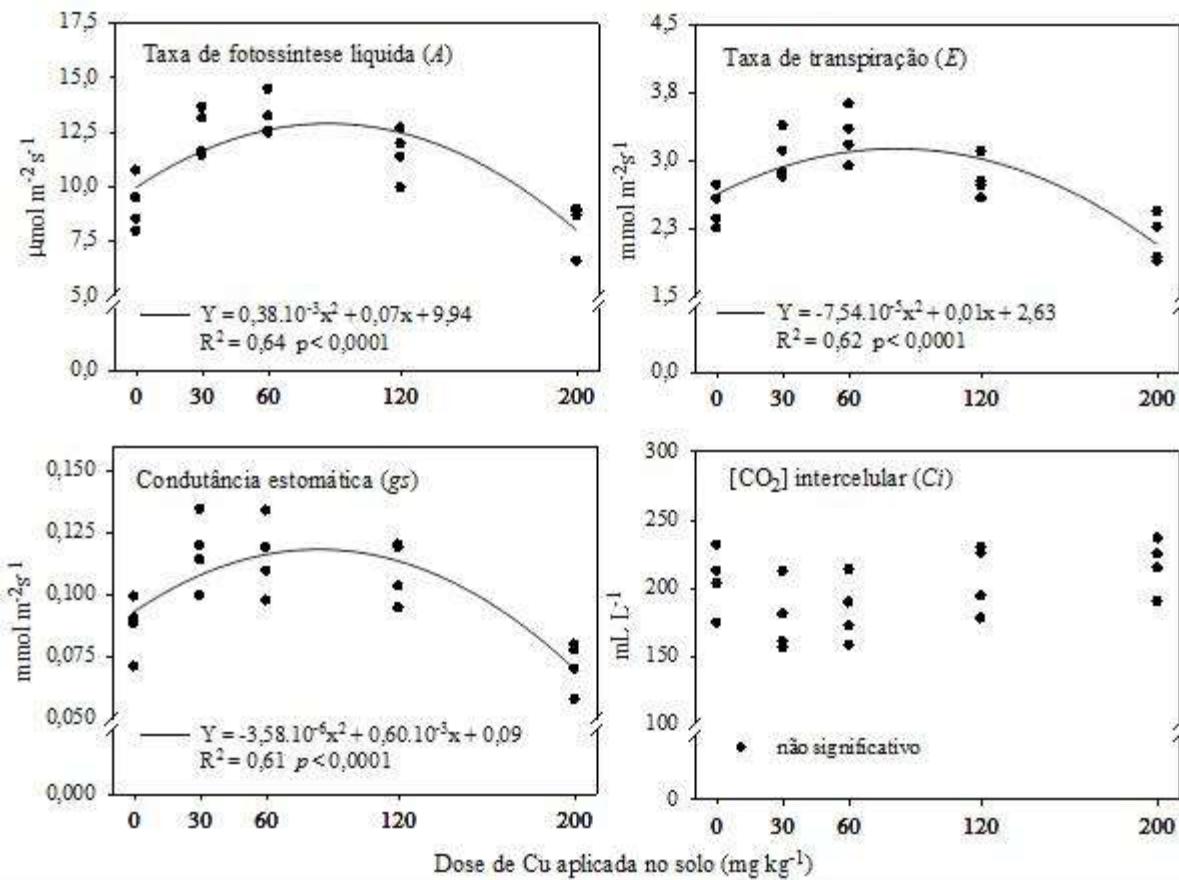
A redução da relação folha:colmo deu-se devido ao maior aumento relativo da massa seca dos colmos entre a dose 0 mg kg⁻¹ e dose para o valor máximo, em relação ao aumento relativo da massa seca das folhas, e ao menor decréscimo relativo da massa seca de colmos entre esse os valores desse ponto e da dose de 200 mg kg⁻¹, comparativamente à massa seca das folhas. A redução da relação raízes:parte aérea ocorreu devido ao maior aumento relativo da massa seca de folhas e colmos entre a dose 0 mg kg⁻¹ e as doses para seus valores máximos, e do menor decréscimo dos valores desses pontos e os valores da dose de 200 mg kg⁻¹, comparativamente à massa seca das raízes. Tais efeitos evidenciam maior efeito benéfico do Cu aos colmos em relação às folhas, e à parte aérea em relação às raízes, bem como demonstram menor efeito negativo do Cu aos colmos, em relação às folhas, e à parte aérea, em relação às raízes.

A aplicação de doses de Cu no solo resultou em efeitos significativos e comportamento quadrático para a taxa fotossintética líquida, taxa de transpiração e condutância estomática nas folhas de capim xaraés (ver Figura 6). Houve aumento da taxa fotossintética líquida entre a dose 0 mg kg⁻¹ e a dose estimada de 84,25 mg kg⁻¹ correspondente a 29%, e redução entre essa dose e a dose de 200 mg kg⁻¹ de 42% (ver Figura 6). Para a taxa de transpiração, houve aumento de 19% entre a dose 0 mg kg⁻¹ e a dose estimada de 82,30 mg kg⁻¹, e redução de 33% entre essa dose e a dose de 200 mg kg⁻¹ (ver Figura 6). Para a condutância estomática, houve aumento de 24% entre a dose 0 mg kg⁻¹ e a dose estimada de 75,12 mg kg⁻¹, e redução de 54% entre essa dose e a dose de 200 mg kg⁻¹ (ver Figura 6). Não houve resposta significativa para a concentração de CO₂ intercelular nas folhas de capim xaraés, de acordo com o aumento de doses no solo (ver Figura 6).

A taxa fotossintética líquida pode variar devido a alterações de ordem estomática e/ou não estomática. Uma vez que os níveis de CO₂ intercelular nas folhas permaneceram estáveis, a variação da condutância estomática não teve influência na variação da taxa fotossintética líquida, com o aumento de doses de Cu no solo.

O aumento da taxa fotossintética líquida foi acompanhado pelo aumento do índice SPAD, cujos valores máximos ocorreram em doses de Cu estimadas muito próximas, indicando que isso pode ter ocorrido devido ao aumento da concentração de clorofila nas folhas. O Cu integra a plastocianina, proteína responsável pela transferência de elétrons entre as clorofilas dos centros de reação do PSII e PSI (TAIZ; ZEIGER, 2010).

Figura 6 - Taxa fotossintética líquida, taxa de transpiração, condutância estomática e concentração de CO₂ intercelular em folhas de plantas de capim xaraés desenvolvidas em solo com doses crescentes de Cu.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

Além disso, o aumento da taxa fotossintética líquida até a dose estimada de 84,25 mg kg⁻¹ pode ter ocorrido em função do Cu ser constituinte da enzima Cu/Zn superóxido dismutase, a qual protege os cloroplastos de espécies reativas de oxigênio gerados durante o estresse oxidativo derivado de reações fotossintéticas (YRUELA, 2013). O Cu também pode desempenhar um papel significativo nas reações de carboxilação da fotossíntese, uma vez que está presente naturalmente na RuBisCO (STIBOROVÁ; DOUBRAVOVÁ; LEBLOVÁ, 1986).

A redução da taxa fotossintética líquida, sobretudo a partir das doses estimadas em que houve redução da massa seca das plantas, pode ocorrer devido aos efeitos dessas doses na redução do conteúdo de clorofila (MARTINOIA; DALLING; MATILE, 1982; FERNANDES; HENRIQUES, 1991; LIDON; HENRIQUES, 1992; KÜPPER; KRONECK, 2005), redução no transporte de elétrons no PSI pela redução da síntese de plastocianina e redução da atividade do PSII devido à alteração da estrutura de cloroplastos e da composição das membranas tilacoides

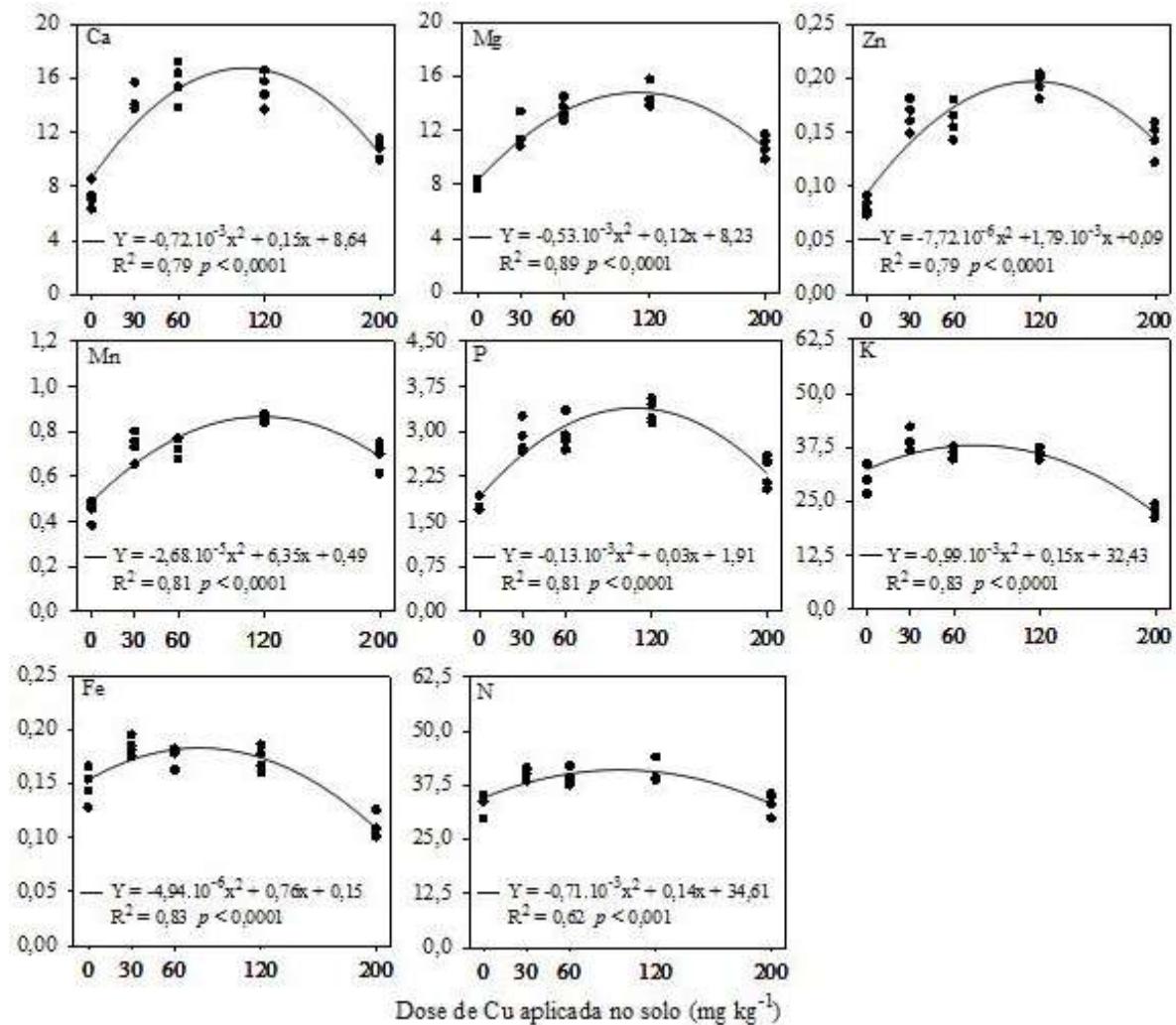
(DROPPA, 1984). A redução da taxa fotossintética líquida pode residir também no efeito de concentrações tóxicas do Cu à atividade da RuBisCO (LIDON; HENRIQUES, 1991).

O aumento da taxa de transpiração até a dose de Cu estimada de 82,30 mg kg⁻¹ ocorreu em função do aumento da condutância estomática, bem como sua redução, a partir dessa dose, foi influenciada pela redução daquela variável. Variações na condutância estomática estão relacionadas ao suprimento de K às células-guarda dos estômatos das folhas (HASANUZZAMAN et al., 2018).

A aplicação de doses de Cu no solo resultou em efeitos significativos e comportamento quadrático para a acumulação de Ca, Mg, Zn e Mn na parte aérea das plantas de capim xaraés. (ver Figura 7). Houve aumento da acumulação de Ca entre a dose 0 mg kg⁻¹ e a dose estimada de 106,19 mg kg⁻¹ correspondente a 94%, e redução entre essa dose e a dose de 200 mg kg⁻¹ de 38% (ver Figura 7). Para a acumulação de Mg, houve aumento de 80% entre a dose 0 mg kg⁻¹ e a dose estimada de 111,79 mg kg⁻¹, e redução de 28% entre essa dose e a dose de 200 mg kg⁻¹ (ver Figura 7). Para a acumulação de Zn, houve aumento de 107% entre a dose 0 mg kg⁻¹ e a dose estimada de 111,81 mg kg⁻¹, e redução de 32% entre essa dose e a dose de 200 mg kg⁻¹ (ver Figura 7). Houve aumento da acumulação de Mn entre a dose 0 mg kg⁻¹ e a dose estimada de 117,65 mg kg⁻¹ correspondente a 76%, e redução entre essa dose e a dose de 200 mg kg⁻¹ de 21% (ver Figura 7).

A aplicação de doses de Cu no solo também resultou em efeitos significativos e comportamento quadrático para a acumulação de P, K, Fe e N na parte aérea das plantas de capim xaraés (ver Figura 7). Houve aumento da acumulação de P entre a dose 0 mg kg⁻¹ e a dose estimada de 107,80 mg kg⁻¹ correspondente a 78%, e redução entre essa dose e a dose de 200 mg kg⁻¹ de 32% (ver Figura 7). Para a acumulação de K, houve aumento de 17% entre a dose 0 mg kg⁻¹ e a dose estimada de 75,24 mg kg⁻¹, e redução de 41% entre essa dose e a dose de 200 mg kg⁻¹ (ver Figura 7). Para a acumulação de N, houve aumento de 19% entre a dose 0 mg kg⁻¹ e a dose estimada de 95,19 mg kg⁻¹, e redução de 19% entre essa dose e a dose de 200 mg kg⁻¹ (ver Figura 7). Houve aumento da acumulação de Fe entre a dose 0 mg kg⁻¹ e a dose estimada de 76,50 mg kg⁻¹ correspondente a 19%, e redução entre essa dose e a dose de 200 mg kg⁻¹ de 42% (ver Figura 7).

Figura 7 - Acumulação de Ca, Mg, Zn, Mn, P, K, Fe e N na parte aérea de plantas de capim xaraés desenvolvidas em solo com doses crescentes de Cu.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

A expansão celular se dá através da absorção de K^+ pelas células, principal soluto requerido nos vacúolos para o ajuste da pressão osmótica e consequentemente da pressão de turgor (MARSCHNER, 2012). Dessa forma, o aumento das doses de Cu aplicada no solo pode ter contribuído para o aumento da acumulação de K na parte aérea das plantas de capim xaraés até a dose estimada de 75,24 mg kg⁻¹ de Cu aplicado no solo.

O aumento do suprimento de K às células-guarda das folhas proporciona o aumento da condutância estomática e, consequentemente, da taxa de transpiração das folhas (HASANUZZAMAN et al., 2018). O N, Ca, Mg, Zn, Fe e Mn são absorvidos em maior ou menor proporção parte através do fluxo de massa (BARBER, 1995). Dessa forma, o aumento da taxa de transpiração das folhas induzido pelo Cu até a dose estimada de 82,30 mg kg⁻¹ pode ter contribuído para o aumento do acúmulo desses nutrientes na parte aérea.

Sob níveis tóxicos nas raízes, o Cu induz à perda de K do citoplasma devido ao aumento do efluxo através de canais de K na membrana plasmática e através de danos na membrana causados pela peroxidação lipídica nas raízes, reduzindo a absorção do K (MURPHY et al., 1999). Isto pode ter contribuído para a redução da acumulação de K na parte aérea das plantas de xaraés, influenciando na redução da condutância estomática a partir da dose estimada de 82,30 mg kg⁻¹ de Cu aplicado no solo, e consequentemente, para a redução da acumulação de N, Ca, Mg, Zn, Fe em doses estimadas próximas ou acima daquela.

A redução da acumulação de Ca, Mg, Mn, Zn, Fe e K na parte aérea das plantas pode ser devido também ao fato de que, em níveis tóxicos nas plantas, o Cu pode apresentar efeito antagônico a outros íons catiônicos, deslocando-os dos sítios de ligação e reduzindo sua concentração nos tecidos vegetais (KÜPPER; KRONECK, 2005; MATEOS-NARANJO et al., 2008), ou diminuindo a translocação das raízes para a parte aérea (KOPITTKE et al., 2009).

A redução da acumulação de P na parte aérea, a partir da dose estimada de 107,80 mg kg⁻¹ de Cu aplicado no solo pode ter ocorrido devido ao efeito do Cu na inibição da atividade de fosfatases, reduzindo a disponibilidade de P às plantas (TYLER, 1976).

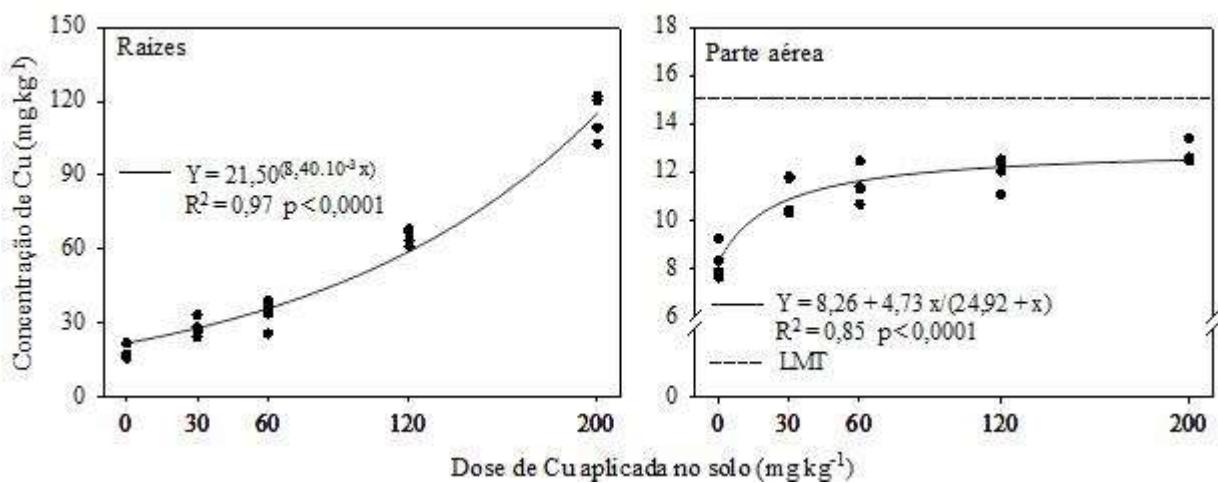
Lidon e Henriques (1993), estudando o efeito do Cu em plantas de arroz desenvolvidas em solução nutritiva com doses crescentes do elemento-traço (0 a 6,25 mg L⁻¹), observaram resultados semelhantes ao do presente trabalho, com o aumento da acumulação de N, P, K, Na, Ca, Mg, B, Mo, Zn até a concentração de 0,25 mg L⁻¹, e queda no segmento posterior. Resultado semelhante também foi obtido por Vassilev et al. (2002) para a concentração de Ca, Fe e Mn em plantas de cevada desenvolvidas em areia com doses crescentes do elemento-traço (0 a 15 mg kg⁻¹). Manivasagaperumal et al. (2011), estudando plantas de feijão mungo desenvolvidas em solo com doses crescentes de Cu (0-250 mg kg⁻¹), observaram aumento da concentração de N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn e Zn na parte aérea das plantas até a dose de 50 mg kg⁻¹, com queda no segmento posterior. Todavia, Kopittke et al. (2009) relataram que as concentrações de K, Mg, Fe, Zn e Mn na parte aérea de plantas de capim Urocloa tiveram reduções significativas em virtude do estresse induzido pelo Cu, entre doses de 0,12 e 2,3 µmol L⁻¹ de Cu em solução nutritiva.

A aplicação de doses de Cu no solo resultou em efeitos significativos para a concentração do elemento-traço nas raízes e parte aérea das plantas de xaraés (ver Figura 8). Houve um aumento exponencial da concentração de Cu nas raízes de 17,56 a 113,24 mg kg⁻¹ (6,4 vezes) entre as doses 0 e 200 mg kg⁻¹ (ver Figura 8). No mesmo intervalo de doses, na parte aérea, o aumento ocorreu de 8,24 a 12,70 mg kg⁻¹ (1,5 vez), de acordo com o modelo de Michaelis-Menten (ver Figura 8). A concentração de Cu foi maior nas raízes comparativamente

à parte aérea das plantas em todo o intervalo de doses testado (ver Figura 8). Isso ocorre devido ao fato de que nas plantas, o Cu é retido principalmente na epiderme das raízes, ou nos vacúolos de células corticais adjacentes à endoderme das raízes (SHI et al., 2008; KOPITTKE et al., 2009).

Os teores do elemento-traço na parte aérea das plantas de capim xaraés não ultrapassaram o limite máximo tolerável (LMT) de 15 mg kg^{-1} para produtos destinados à alimentação animal (NRC, 2005) em todo o intervalo de doses testado.

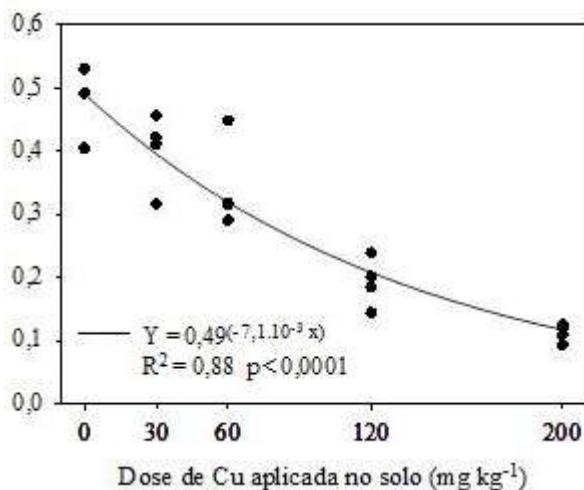
Figura 8 - Concentração de Cu nas raízes e parte aérea das plantas de capim xaraés desenvolvidas em solo com doses crescentes de Cu.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

A aplicação de doses de Cu no solo resultou em efeitos significativos para a translocação do elemento-traço entre as raízes e parte aérea das plantas de xaraés (ver Figura 9).

Figura 9 - Fator de translocação de Cu em plantas de capim xaraés desenvolvidas em solo com doses crescentes de Cu.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

Houve redução exponencial entre as doses de 0 e 200 mg kg^{-1} (76%), tendo o fator de translocação permanecido abaixo de 1 em todo o intervalo de doses testado, o que representa baixa capacidade de translocação do elemento-traço das raízes para a parte aérea (ver Figura 9). Isso ocorre devido à elevada retenção do elemento-traço nas raízes (SHI et al., 2008; KOPITTKE et al., 2009).

De acordo com a variação de 10% dos valores máximos ou mínimos obtidos para as variáveis de crescimento e acumulação de nutrientes avaliadas, foram definidas as doses críticas inferior e superior de Cu aplicadas no solo (DCI e DCS), as quais representam os limites de deficiência e toxicidade do elemento-traço para as plantas de capim xaraés. Tais doses são apresentados na Tabela 2.

De acordo com as doses críticas de Cu aplicadas no solo para a produção de massa seca das plantas de capim xaraés, apresentados na Tabela 2, a dose mais limitante para a deficiência (maior DCI) foi obtida para a produção de massa seca de colmos, em 42,27 mg kg^{-1} ; já a dose mais limitante para a toxicidade (menor DCS) foi obtida para a massa seca de raízes, em 143,64 mg kg^{-1} (ver Tabela 2). Para a maior DCI e menor DCS para produção de massa seca, a concentração de Cu atingiu 13,68 e 33,07 mg kg^{-1} de disponibilidade no solo; 30,66 e 71,25 mg kg^{-1} nas raízes; e 11,24 e 13,31 mg kg^{-1} na parte aérea, respectivamente (ver Tabela 2).

Considerando todas as variáveis de crescimento e acumulação de nutrientes na parte aérea, a maior DCI foi obtida para a acumulação de Zn, em 62,60 mg kg^{-1} (ver Tabela 2). Já a menor DCS foi obtida para a condutância estomática, em 128,92 mg kg^{-1} (ver Tabela 2). Para a maior DCI e menor DCS para estas variáveis, a concentração de Cu atingiu 17,56 e 30,26 mg kg^{-1} .

kg^{-1} de disponibilidade no solo; 36,38 e 63,59 mg kg^{-1} nas raízes; e 11,64 e 12,22 mg kg^{-1} na parte aérea, respectivamente (ver Tabela 2).

Tabela 2 - Doses críticas inferiores e superiores (DCI e DCS) de Cu aplicadas no solo de acordo com as variáveis de crescimento, trocas gasosas e acumulação de nutrientes avaliadas para as plantas de capim xaraés.

Variável	DCI (mg kg^{-1})	DCS (mg kg^{-1})
Área foliar	-	155,62
Área foliar específica	39,70	-
Índice SPAD	-	-
Altura estendida	29,38	157,81
Massa seca total	25,52	156,92
Massa seca de folhas	25,93	163,85
Massa seca de colmos	42,27	171,56
Massa seca de raízes	16,54	143,64
Taxa fotossintética líquida	27,71	140,79
Taxa de transpiração	17,62	146,98
Condutância estomática	21,32	128,92
Acumulação de Ca	57,92	154,45
Acumulação de Mg	58,72	164,85
Acumulação de Mn	61,10	174,20
Acumulação de Zn	62,60	161,02
Acumulação de P	56,31	159,30
Acumulação de K	13,45	137,04
Acumulação de Fe	16,04	136,96
Acumulação de N	19,43	170,95

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

3.6 CONCLUSÕES

Em Cambissolo Háplico, a aplicação de doses de Cu aumenta linearmente a disponibilidade do elemento-traço até a dose de 200 mg kg^{-1} ;

Para plantas de capim xaraés cultivadas em Cambissolo Háplico com doses crescentes de Cu, a dose crítica inferior estimada para superar a deficiência corresponde a 62,60 mg kg^{-1} , e a dose crítica superior estimada para causar toxicidade corresponde a 128,92 mg kg^{-1} .

3.7 REFERÊNCIAS

ADREES, M. et al. The effect of excess copper on growth and physiology of important food crops: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, Landsberg, v. 22, n. 11, p. 8148–8162, 2015.

AZOOZ, M. M.; ABOU-ELHAMID, M. F.; AL-FREDAN, M. A. Biphasic effect of copper on growth, proline, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities of wheat (*Triticum aestivum* cv. Hasaawi) at early growing stage. **Australian Journal of Crop Science**, Lismore, v. 6, n. 4, p. 688-694, 2012.

BARDUCCI, R. S. et al. Produção de *Brachiaria brizantha* e *Panicum maximum* com milho e adubação nitrogenada. **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v. 58, n. 222, p. 211-222, 2009.

BORGES, K. S. C. et al. Germination and initial development of *Brachiaria brizantha* and *Brachiaria decumbens* on exposure to cadmium, lead and copper. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 38, n. 4, p. 335–343, 2016.

BOTREL, M. A.; ALVIM, M. J.; XAVIER, D. F. Avaliação de gramíneas forrageiras na região sul de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.34, n.4, p. 683-689, 1999.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 420 de 2009**, 2009.

BRUNETTO, G. et al. Copper and zinc accumulation, fractionation and migration in vineyard soils from Santa Catarina State, Brazil. **Bragantia**, Campinas, v. 77, n. 1, p. 141–151, 2018.

BARBER, S. A. **Soil nutrient and bioavailability**: a mechanistic approach. New York: John Wiley & Sons, Inc. 1995. 414 p.

CHEN, L. M.; KAO, C. H. Effect of excess copper on rice leaves: evidence for involvement of lipid peroxidation. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, Taipei, v. 40, p. 283–287, 1999.

COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO – CQFS-RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo/Núcleo Regional Sul, 2004. 400p.

DROPPA, M.; TERRY, N.; HORVATH, G. Effects of Cu deficiency on photosynthetic electron transport. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, v. 81, p. 2369– 237, 1984.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa-CNPS, 1997. 212p.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 3.ed. Rio de Janeiro: Embrapa-CNPS, 2013. 353p.

EPSTEIN, E.; BLOOM, J. A. **Mineral nutrition of plants: principles and perspectives**, 2nd ed. Sunderland: Sinauer Associates, Inc, 2005. 600 p.

FEIGL, G. et al. Comparing the effects of excess copper in the leaves of *Brassica juncea* (L. Czern) and *Brassica napus* (L.) seedlings: Growth inhibition, oxidative stress and photosynthetic damage. **Acta Biologica Hungarica**, Budapest, v. 66, n. 2, p. 205–221, 2015.

FERNANDES, J.C; HENRIQUES, F.S. Excess Copper in Plants. **The Botanical Review**, New York, v. 57, n. 3, p. 246–273, 1991.

GOMES, M. P. et al. Ecophysiological and anatomical changes due to uptake and accumulation of heavy metal in *Brachiaria decumbens*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 68, n. 5, p. 566-573, 2011.

HÄNSCH, R.; MENDEL, R. R. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 12, p. 259–266, 2009.

HASANUZZAMAN, M. et al. Potassium: A Vital Regulator of Plant Responses and Tolerance to Abiotic Stresses. **Agronomy**, Basel, v. 8, n. 3, p. 31, 2018.

ISO11047/1998(E). Soil quality — **Determination of cadmium, chromium, cobalt, copper, lead, manganese, nickel and zinc in aqua regia extracts of soil** — Flame and electrothermal atomic absorption spectrometric methods. Geneva: International Organization for Standardization, 1998. 6 p.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants**. 4. ed. Boca Raton: CRC Press, 2011. 520 p.

KOPITTKE, P. M. et al. Toxic effects of Cu²⁺ on growth, nutrition, root morphology, and distribution of Cu in roots of Sabi grass. **Science of the total environment**, Amsterdam, v. 407, p. 4616-4621, 2009.

KÜPPER, H.; KRONECK, P. M. H. Heavy metal uptake by plants and cyanobacteria. **Metal Ions in Biological Systems**, New York, v. 44, p. 97–144, 2005.

LIDON, F. C.; HENRIQUES, F. S. Effects of copper toxicity on growth and the uptake and translocation of metals in rice plants. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 16, p. 1449–1464, 1993.

LIDON, F. C.; HENRIQUES, F. Effects of excess copper on the photosynthetic pigments in rice plants. **Botanical bulletin of Academia Sinica**, Taipei, v. 33, p. 141-149, 1992.

LIDON, F. C.; HENRIQUES, F. S. Limiting Step on Photosynthesis of Rice Plants Treated with Varying Copper Levels. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 138, n. 1, p. 115–118, 1991.

MAHMOOD, T.; ISLAM, K. R. Response of rice seedlings to copper toxicity and acidity. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 29, p. 943-957, 2006.

MANIVASAGAPERUMAL, R. et al. Effect of copper on growth, dry matter yield and nutrient content of *Vigna Radiata* (L.) Wilczek. **Journal of Phytology**, Abu Dhabi, v. 33, n. 3, p. 53–62, 2011.

MARSCHNER, P. **Mineral Nutrition Of Higher Plants**, 3rd ed. London: Academic Press, 2012. 672 p.

MARTINOIA, E.; DALLING, M. J.; MATILE, P. Catabolism of chlorophyll: demonstration of chloroplast-localized peroxidative and oxidative activities. **Zeitschrift für Pflanzenphysiologie. International journal of plant physiology**, Stuttgart, v. 107, n. 3, p. 269–279, 1982.

MATEOS-NARANJO, E. et al. Growth and photosynthetic responses to copper stress of an invasive cordgrass, *Spartina densiflora*. **Marine Environmental Research**, London, v. 66, p. 459-465, 2008.

MURPHY, A.S. et al. Early copper- induced leakage of K⁺ from *Arabidopsis* seedlings is mediated by ion channels and coupled to citrate efflux. **Plant Physiology**, Belmont, v. 121, p. 1375-1382, 1999.

MURPHY, J.; RILEY, J.P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. **Analytica Chimia Acta**, Amsterdam, v. 27, p. 31-36, 1962.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Mineral tolerance of animals**. Washington: National Academy of Sciences, 2005. 510 p.

PANOU-FILOTHEOU, H.; BOSABALIDIS, A. M.; KARATAGLIS, S. Effects of copper toxicity on leaves of oregano (*Origanum vulgare* subsp. *hirtum*). **Annals of Botany**, Oxford, v. 88, n. 2, p. 207–214, 2001.

PANOU-FILOTHEOU, H.; BOSABALIDIS, A. M. Root structural aspects associated with copper toxicity in oregano (*Origanum vulgare* subsp. *hirtum*). **Plant Science**, Beijing, v. 166, n. 6, p. 1497–1504, 2004.

PLENDERLEITH, R. W.; BELL, L. C. Tolerance of twelve tropical grasses to high soil concentrations of copper. **Tropical Grasslands**, Cali, v. 24, p. 103-110, 1990.

RAO, I.M.; KERRIDGE, P.C.; MACEDO, M.C.M. Nutrition requirements of Brachiaria and adaptation to acid soils. In: MILES, J.W.; MAASS, B.L.; VALLE, C.B. do (Eds.). **Brachiaria: biology, agronomy, and improvement**. CALI; EMBRAPA: Campo Grande, 1996. p. 53-71 (CIAT Publication, n. 259).

SHI, J. et al. An X-ray absorption spectroscopy investigation of speciation and biotransformation of copper in *Elsholtzia splendens*. **Plant and Soil**, The Hague, v. 302, p.163–174, 2008.

SIGMA PLOT for Windows, version 12.0: Systat Software Inc., 2011. 1 CD-ROM.

STIBOROVÁ, M.; DOUBRAVOVÁ, M; LEBLOVA, S. A comparative study of the effect of heavy metal ions on ribulose-1,5-biphosphate carboxylase and phosphoenol pyruvate carboxylase. **Biochemie und Physiologie der Pflanzen**, Jena, v. 181, p. 373-379, 1986.

TAIZ, L.; ZIEGER, E. **Plant Physiology**. 5 ed. Massachusetts: Sinauer Associates Inc., 2010. 782 p.

TEDESCO, M. J. et al. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2.ed. Porto Alegre: UFRGS, 1995. 174 p.

TYLER, G. Heavy metal pollution, phosphatase activity and mineralization of organic phosphorous in forest soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.8, p. 327–332, 1976.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - USEPA. **Microwave Assisted acid digestion of sediments, sluges, soil, and oils. Method 3052 - SW - 846**, 1996. Disponível em: <<http://www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3052.pdf>>. Acesso em: 12 nov. 2014.

VASSILEV, A. Photosynthetic performance and content of some nutrients in cadmium and copper treated barley plants. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 25, n. 11, p. 2343–2360, 2002.

YRUELA, I. Copper in plants: acquisition, transport and interaction. **Functional plant biology**, Colingwood, v. 36, p. 409-430, 2009.

YRUELA, I. Transition metals in plant photosynthesis. **Metallomics**, Cambridge, v. 5, n. 9, p. 1090-1109, 2013.

4 EFEITOS DA TOXICIDADE AO COBRE A GRAMÍNEAS FORRAGEIRAS TROPICAIS

4.1 RESUMO

As atividades antrópicas têm aumentado os teores de cobre (Cu) nos solos. A exposição ao cobre (Cu) pode provocar efeitos tóxicos às plantas. Entretanto, gramíneas forrageiras tropicais podem variar substancialmente entre si em relação à sensibilidade ao Cu. O objetivo deste estudo foi avaliar a toxicidade diferenciada do Cu em gramíneas forrageiras tropicais, considerando dois níveis de Cu na solução nutritiva e a morfogênese, o crescimento e concentração de Cu de raízes e parte aérea das plantas. Para tanto, foi conduzido um experimento em casa de vegetação, com unidades experimentais constituídas por plantas crescidas em potes com solução nutritiva de Hoagland. Foram avaliadas 11 gramíneas forrageiras tropicais, em dois níveis de Cu na solução nutritiva: 0,3 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A aplicação dos tratamentos foi realizada após 30 dias do crescimento das plantas. Do 15º ao 30º dia da aplicação dos tratamentos, foram avaliadas variáveis da morfogênese das plantas. No 30º dia, foram tomadas medidas da área foliar e índice SPAD, e do comprimento total, área, volume e diâmetro médio de raízes. Seguidamente, as plantas foram colhidas e divididas em raízes, colmos e folhas, sendo determinadas a massa seca das diferentes partes. De posse desses dados, foram calculados a área foliar específica, a área radicular específica, densidade de raízes, densidade de comprimento de raízes, comprimento radicular específico, e as relações folha:colmo e raízes:parte aérea. Amostras de tecido das raízes e parte aérea foram digeridas para a determinação da concentração de Cu, através da qual calculou-se o fator de translocação do elemento-traço entre as diferentes estruturas. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de médias. O crescimento das plantas na concentração de 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu na solução nutritiva provocou prejuízo do crescimento para raízes de humidícola, hemártria e Jiggs, e morfogênese e/ou crescimento da parte aérea para humidícola, hemártria, Jiggs, xaraés e Tanzânia, e beneficiou o crescimento de raízes de marandu, Aruana, piatã, xaraés, Tanzânia e Tifton-85, e a morfogênese e/ou crescimento da parte aérea de marandu, Aruana, piatã, Tifton-85 e missioneira gigante, em comparação à concentração de 0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Plantas na concentração de Cu de 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ tiveram maior concentração de Cu nas raízes e parte aérea, e menores fatores de translocação, para todas as forrageiras avaliadas. Na concentração de 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu em solução nutritiva, a presença de efeitos negativos na parte aérea das plantas de hemártria, humidícola e capim Tanzânia com teores de Cu dentro da faixa crítica, e da ausência para os capins Aruana e marandu com teores de Cu abaixo da faixa crítica, estão em consonância com a literatura. Para a grama Jiggs e capim xaraés, os efeitos negativos aparecem mesmo em níveis na parte aérea abaixo da faixa crítica, e para o capim piatã, pensacola e as gramas Tifton 85 e missioneira gigante, houve ausência ou presença de poucos efeitos negativos em níveis dentro da faixa crítica. As gramíneas forrageiras tropicais avaliadas apresentam efeitos diferenciados à toxicidade ao Cu.

Palavras-chave: Crescimento de plantas. Elementos-traço. Fitotoxicidade. Morfogênese.

EFFECTS OF COPPER TOXICITY TO TROPICAL FORAGE GRASSES

4.2 ABSTRACT

Anthropogenic activities have increased the levels of copper (Cu) in soils. Exposure to copper may cause toxic effects to plants. However, tropical forage grasses may vary substantially with respect to Cu sensitivity. The objective of this study was to evaluate the differentiated Cu toxicity to tropical forage grasses, considering two levels of Cu in the nutrient solution and the morphogenesis, growth and Cu concentration of roots and shoots of the plants. For this, a greenhouse experiment was conducted, with experimental units consisting of plants grown in pots with Hoagland's nutrient solution. Eleven tropical forage grasses were evaluated, in two levels of Cu in the nutrient solution: 0.3 and 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$. The treatments were applied after 30 days of plant growth. From the 15th to the 30th day of application of the treatments, variables of plant morphogenesis were evaluated. On the 30th day, measurements of leaf area and SPAD index were taken, and total length, area, volume and mean diameter of roots were measured. The plants were harvested and divided into roots, culms and leaves, the dry mass of the different parts being determined. Based on these data, the specific leaf area, specific root area, root density, root length density, specific root length, and leaf:stem and root:shoot ratio were calculated. Tissue samples from the roots and shoots were digested to determine the Cu concentration, through which the translocation factor of the trace element between the different parts was calculated. Data were submitted to analysis of variance and test of means. Plant growth at the concentration of 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ of Cu in the nutrient solution resulted in growth impairment for roots of *humidícola*, *hemarthria* and *Jiggs*, and growth and/or morphogenesis impairment for shoots of *humidícola*, *hemarthria*, *Jiggs*, *xaraés* and *Tanzania*, and improved the growth for the roots of *marandu*, *Aruana*, *piatã*, *Tifton-85* and *missioneira gigante*, as well as the growth and/or morphogenesis for the shoots of *marandu*, *Aruana*, *piatã*, *xaraés*, *Tanzania* and *Tifton-85*, compared to the plants grown in the nutrient solution with Cu concentration of 0.3 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Plants at Cu concentration of 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ in the nutrient solution had higher Cu concentration in the roots and shoots, and lower translocation factors, than plants at Cu concentration of 0.3 $\mu\text{mol L}^{-1}$, for all the forage grasses evaluated. At the concentration of 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ of Cu in nutrient solution, the presence of negative effects in the shoots of *hemarthria*, *humidícola* and *Tanzania* grass plants with Cu contents within the critical range, and the absence of negative effects in the shoots of *Aruana* and *marandu* grasses with Cu contents below the critical range are in agreement with the literature. For *Jiggs* and *xaraés* grasses, the negative effects appear even at levels in the shoots below the critical range and for *piatã*, *pensacola* *Tifton-85* and *missioneira gigante*, there were few or no negative effects at levels within the critical range. Tropical forage grasses evaluated have different effects on Cu toxicity.

Keywords: Plant growth. Trace elements. Phytotoxicity. Morphogenesis.

4.3 INTRODUÇÃO

Com o rápido desenvolvimento das atividades humanas, a contaminação dos solos com elementos-traço tem se tornado um sério problema ao redor do mundo. Para o cobre (Cu), várias fontes significativas, tais como fertilizantes, lodo de esgoto, estercos, resíduos de subprodutos industriais e a qualidade das águas de irrigação tem contribuído para o aumento dos níveis desse elemento-traço em solos agrícolas. Níveis de Cu aumentados também são observados em solos em torno de minas e siderúrgicas. Como o Cu é pouco móvel na maioria das condições de solo, conteúdos elevados podem persistirem por longos períodos (KABATA-PENDIAS, 2011).

O Cu é um elemento essencial aos seres vivos devido ao seu envolvimento em um número de processos fisiológicos tais como na cadeia de transporte de elétrons da fotossíntese e respiração, e também como cofator ou como parte estrutural de enzimas envolvidas em diferentes processos metabólicos (HÄNSCH; MENDEL, 2009; YRUELA, 2009; PICHHODE; NIKHIL, 2015).

Todavia, o elemento-traço é de especial preocupação devido aos potenciais efeitos deletérios no ambiente, incluindo toxicidade em plantas e animais. Sob concentrações tóxicas nas plantas, o Cu induz a peroxidação lipídica, a qual acelera a taxa de degradação de membranas e componentes celulares e inibe a taxa de restauração desses componentes, afetando a fotossíntese, respiração, síntese e atividade de enzimas e proteínas, entre outros processos fisiológicos (CHEN; KAO, 1999; YRUELA, 2009; YRUELA, 2013). Os sintomas da fitotoxicidade são caracterizados pela necrose, encarquilhamento, engrossamento e redução do comprimento de raízes, além da inibição da formação de raízes secundárias. Na parte aérea, a toxicidade ao Cu é evidenciada pela redução do comprimento de caules e folhas, diminuição do número de folhas e área foliar, e do aparecimento de cloroses (MARSCHNER, 2012; ADREES et al., 2015; FEIGL et al., 2015). Os efeitos tóxicos do elemento-traço às raízes podem resultar em uma redução dramática da absorção de água e nutrientes, levando à inibição do crescimento e desenvolvimento das plantas (PANOU-FILOTHEOU; BOSABALIDIS, 2004).

Os sintomas de fitotoxicidade geralmente aparecem quando sua concentração na parte aérea alcança valores de 15 a 30 mg kg⁻¹, a depender da espécie vegetal. Entretanto, a translocação do elemento-traço para a parte aérea é restringida pela grande acumulação nas raízes, de modo que a toxicidade do Cu às raízes e efeitos fisiológicos deletérios podem ocorrer mesmo antes da concentração na parte aérea atingir valores anormais. (MICHAUD; CHAPPELLAZ; HILLSINGER, 2008; ADREES et al., 2015).

Uma característica importante da pecuária brasileira é ter a maior parte de seu rebanho criado em pasto (FERRAZ; FELÍCIO, 2010), que consiste numa forma prática e de menor custo de produzir e oferecer alimentos para os ruminantes. As condições edafoclimáticas do Brasil favorecem o cultivo de gramíneas forrageiras tropicais (RIBEIRO Jr. et al., 2014). Segundo o IBGE (2006), a área estimada de pastagens é de aproximadamente 158,7 milhões de ha, dos quais 101,4 milhões de ha são ocupados por pastagens cultivadas, em sua maioria por espécies gramíneas forrageiras de clima tropical.

O nível de fertilidade do solo é uma das variáveis ambientais que podem alterar a morfogenética e crescimento das espécies forrageiras. Alterações na morfogênese de estruturas vegetais provocadas pelo Cu envolvem uma orientação ativa do crescimento de plantas (CRUZ et al., 2002; PASTERNAK et al., 2005).

As espécies vegetais podem apresentar diferenças em relação à sensibilidade ao Cu, mesmo em níveis idênticos do elemento-traço no meio de crescimento, uma vez que apresentam diferenças na absorção, transporte e acumulação do Cu nas raízes e parte aérea das plantas (WEI et al., 2008; YRUELA, 2009; SÁNCHEZ-PARDO; FERNÁNDEZ-PASCUAL; ZORNOZA, 2014; FEIGL et al., 2013; ADREES et al., 2015). Mesmo as gramíneas forrageiras tropicais podem variar substancialmente entre si em relação à sensibilidade ao Cu. Para o capim Urocloa, Kopittke et al. (2009b) verificaram redução da produção de massa fresca de 50% entre 1,0 e 1,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu na solução nutritiva. Para o sorgo, entretanto, Wei et al (2008) verificaram queda de 22% na produção de massa seca à 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu na solução nutritiva.

Uma vez que a variação dos níveis de Cu no meio de crescimento pode alterar a morfogênese e o crescimento de plantas, e os teores do elemento-traço em suas diferentes partes, essa variação também pode alterar o agrupamento entre espécies distintas.

O objetivo do estudo relatado neste capítulo foi avaliar a toxicidade diferenciada do Cu a 11 gramíneas forrageiras tropicais, com o aumento dos níveis de Cu na solução nutritiva de 0,3 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$, considerando a morfogênese, crescimento e concentração de Cu de raízes e parte aérea das plantas.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido entre os meses de fevereiro e abril de 2016, em casa de vegetação em Lages, SC ($27^{\circ}48'58"S$ e $50^{\circ}19'34"O$). O fotoperíodo e a luminosidade foram providas pela luz natural do sol, e a temperatura e a umidade relativa do ar controladas por sistema automatizado, permanecendo entre 15 e 25 °C e 70 e 95%, respectivamente.

As gramíneas forrageiras avaliadas no trabalho foram três cultivares de *Brachiaria brizantha* (Hochst.) Stapf.: ‘BRS Piatã’ (capim piatã), ‘Marandu’ (capim marandu) e Xaraés (capim xaraés); *Brachiaria humidicola* (Rendle.) Schweickerdt (humidícola); *Paspalum notatum* Flügge cv. pensacola (capim pensacola); dois cultivares de *Panicum maximum* Jacq.: ‘Aruana’ (capim Aruana) e ‘Tanzânia’ (capim Tanzânia); *Axonopus catharinensis* Valls (grama missioneira gigante); dois cultivares de *Cynodon dactylon* (L.) Pers.: ‘Jiggs’ (grama Jiggs) e ‘Tifton 85’ (grama Tifton 85); e *Hemarthria altissima* (Poir.) Stapf et C.E. Hubb cv. Florida (hemártria).

Para os capins piatã, marandu, xaraés, pensacola, Aruana e Tanzânia, e para humidícola, as mudas foram obtidas através da germinação de sementes não tratadas em caixas gerbox e câmaras do tipo BOD, de acordo com as regras para análise de sementes do MAPA (BRASIL, 2009). Já para as gramas missioneira gigante, Jiggs, Tifton 85, e para hemártria, as mudas foram produzidas através do desenvolvimento de propágulos de 5 cm (colmo contendo 1 nó) provenientes de plantas-mãe, em bandejas plásticas com areia sílica branca, por dez dias.

Após esse período, as mudas obtidas através da germinação de sementes também foram transferidas para bandejas plásticas com areia. Durante 10 dias, as bandejas foram irrigadas com solução nutritiva de Hoagland (ARNON; HOAGLAND, 1940) com 50% de força iônica e pH 5,5. Subsequentemente, as mudas foram transferidas para potes contendo solução nutritiva de Hoagland a 100% de força iônica e pH 5,5, permanecendo assim por mais 10 dias.

As unidades experimentais foram constituídas por potes de polipropileno de dois litros forrados com papel alumínio, contendo solução nutritiva de Hoagland a 100% de força iônica e pH 5,5, e três plantas, de acordo com a Figura 10.

Os tratamentos se consistiram em dois níveis de Cu na solução hidropônica: 0,3 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$, compondo um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 11 x 2. Cada tratamento foi constituído de três repetições.

Alíquotas de solução-estoque de Cu a 3200 $\mu\text{mol L}^{-1}$, preparada com nitrato de Cu ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$), foram adicionadas à solução nutritiva basal, resultando na concentração de 0,3 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Figura 10 — Aspecto geral do experimento com as 11 gramíneas forrageiras cultivadas em solução nutritiva com Cu em concentrações de 0,3 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2016.

A concentração de Cu de 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foi selecionada em experimento preliminar, no qual foi avaliado o efeito do aumento da concentração de Cu na solução nutritiva na taxa de crescimento da altura de colmo+pseudocolmo, durante 15 dias, para as mesmas gramíneas forrageiras utilizadas no experimento principal. Para se obter a taxa de crescimento da altura de colmo + pseudocolmo, foram tomadas medidas da altura de colmo + pseudocolmo de um dos perfis de cada unidade experimental. O cálculo da taxa de crescimento da altura de colmo + pseudocolmo (TCCP) foi realizado de acordo com a equação (1):

$$\text{TCCP} = (\text{altura de colmo +pseudocolmo final} - \text{inicial})/15 \quad (1)$$

Nesse experimento, foram testadas as doses de 0,3, 1, 5, 20 e 80 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu na solução nutritiva. O critério utilizado para a seleção foi a maior concentração de Cu na solução nutritiva em que houve redução de 50% da taxa de crescimento da altura de colmo+pseudocolmo (DC_{50}) dentre as 11 forrageiras avaliadas. Os valores de DC_{50} foram estimados através do ajuste de equações de regressão entre a concentração de Cu na solução nutritiva e àquela variável (ver Tabela 3). Esse experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições por tratamento. As unidades experimentais foram

constituídas de forma idêntica às do experimento principal, à exceção da idade das plantas, que era de 15 dias de crescimento.

Tabela 3 - Dose crítica de Cu na solução nutritiva para a redução de 50% (DC_{50}) da taxa de crescimento da altura de colmo+pseudocolmo de Aruana, hemártria, humidícola, Jiggs, marandu, missioneira gigante, pensacola, piatã, Tanzânia, Tifton-85 e xaraés cultivadas em solução nutritiva com doses crescentes de Cu.

Forrageira	Taxa de crescimento da altura de colmo+pseudocolmo (mm dia ⁻¹)			
	Equação de regressão	R ²	p	DC ₅₀ (μmol L ⁻¹)
Aruana	$Y = 5,31 * e^{(-0,09*x)}$	0,94	<0,001	8,06
Hemártria	$Y = 0,95 * e^{(-0,04*x)}$	0,99	<0,001	16,97
Humidícola	$Y = 3,12 * e^{(-0,013*x)}$	0,90	<0,01	5,12
Jiggs	$Y = 31,40 * e^{(-0,05*x)}$	0,96	<0,01	14,08
Marandu	$Y = 4,06 * e^{(-0,03*x)}$	0,85	<0,05	20,01
M.gigante	$Y = 3,40 * e^{(-0,04*x)}$	0,84	<0,05	14,23
Pensacola	$Y = 2,09 * e^{(-0,04*x)}$	0,95	<0,01	16,87
Piatã	$Y = 3,57 * e^{(-0,05*x)}$	0,95	<0,01	14,83
Tanzânia	$Y = 3,67 * e^{(-0,05*x)}$	0,97	<0,01	13,10
Tifton-85	$Y = 24,10 * e^{(-0,04*x)}$	0,84	<0,05	18,65
Xaraés	$Y = 6,24 * e^{(-0,04*x)}$	0,99	<0,001	18,39

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

Após a aplicação dos tratamentos no experimento principal, as plantas cresceram por um período de 30 dias. A solução nutritiva foi substituída em intervalos semanais, e o pH ajustado em intervalos de três dias. A oxigenação e o revolvimento da solução foram realizados através de sistema automático de aeração, três vezes ao dia.

Do 15º ao 30º dia, foram tomadas medidas da altura de colmo + pseudocolmo, altura estendida, comprimento da última folha expandida, comprimento da área senescente da primeira folha e do número de folhas vivas, em um dos perfis de cada unidade experimental. Com essas medidas, foram obtidas a taxa de crescimento do colmo+pseudocolmo, de acordo com a equação (1), e a taxa de crescimento da altura estendida (TCAE), a taxa de alongamento foliar (TALF), a taxa de aparecimento de folhas (TAPF) e a taxa de senescência foliar (TSF) por perfilho, de acordo com as equações (2) a (5):

$$\text{TCAE} = (\text{altura estendida final} - \text{inicial})/15 \quad (2)$$

$$\text{TALF} = (\text{somatório das diferenças do comprimento final} - \text{inicial das folhas em expansão})/\text{número de folhas}/15 \quad (3)$$

$$\text{TAPF} = (\text{número de folhas vivas final} - \text{inicial})/15 \quad (4)$$

$$\text{TSF} = (\text{comprimento da área senescente da primeira folha final} - \text{inicial})/15 \quad (5)$$

Aos 30 dias de crescimento, foram tomadas medidas do índice SPAD, de acordo com o descrito no item 3.2. Esta variável é altamente correlacionada com o teor de clorofila das folhas: valores próximos de 0 (zero) indicam baixa concentração, e próximos de 100 indicam alta concentração de clorofilas. As plantas foram então colhidas e lavadas com água desionizada.

As raízes foram distribuídas uniformemente em cuba de acrílico preenchida por lâmina de água destilada, sem sobreposição, e submetidas à digitalização em escâner profissional (Epson Expression 10000 XL, Epson America Inc., Long Beach, EUA). As imagens foram processadas através de programa computacional (WinRhizo™ Pro 2009, Regent Instruments, Montreal, Canadá). Dessa forma, foram obtidos o diâmetro médio de raízes e o comprimento total, área e volume de raízes, os quais divididos pelo número de perfis, resultaram no comprimento total, área e volume de raízes por perfil (CTR, AR e VR, respectivamente). As folhas foram destacadas dos colmos para que a área foliar por perfil fosse medida através de integrador de área foliar (LI-3000C, LI-COR, Lincoln, EUA), a qual também foi dividida pelo número de perfis, gerando a área foliar por perfil (AF).

As plantas foram então secas em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C durante 72 horas. Em balança de precisão (0,0001 g), foi determinada a massa seca de cada estrutura e total, as quais divididas pelo número de perfis, resultaram na massa seca de raízes, colmos, folhas e total por perfil (MSR, MSC, MCF, MST, respectivamente). O material seco em estufa foi processado em moinho tipo Wiley e tamisado em peneira de malha de 20 mesh.

Os dados de massa seca, área foliar, comprimento total, área e volume de raízes, foram utilizados para o cálculo da área foliar específica (AFE), densidade de raízes (DR), área radicular específica (ARE), densidade de comprimento de raízes (DCR), comprimento radicular específico (CRE), relação raiz:parte aérea (RPa) e relação folha:colmo (FC), de acordo com as equações (6) a (12).

$$AFE = AF / MSF \quad (6)$$

$$DR = MSR / VR \quad (7)$$

$$ARE = AR / MSR \quad (8)$$

$$DCR = CTR / VR \quad (9)$$

$$CRE = CTR / MSR \quad (10)$$

$$RPa = MSR / (MSC + MSF) \quad (11)$$

$$FC = MSF / MSC \quad (12)$$

Para acessar a concentração de Cu nas raízes e parte aérea das plantas, foi procedida a abertura de amostras através de digestão ácida assistida por forno micro-ondas, de acordo com descrito no item 3.2. A determinação foi realizada através de espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) (Optima® 8300, Perkin Elmer, Norwalk, EUA). A quantificação foi realizada em triplicata. Foram utilizadas oito provas em branco para a determinação do limite de detecção do instrumento, o qual correspondeu a $0,03 \text{ mg L}^{-1}$, para as três triplicatas. A confiabilidade do método analítico empregado para a determinação da concentração de Cu nas plantas foi definida em $100\pm5\%$, utilizando-se como referência a amostra SRM 1573a (folhas de tomate), certificada pela National Institute of Standards and Technology (NIST). Os valores recuperados da amostra referência encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4 - Valores recuperados pelo método utilizado na determinação da concentração de Cu nas amostras de tecido vegetal das forrageiras.

Amostra	Triplicata	Valor certificado (mg kg^{-1})	Valor recuperado (mg kg^{-1})	Recuperação (%)
SRM 1573a	1	4,70	4,48	95,21
	2	4,70	4,84	105,00
	3	4,70	4,66	99,05

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Com as concentrações de Cu nas raízes e parte aérea, foram calculados os fatores de translocação (FT) para o elemento-traço entre essas estruturas, de acordo com a equação (13):

$$FT = \text{Concentração de Cu na parte aérea} / \text{Concentração de Cu nas raízes} \quad (13)$$

Para todas as variáveis, os dados foram testados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk, e homogeneidade de variâncias pelo teste de Levenne. Para os dados de área foliar, área foliar específica, taxa de crescimento da altura estendida, taxa de expansão foliar, taxa de senescência, massa seca de raízes, colmos, folhas e total, área, comprimento total e volume radiculares, área radicular específica, densidade de raízes, concentração de Cu nas raízes e parte aérea, e fator de translocação de Cu, aplicou-se a transformação logarítmica, para atender as pressuposições da análise de variância. Em seguida, os dados foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas entre si pelo teste de Scott-Knott. Todas as análises foram efetuadas com o auxílio do programa R (R Development Core Team, 2016), considerando-se $p < 0,05$.

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.5.1 Efeito do Cu às raízes das forrageiras

Houve interação entre as forrageiras e os níveis de Cu na solução para a área, comprimento total e volume radicular por perfilho (ver Tabela 5). O aumento da concentração do elemento-traço na solução nutritiva aumentou a área radicular para marandu, piatã, Tifton-85 e xaraés, equivalente a 65, 155, 77 e 106%, e reduziu para hemártria e Jiggs de 55 e 7%, respectivamente (ver Tabela 5). Não houve diferença significativa para Aruana, humidícola, missioneira gigante, pensacola e Tanzânia (ver Tabela 5). Em relação ao comprimento total radicular, o aumento ocorreu para marandu, piatã, Tanzânia, Tifton-85 e xaraés, com 51, 192, 49, 96 e 55%, respectivamente, e a redução para hemártria e Jiggs, com 54 e 39%; não houve alteração para Aruana, humidícola, missioneira gigante e pensacola (ver Tabela 5). O volume radicular aumentou para marandu, piatã, Tifton-85 e xaraés em 33, 112, 59 e 73% e reduziu para hemártria, humidícola e Jiggs, em 52, 47 e 53 % (ver Tabela 5). Não houve diferença entre os tratamentos para Aruana, missioneira gigante, pensacola e Tanzânia (ver Tabela 5).

Tabela 5 - Área, comprimento total e volume radicular por perfilho de plantas de Aruana, hemártria, humidícola, Jiggs, marandu, missioneira gigante, pensacola, piatã, Tanzânia, Tifton-85 e xaraés cultivadas em solução nutritiva com Cu em concentrações de 0,3 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Forrageira	Área radicular perfilho ⁻¹ (cm^2)			Comprimento total radicular perfilho ⁻¹ (cm)			Volume radicular perfilho ⁻¹ (cm^3)		
	0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$	20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	Média	0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$	20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	Média	0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$	20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	Média
Aruana	105,28 A	117,05 B	111,17 ^{ns}	1047,84 A	1151,76 B	1099,80 ^{ns}	842,52 B	951,53 C	897,02 ^{ns}
Hemártria	16,96 C	7,67 E	12,31*	171,09 E	78,13 E	124,61*	126,23 H	60,06 F	93,15*
Humidícola	11,57 D	8,51 E	10,04 ^{ns}	414,90 C	401,08 D	407,99 ^{ns}	256,55 F	137,11 E	196,83*
Jiggs	51,57 B	27,50 D	39,54*	573,60 B	349,28 D	461,44*	370,83 E	172,87 E	271,85*
Marandu	75,24 B	123,93 B	99,59*	979,53 A	1482,32 B	1230,92*	463,33 D	617,25 D	540,29*
M.gigante	74,81 B	63,42 C	69,12 ^{ns}	728,84 B	602,98 C	665,91 ^{ns}	612,83 C	530,24 D	571,53 ^{ns}
Pensacola	23,91 C	22,51 D	23,21 ^{ns}	258,88 D	276,91 D	267,89 ^{ns}	169,95 G	154,55 E	162,25 ^{ns}
Piatã	65,52 B	166,92 A	116,22*	658,04 B	1919,43 A	1288,73*	557,40 D	1183,00 B	870,20*
Tanzânia	143,94 A	184,11A	164,03 ^{ns}	992,67 A	1474,54 B	1233,60*	1660,98 A	1945,13 A	1803,05 ^{ns}
Tifton-85	65,03 B	115,17 B	90,10*	639,56 B	1254,29 B	946,92*	531,21 D	842,37 C	686,79*
Xaraés	83,64 B	172,38 A	128,01*	745,02 B	1901,09 A	1323,05*	748,58 B	1296,03 B	1022,30*
Média	65,22	91,74		655,45	990,16		576,40	717,28	
CV (%)	5,27			2,98			2,47		

Letras comparam gramíneas forrageiras dentro de mesma concentração de Cu. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si. *: significativo a 5% e ^{ns}: não-significativo a 5% pelo teste F, entre concentrações de Cu dentro da mesma gramínea forrageira. CV: Coeficiente de variação. Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Ocorreu interação entre as forrageiras e os níveis de Cu na solução para a densidade e diâmetro médio de raízes (ver Tabela 6). O aumento da concentração do elemento-traço na solução nutritiva ocasionou aumento na densidade de raízes para Jiggs e missioneira gigante equivalente a 166 e 70%, e redução para piatã e xaraés de 55 e 52%, respectivamente (ver Tabela 6). Não houve diferença significativa para Aruana, hemártria, humidícola, marandu, pensacola, Tanzânia e Tifton-85 (ver Tabela 6). Em relação ao diâmetro médio de raízes, houve redução para humidícola, Jiggs, piatã, Tanzânia, Tifton-85 e xaraés, de 22, 13, 22, 23, 11 e 21%, respectivamente (ver Tabela 6). Não houve diferença entre os tratamentos para Aruana, hemártria, marandu, missioneira gigante e pensacola (ver Tabela 6).

Tabela 6 - Densidade e diâmetro médio de raízes de plantas de Aruana, hemártria, humidícola, Jiggs, marandu, missioneira gigante, pensacola, piatã, Tanzânia, Tifton-85 e xaraés cultivadas em solução nutritiva com Cu em concentrações de 0,3 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Forrageira	Densidade de raízes (g dm^{-3})			Diâmetro médio de raízes (mm)		
	0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$	20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	Média	0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$	20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	Média
Aruana	0,13 C	0,19 C	0,16 ^{ns}	0,32 C	0,33 A	0,32 ^{ns}
Hemártria	0,14 C	0,18 C	0,16 ^{ns}	0,33 C	0,31 A	0,32 ^{ns}
Humidícola	0,14 C	0,14 C	0,14 ^{ns}	0,29 D	0,23 C	0,26*
Jiggs	0,42 A	1,12 A	0,77*	0,29 D	0,25 C	0,27*
Marandu	0,18 C	0,20 C	0,19 ^{ns}	0,25 E	0,22 C	0,23 ^{ns}
M. gigante	0,18 C	0,31 B	0,24*	0,32 C	0,34 A	0,33 ^{ns}
Pensacola	0,14 C	0,14 C	0,14 ^{ns}	0,29 D	0,28 B	0,29 ^{ns}
Piatã	0,22 C	0,10 C	0,16*	0,38 B	0,30 B	0,34*
Tanzânia	0,20 C	0,20 C	0,20 ^{ns}	0,46 A	0,35 A	0,41*
Tifton-85	0,28 B	0,29 B	0,28 ^{ns}	0,33 C	0,29 B	0,31*
Xaraés	0,39 A	0,19 C	0,29*	0,36 B	0,28 B	0,32*
Média	0,22	0,28		0,33	0,29	
CV (%)	6,30			6,38		

Letras comparam gramíneas forrageiras dentro de mesma concentração de Cu. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si. *: significativo a 5% e ^{ns}: não-significativo a 5% pelo teste F, entre concentrações de Cu dentro da mesma gramínea forrageira. CV: Coeficiente de variação. Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Também houve interação entre as forrageiras e os níveis de Cu na solução para a área radicular específica, comprimento radicular específico e densidade de comprimento de raízes (ver Tabela 7). O aumento da concentração do elemento-traço na solução nutritiva ocasionou aumento na área radicular específica para piatã e xaraés, equivalente a 107 e 154%, respectivamente, e redução para Aruana, Jiggs e missioneira gigante de 36, 52 e 40% (ver Tabela 7). Não houve diferença significativa para hemártria, humidícola, marandu, pensacola, Tanzânia e Tifton-85 (ver Tabela 7). Em relação ao comprimento radicular específico, o aumento ocorreu para humidícola, piatã e xaraés, com 56, 181 e 208%, respectivamente, e a redução para Aruana, de 37%; não houve alteração para hemártria, Jiggs, marandu, missioneira gigante, pensacola, Tanzânia e Tifton-85 (ver Tabela 7). A densidade de comprimento de raízes aumentou para humidícola, Jiggs, piatã, e xaraés em 77, 31, 35 e 48% (ver Tabela 7). Não houve diferença entre os tratamentos para Aruana, hemártria, marandu, missioneira gigante, pensacola, Tanzânia e Tifton-85 (ver Tabela 7).

Tabela 7 - Área radicular específica, comprimento radicular específico e densidade de comprimento de raízes de plantas de Aruana, hemártria, humidícola, Jiggs, marandu, missioneira gigante, pensacola, piatã, Tanzânia, Tifton-85 e xaraés cultivadas em solução nutritiva com Cu em concentrações de 0,3 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Forrageira	Área radicular específica ($\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$)			Comprimento radicular específico (cm g^{-1})			Densidade de comprimento de raízes (cm cm^{-3})		
	0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$	20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	Média	0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$	20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	Média	0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$	20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	Média
Aruana	1022,12 A	656,91 B	839,52*	10198,42 A	6469,14 C	8333,78*	1,24 C	1,22 D	1,23 ns
Hemártria	988,92 A	711,81 B	850,36 ns	9942,74 A	7194,56 C	8568,65 ns	1,37 C	1,30 D	1,33 ns
Humidícola	319,01 C	380,62 C	349,82 ns	11519,34 A	17927,08 A	14723,21*	1,65 B	2,92 A	2,28*
Jiggs	334,22 C	161,86 D	248,04*	3734,95 B	1906,53 D	2820,74 ns	1,57B	2,06 B	1,81*
Marandu	960,83 A	1024,39 A	992,61 ns	12519,81 A	12218,52 B	12369,16 ns	2,11 A	2,41 B	2,26 ns
M. gigante	674,85 A	402,06 C	538,46*	6590,34 B	3815,42 D	5202,88 ns	1,20 C	1,14 D	1,17 ns
Pensacola	1026,08 A	1081,07 A	1053,58 ns	11079,79 A	13247,99 B	12163,89 ns	1,51 B	1,80 C	1,65 ns
Piatã	580,20 B	1201,70 A	890,95*	5837,01 B	16395,35 A	11116,18*	1,21 C	1,62 C	1,42*
Tanzânia	439,96 B	492,49 C	466,23 ns	3033,88 B	3937,16 D	3485,52 ns	0,60 D	0,76 E	0,68 ns
Tifton-85	440,63 B	482,46 C	461,54 ns	4323,99 B	5246,69 C	4785,34 ns	1,20 C	1,48 C	1,34 ns
Xaraés	285,34 C	724,96 B	505,15*	2540,33 B	7832,26 C	5186,30*	1,00 C	1,47 C	1,23*
Média	642,92	665,49		7392,78	8744,61		1,33	1,65	
CV (%)	3,76			16,01				23,13	

Letras comparam gramíneas forrageiras dentro de mesma concentração de Cu. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si. *: significativo a 5% e ns: não-significativo a 5% pelo teste F, entre concentrações de Cu dentro da mesma gramínea forrageira. CV: Coeficiente de variação. Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

O Cu tem a habilidade de induzir e iniciar a peroxidação lipídica através da produção de radicais de oxigênio, principalmente radicais hidroxila, tais como o H_2O_2 (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1984). Em concentrações tóxicas, o aumento da concentração de H_2O_2 nas raízes provoca o aumento da atividade das enzimas peroxidases e laccases, o que aumenta a síntese de lignina nas paredes celulares (LIN; CHEN; LIU, 2005). A lignificação das raízes, induzida pelos efeitos tóxicos do Cu pode provocar o espessamento de tecidos e a redução do comprimento de raízes primárias e secundárias (FEIGL et al., 2013). Isso explica a redução de área, comprimento total e volume radicular para Jiggs e hemártria, e de volume para humidícola. O espessamento dos tecidos radiculares pode ter contribuído para o aumento da densidade e redução da área específica das raízes de Jiggs e missioneira gigante.

A redução do diâmetro médio com concomitante aumento do comprimento total radicular para piatã, Tanzânia, Tifton-85 e xaraés pode configurar um aumento do número de raízes laterais, mais finas que as principais, mecanismo que pode ser induzido pela exposição das raízes das plantas ao Cu sob concentrações de até 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em solução nutritiva (LEQUEUX et al., 2010). Isso resultou em aumentos para área radicular, volume radicular, comprimento radicular específico, área radicular específica ou densidade de comprimento de

raízes para essas gramíneas forrageiras, à exceção da Tanzânia. Para Marandu, o aumento do comprimento total radicular pode ter sido responsável pelos aumentos área e volume radicular.

Plantas podem alterar a área e o comprimento radicular específico em função do status nutricional do solo. Maiores valores estão relacionados a maiores absorções de água e nutrientes. (DANDAN et al., 2017). Para hemártria e Jiggs, as reduções observadas para essas variáveis sugerem uma tentativa de redução da absorção da solução nutritiva em função dos efeitos tóxicos do Cu. Já os aumentos dessas variáveis para marandu, piatã, Tifton-85 e xaraés sugerem efeito foi o contrário.

4.5.2 Efeito do Cu à parte aérea das forrageiras

Houve interação entre as forrageiras e os níveis de Cu na solução nutritiva para a taxa de crescimento da altura de colmo+pseudocolmo e da altura estendida das plantas (ver Tabela 8).

Tabela 8 - Taxa de crescimento da altura de colmo + pseudocolmo e taxa de crescimento da altura estendida de plantas de Aruana, hemártria, humidícola, Jiggs, marandu, missioneira gigante, pensacola, piatã, Tanzânia, Tifton-85 e xaraés cultivadas em solução nutritiva com Cu em concentrações de 0,3 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Forrageira	Taxa de crescimento da altura de colmo + pseudocolmo (mm dia^{-1})			Taxa de crescimento da altura estendida (mm dia^{-1})		
	0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$		Média	0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$		Média
	$\mu\text{mol L}^{-1}$	$\mu\text{mol L}^{-1}$		$\mu\text{mol L}^{-1}$	$\mu\text{mol L}^{-1}$	
Aruana	14,82 C	20,51 A	17,66*	26,52 A	27,82 A	27,17 ns
Hemártria	0,84 H	0,70 F	0,77 ns	8,63 C	5,85 D	7,24*
Humidícola	17,34 B	8,12 D	12,73*	17,33 B	8,18 C	12,75*
Jiggs	7,93 E	11,46 C	9,69*	5,88 D	11,93 B	8,91*
Marandu	4,00 G	5,39 E	4,70 ns	14,37 B	17,61 A	15,99 ns
M.gigante	21,25 A	16,12 B	18,69*	22,76 A	20,48 A	21,62 ns
Pensacola	1,78 H	1,48 F	1,63 ns	10,00 C	9,24 C	9,62 ns
Piatã	5,80 F	8,81 D	7,30*	14,64 B	23,68 A	19,16*
Tanzânia	8,07 E	8,31 D	8,19 ns	31,87 A	21,50 A	26,68*
Tifton-85	8,84 E	8,88 D	8,86 ns	7,17 D	6,21 D	6,69 ns
Xaraés	10,71 D	2,42 F	6,57*	28,67 A	19,79 A	24,23*
Média	9,22	8,38		17,08	15,66	
CV (%)	15,11			6,76		

Letras comparam gramíneas forrageiras dentro de mesma concentração de Cu. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si. *: significativo a 5% e ns: não-significativo a 5% pelo teste F, entre concentrações de Cu dentro da mesma gramínea forrageira. CV: Coeficiente de variação. Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

O aumento da concentração do elemento-traço na solução nutritiva ocasionou o aumento da taxa de crescimento de colmo+pseudocolmo para Aruana, Jiggs e piatã, com 38, 45 e 52%, e a redução para humidícola, missioneira gigante e xaraés com 53, 24 e 87%; não houve alteração para hemártria, marandu, pensacola, Tanzânia e Tifton-85 (ver Tabela 8). Em relação à taxa de crescimento da altura estendida, houve aumento para Jiggs e piatã, equivalente a 103 e 62%, e redução para hemártria, humidícola, Tanzânia e xaraés de 32, 53, 33 e 31%, respectivamente (ver Tabela 8). Não houve diferença significativa para Aruana, marandu, missioneira gigante, pensacola e Tifton-85 (ver Tabela 8).

Ocorreu interação entre as forrageiras e os níveis de Cu na solução para a taxa de aparecimento de folhas, taxa de expansão e de senescência foliar. O aumento da concentração do elemento-traço na solução nutritiva ocasionou aumento na taxa de aparecimento de folhas para Aruana, equivalente a 50%, e redução para humidícola e missioneira gigante de 54 e 38%, respectivamente (ver Tabela 9). Não houve diferença significativa para hemártria, Jiggs, marandu, pensacola, piatã, Tanzânia, Tifton-85 e xaraés (ver Tabela 9).

Tabela 9 - Taxa de aparecimento de folhas, taxa de expansão foliar e taxa de senescência foliar de plantas de Aruana, hemártria, humidícola, Jiggs, marandu, missioneira gigante, pensacola, piatã, Tanzânia, Tifton-85 e xaraés cultivadas em solução nutritiva com Cu em concentrações de 0,3 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Forrageira	Taxa de aparecimento de folhas (folhas dia^{-1})			Taxa de expansão foliar (mm dia^{-1})			Taxa de senescência foliar (mm dia^{-1})		
	0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$	20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	Média	0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$	20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	Média	0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$	20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	Média
	0,12 C	0,18 C	0,15*	60,74 A	51,78 A	56,26*	0,02 C	0,04 E	0,03 ns
Hemártria	0,16 B	0,14 D	0,15 ns	11,97 G	8,74 G	10,36*	0,02 C	0,01 E	0,01 ns
Humidícola	0,18 B	0,08 E	0,13*	33,28 D	22,97 D	28,13*	0,02 C	0,35 B	0,18*
Jiggs	0,42 A	0,43 A	0,42 ns	12,97 G	13,90 F	13,44 ns	0,01 C	0,10 D	0,06*
Marandu	0,10 C	0,07 E	0,08 ns	38,63 C	37,55 C	38,09 ns	0,20 A	0,22 C	0,21 ns
M. gigante	0,39 A	0,24 B	0,32*	17,06 F	22,06 D	19,56*	0,09 B	0,02 E	0,05*
Pensacola	0,21 B	0,24 B	0,23 ns	16,02 F	17,43 E	16,73 ns	0,01 C	0,03 E	0,02 ns
Piatã	0,16 B	0,17 C	0,16 ns	28,93 E	35,26 C	32,10*	0,03 C	0,63 A	0,33*
Tanzânia	0,14 B	0,17 C	0,16 ns	67,70 A	57,64 A	62,67*	0,07 B	0,64 A	0,36*
Tifton-85	0,43 A	0,38 A	0,41 ns	10,78 H	13,31 F	12,04*	0,10 B	0,15 D	0,12 ns
Xaraés	0,11 C	0,11 D	0,11 ns	51,70 B	45,82 B	48,76 ns	0,01 C	0,19 C	0,10*
Média	0,22	0,20		31,80	29,68		0,05	0,22	
CV (%)	16,32			2,23			5,25		

Letras comparam gramíneas forrageiras dentro de mesma concentração de Cu. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si. *: significativo a 5% e ns: não-significativo a 5% pelo teste F, entre concentrações de Cu dentro da mesma gramínea forrageira. CV: Coeficiente de variação. Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Em relação à taxa de expansão foliar, o aumento ocorreu para missioneira gigante, piatã e Tifton-85 com 29, 22, 23%, e a redução para Aruana, hemártria, humidícola e Tanzânia, com 15, 27, 31 e 15%; não houve alteração para Jiggs, marandu, pensacola e xaraés (ver Tabela 9). A taxa de senescência foliar aumentou para humidícola, Jiggs, piatã, Tanzânia e xaraés em 22, 11, 20, 9 e 15 vezes e reduziu em 6 vezes para missioneira gigante (ver Tabela 9). Não houve diferença entre os tratamentos para Aruana, hemártria, marandu, pensacola e Tifton-85 (ver Tabela 9).

Houve interação entre as forrageiras e os níveis de Cu na solução para a área foliar por perfilho, área foliar específica e índice SPAD das plantas (ver Tabela 10). O aumento da concentração do elemento-traço na solução nutritiva ocasionou aumento na área foliar para marandu, piatã e xaraés equivalente a 73, 68 e 30%, e redução para hemártria, humidícola, Jiggs e missioneira gigante de 55, 42, 38 e 17%, respectivamente (ver Tabela 10). Não houve diferença significativa para Aruana, Pensacola, Tanzânia e Tifton-85 (ver Tabela 10).

Tabela 10 - Área foliar por perfilho, área foliar específica e índice SPAD de plantas de Aruana, hemártria, humidícola, Jiggs, marandu, missioneira gigante, pensacola, piatã, Tanzânia, Tifton-85 e xaraés cultivadas em solução nutritiva com Cu em concentrações de 0,3 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Forrageira	Área foliar perfilho ⁻¹ (cm^2)			Área foliar específica ($\text{cm}^2 \text{ g}^{-1}$)			Índice SPAD		
	0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$	20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	Média	0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$	20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	Média	0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$	20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	Média
Aruana	153,05 C	173,07 B	163,06 ns	220,86 C	206,75 D	213,81 ns	22,00 E	20,00 D	21,00 ns
Hemártria	22,30 I	9,99 G	16,15*	438,62 A	280,94 C	359,78*	29,63 D	31,10 C	30,37 ns
Humidícola	80,70 E	46,83 D	63,77*	269,24 B	457,20 A	363,22*	27,63 D	11,77 E	19,70*
Jiggs	49,92 G	35,89 E	42,91*	53,02 F	40,04 F	46,53*	30,10 D	22,97 E	26,53*
Marandu	63,80 F	110,61 C	87,20*	167,48 D	214,26 D	190,87*	26,97 D	11,77 E	19,37*
M. gigante	142,41 C	117,74 C	130,08*	287,85 B	180,10 D	233,98*	41,90 A	46,30 A	44,10*
Pensacola	32,16 H	28,10 F	30,13*	390,33 A	354,58 B	372,45 ns	21,07 E	27,83 D	24,45*
Piatã	104,94 D	176,31B	140,63*	153,37 D	207,86 D	180,61*	31,80 D	44,50 A	38,15*
Tanzânia	236,39 A	245,44 A	240,91 ns	146,12 D	152,48 E	149,30 ns	29,57 D	38,45 B	34,01*
Tifton-85	109,66 D	125,42 C	117,54 ns	113,93 E	133,70 E	123,81 ns	33,27 C	31,40 C	32,33 ns
Xaraés	198,34 B	257,54 A	227,94*	125,73 E	207,35 D	166,54*	38,03 B	22,30 D	30,17*
Média	108,52	120,63		215,14	221,39		30,18	28,03	
CV (%)	2,1			1,92			7,21		

Letras comparam gramíneas forrageiras dentro de mesma concentração de Cu. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si. *: significativo a 5% e ns: não-significativo a 5% pelo teste F, entre concentrações de Cu dentro da mesma gramínea forrageira. CV: Coeficiente de variação. Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Em relação à área foliar específica, o aumento ocorreu para humidícola, marandu, piatã e xaraés com 70, 28, 36 e 65%, e a redução para hemártria, Jiggs e missioneira gigante, com

36, 25 e 37%; não houve alteração para Aruana, pensacola, Tanzânia e Tifton-85 (ver Tabela 10). O índice SPAD aumentou para missioneira gigante, pensacola, piatã e Tanzânia com 10, 32, 40 e 30%, e reduziu para humidícola, Jiggs, marandu e xaraés com 57, 24, 56 e 41% (ver Tabela 10). Não houve diferença entre os tratamentos para Aruana, hemártria e Tifton-85 (ver Tabela 10).

Alterações na taxa de crescimento da altura de colmo + pseudocolmo para Aruana, humidícola, Jiggs, missioneira gigante e xaraés, na taxa de aparecimento de folhas para humidícola, marandu, missioneira gigante e Aruana, bem como na expansão foliar para Aruana, hemártria, humidícola, missioneira gigante, piatã, Tanzânia e Tifton-85, podem estar ligados à essencialidade do elemento-traço e efeitos positivos aos processos de fotossíntese, respiração, síntese e atividade de proteínas e enzimas, bem como na perturbação desses processos, quando em concentrações tóxicas nas plantas (YRUELA, 2009).

A redução da taxa de crescimento da altura de colmo+pseudocolmo, tal como para humidícola e xaraés, e da taxa de expansão foliar, tal como para hemártria, humidícola e Tanzânia, pode ser ainda devida ao fato de que o excesso de Cu pode provocar a lignificação das paredes celulares de tecidos vegetais (LIN; CHEN; LIU, 2005), reduzindo o comprimento de partes das plantas (FEIGL et al., 2013).

De acordo com MURPHY et al. (1999), níveis tóxicos de Cu podem provocar a peroxidação lipídica, resultando em danos às membranas plasmáticas capazes de reduzir a absorção e translocação de K nas plantas, reduzindo o potencial osmótico e, consequentemente, diminuindo a expansão de células.

O Cu também pode afetar negativamente a organização dos centrômeros, um dos passos da mitose celular, reduzindo a divisão das células. Isso pode também ter influenciado na redução do aparecimento de folhas para humidícola, marandu e missioneira gigante (FRY; MILLER; DUMVILLE, 2002; PANOU-FILOTHEOU; BOSABALIDIS, 2004). Outro efeito do Cu nas folhas é o distúrbio na hidrólise do amido e inibição do transporte de carboidratos solúveis dentro das plantas, o que acarreta na redução do comprimento foliar (GASECKA et al., 2012).

A redução da taxa de crescimento da altura estendida para hemártria foi resultado da redução da taxa de expansão foliar e, para missioneira gigante e xaraés, devido a redução da taxa de crescimento de colmo+pseudocolmo. Para a humidícola, tanto a redução da taxa de expansão foliar quanto do crescimento de colmo+pseudocolmo contribuíram para o efeito. Para Jiggs, o aumento da taxa de crescimento de colmo+pseudocolmo provocou o incremento na

taxa de crescimento da altura estendida. Já para piatã, tanto o aumento da taxa de crescimento de colmo+pseudocolmo e de expansão foliar contribuíram para o aumento daquela variável.

A redução da área foliar das plantas de humidícola foi devido a redução da taxa de expansão e de aparecimento de folhas. Para a hemártria, a redução da taxa de expansão foliar foi responsável por reduzir a área foliar das plantas. Apesar do aumento da taxa de expansão, a missioneira gigante teve uma menor taxa de aparecimento de folhas, o que contribuiu para reduzir a área foliar. Jiggs reduziu a área foliar mesmo que não tenha havido redução das taxas de expansão e aparecimento de folhas. O aumento da área foliar das plantas ocorreu para piatã em função do incremento da taxa de extensão foliar, e para xaraés e marandu, mesmo sem ter havido incremento de ambas as variáveis.

A redução do índice SPAD observada nas folhas de humidícola, Jiggs, marandu, e xaraés, pode estar associada à redução do tamanho das células dos parênquimas clorofílianios do mesófilo foliar induzida pelo Cu, ou pelo colapso das células desses parênquimas devido à sensibilidade à toxicidade de elementos-traço (SRIDHAR et al., 2005; GOMES et al., 2011). Além disso, a clorose foliar está intimamente associada com alterações morfológicas e fisiológicas nos cloroplastos; segundo Yruela (2013), o Cu pode provocar a alteração da estrutura e da composição das membranas tilacoides dessa organela.

O Cu, em excesso nas folhas, provoca redução da biossíntese de clorofilas e causa danos à sua estrutura e função. Essas alterações podem estar relacionadas à deficiência induzida de Fe, à substituição do Mg na molécula central do pigmento e à degradação de pigmentos causada por espécies reativas ao oxigênio induzida pelo estresse ao elemento-traço (PÄTSIKKÄ et al., 2002; KÜPPER; KRONECK, 2005; YRUELA, 2013).

No entanto, para missioneira gigante, pensacola, piatã e Tanzânia, houve aumento do índice SPAD. Isso pode ter ocorrido devido ao aumento da concentração de clorofila nas folhas, uma vez que o Cu é essencial à síntese de plastocianina, proteína responsável pela transferência de elétrons entre as clorofilas dos centros de reação do PSII e PSI (TAIZ; ZEIGER, 2010; YRUELA, 2013). Esse efeito foi mais pronunciado para a missioneira gigante, que além de ter o índice SPAD aumentado, reduziu a taxa de senescência foliar.

Apesar do aumento do índice SPAD, piatã e Tanzânia tiveram aceleração da taxa de senescência das folhas. Já para humidícola, Jiggs e xaraés, foi observado redução do índice SPAD com a concomitante elevação da taxa de senescência. O aumento da taxa de senescência pode ter ocorrido devido à peroxidação lipídica de membranas de organelas celulares, ou pela redução da atividade da glutationa redutase, com danos às clorofilas e ao aparato fotossintético.

O elemento-traço também pode ter provocado aumento da síntese de etileno e ácido abscísico, que aceleraram a senescência foliar (MALEA, 1994; CHEN; KAO, 1999; YRUELA, 2009).

O aumento da área foliar específica nas plantas de humidícola, marandu e xaraés expostas ao Cu pode ter ocorrido devido ao afilamento da lâmina foliar, através da diminuição do tamanho das células do mesófilo e dos espaços intercelulares, bem como da espessura da epiderme, ou pelo colapso das células dos parênquimas clorofílianios provocado pela exposição a elementos-traço (SRIDHAR et al., 2005; SÁNCHEZ-PARDO; FERNÁNDEZ-PASCUAL; ZORNOZA, 2014). Esse efeito, aliado à redução do índice SPAD e ao aumento da taxa de senescência para humidícola e xarás, foram reflexos do efeito negativo do Cu a essas forrageiras.

A redução da área foliar específica para Jiggs pode ter sido causada pelo aumento do número de células da endoderme e/ou do espessamento do esclerênquima e periciclo do feixe vascular, com o objetivo de reduzir a translocação do Cu aos parênquimas clorofílianios, prevenindo possíveis danos ao sistema de fixação primário de CO₂ (GOMES et al., 2011). O fato de que tal estratégia não tenha evitado a redução do índice SPAD, associado ao aumento da taxa de senescência das folhas, ressaltam o efeito negativo do elemento-traço nos tecidos foliares dessa forrageira. Para a hemártria, apesar da redução da área foliar específica, não houve redução do índice SPAD e aceleração da senescência.

A redução da área foliar específica concomitante ao aumento do índice SPAD das folhas, para missioneira gigante, confirmaram o efeito benéfico do Cu a esta forrageira às plantas.

Ademais, as alterações da área foliar e área foliar específica provocadas pelo Cu podem estar ligadas à regulação da transpiração das folhas, um dos mecanismos de transporte do elemento-traço nas plantas (ANDO et al., 2013).

4.5.3 Efeito do Cu à massa seca das forrageiras

Ocorreu interação entre as forrageiras e os níveis de Cu na solução para a massa seca de raízes, colmos e folhas por perfilho (ver Tabela 11). O aumento da concentração do elemento-traço na solução nutritiva ocasionou aumento na produção de massa seca de raízes para Aruana, marandu, missioneira gigante e Tifton-85, equivalente a 68, 49, 45 e 59%, respectivamente, e redução para xaraés de 17% (ver Tabela 11). Não houve diferença significativa para hemártria, humidícola, Jiggs, pensacola, piatã e Tanzânia (ver Tabela 11). Em relação à massa seca de colmos, o aumento ocorreu para Jiggs, piatã, Tifton-85 e xaraés, com 43, 60, 72 e 34%, e a

redução para hemártria e humidícola, com 47 e 52%; não houve alteração para Aruana, marandu, missioneira gigante, pensacola e Tanzânia (ver Tabela 11).

Tabela 11 - Massa seca raízes, colmos e folhas por perfilho de plantas de Aruana, hemártria, humidícola, Jiggs, marandu, missioneira gigante, pensacola, piatã, Tanzânia, Tifton-85 e xaraés cultivadas em solução nutritiva com Cu em concentrações de 0,3 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Forrageira	Massa seca de raízes perfilho ⁻¹ (g)			Massa seca de colmos perfilho ⁻¹ (g)			Massa seca de folhas perfilho ⁻¹ (g)		
	0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$		Média	0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$		Média	0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$		Média
	20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	20 $\mu\text{mol L}^{-1}$		$\mu\text{mol L}^{-1}$	20 $\mu\text{mol L}^{-1}$		$\mu\text{mol L}^{-1}$	20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	
Aruana	0,11 D	0,18 C	0,14*	0,43 C	0,52 B	0,48 ns	0,69 C	0,84 C	0,77*
Hemártria	0,02 E	0,01 E	0,01 ns	0,12 E	0,06 D	0,09*	0,05 F	0,03 F	0,04 ns
Humidícola	0,04 E	0,02 E	0,03 ns	0,22 D	0,10 D	0,16*	0,30 E	0,10 F	0,20*
Jiggs	0,15 C	0,17 C	0,16 ns	0,68 B	0,98 A	0,83*	0,94 B	0,91 C	0,93 ns
Marandu	0,08 D	0,12 D	0,10*	0,22 D	0,30 C	0,26 ns	0,38 D	0,52 E	0,45*
M. gigante	0,11 D	0,16 C	0,14*	0,16 E	0,22 C	0,19 ns	0,49 D	0,65 D	0,57*
Pensacola	0,02 E	0,02 E	0,02 ns	0,06 F	0,06 D	0,06 ns	0,08 F	0,08 F	0,08 ns
Piatã	0,11 D	0,14 D	0,13 ns	0,30 D	0,48 B	0,39*	0,69 C	0,85 C	0,77*
Tanzânia	0,36 A	0,38 A	0,37 ns	1,00 A	0,96 A	0,98 ns	1,64 A	1,61 A	1,62 ns
Tifton-85	0,15 C	0,24 B	0,19*	0,52 C	0,89 A	0,70*	0,96 B	0,94 C	0,95 ns
Xaraés	0,29 B	0,24 B	0,27*	0,66 B	0,89 A	0,77*	1,58 A	1,26 B	1,42*
Média	0,13	0,15		0,40	0,50		0,71	0,71	
CV (%)	2,79			4,5			4,63		

Letras comparam gramíneas forrageiras dentro de mesma concentração de Cu. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si. *: significativo a 5% e ns: não-significativo a 5% pelo teste F, entre concentrações de Cu dentro da mesma gramínea forrageira. CV: Coeficiente de variação. Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

A produção de massa seca de folhas aumentou para Aruana, marandu, missioneira gigante e piatã em 21, 36, 32 e 24% e reduziu para humidícola e xaraés em 65 e 21% (ver Tabela 11). Não houve diferença entre os tratamentos para hemártria, Jiggs, pensacola, Tanzânia e Tifton-85 (ver Tabela 11).

Houve interação entre as forrageiras e os níveis de Cu na solução para a massa seca total por perfilho (ver Tabela 12). O aumento da concentração do elemento-traço na solução nutritiva ocasionou aumento para Aruana, missioneira gigante e Tifton-85, equivalente a 28, 35 e 27%, respectivamente, e redução para hemártria e humidícola, de 43 e 58% (ver Tabela 12). Não houve diferença significativa para Jiggs, marandu, pensacola, piatã, Tanzânia e xaraés (ver Tabela 12).

Tabela 12 - Massa seca total de plantas de Aruana, hemártria, humidícola, Jiggs, marandu, missioneira gigante, pensacola, piatã, Tanzânia, Tifton-85 e xaraés cultivadas em solução nutritiva com Cu em concentrações de 0,3 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Forrageira	Massa seca total perfilho ⁻¹ (g)		
	0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$	20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	Média
Aruana	1,20 D	1,54 D	1,37*
Hemártria	0,18 F	0,10 F	0,14*
Humidícola	0,55 E	0,23 F	0,39*
Jiggs	1,78 C	2,06 C	1,92 ^{ns}
Marandu	0,68 E	0,93 E	0,76 ^{ns}
M. gigante	0,76 E	1,03 E	0,90*
Pensacola	0,16 F	0,16 F	0,16 ^{ns}
Piatã	1,10 D	1,47 D	1,25 ^{ns}
Tanzânia	3,00 A	2,95 A	2,97 ^{ns}
Tifton-85	1,63 C	2,07 C	1,85*
Xaraés	2,54 B	2,39 B	2,46 ^{ns}
Média	1,24	1,34	
CV (%)		5,24	

Letras comparam gramíneas forrageiras dentro de mesma concentração de Cu. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si. *: significativo a 5% e ^{ns}: não-significativo a 5% pelo teste F, entre concentrações de Cu dentro da mesma gramínea forrageira. CV: Coeficiente de variação. Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Não ocorreu interação entre as forrageiras e os tratamentos para os resultados de raiz:parte aérea (ver Tabela 13). O teste de médias identificou diferença significativa apenas entre as forrageiras, mas não para os tratamentos aplicados (ver Tabela 13). Todavia, houve interação para a relação folha colmo, a qual reduziu para humidícola, Jiggs, piatã, Tifton-85 e xaraés em 24, 33, 24, 43 e 41%, respectivamente (ver Tabela 13). Não houve diferença entre os tratamentos para Aruana, hemártria, marandu, missioneira gigante, pensacola e Tanzânia (ver Tabela 13).

As alterações observadas nas raízes, colmos e folhas das forrageiras com o aumento do nível de Cu na solução nutritiva refletiram na produção da massa seca das diferentes estruturas e, consequentemente, na massa seca total.

O aumento da concentração do Cu na solução nutritiva, para humidícola, provocou efeitos negativos no crescimento das raízes, sobretudo em seu volume, sem ter havido redução da produção de massa seca. Também houve prejuízo da taxa de expansão de colmos, que resultou em menor produção de massa seca dessa estrutura. Menores taxas de aparecimento de folhas e de expansão área foliar resultaram em redução da área foliar, que aliada à maior área foliar específica, e ao aumento da senescência, contribuíram para a redução da massa seca de folhas. Essa redução ocorreu em maior intensidade quando comparada à redução para a massa

seca de colmos, evidenciado pela menor relação folha:colmo. Esses efeitos contribuíram para a redução da produção de massa seca total de plantas de humidícola.

Tabela 13 - Relação raiz:parte aérea e relação folha:colmo de plantas de Aruana, hemártria, humidícola, Jiggs, marandu, missioneira gigante, pensacola, piatã, Tanzânia, Tifton-85 e xaraés cultivadas em solução nutritiva com Cu em concentrações de 0,3 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Forrageira	Relação raiz:parte aérea			Relação folha:colmo		
	0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$	20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	Média	0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$	20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	Média
Aruana	0,09 C	0,13 C	0,11 ns	1,61 D	1,61 B	1,61 ns
Hemártria	0,10 C	0,12 C	0,11 ns	0,44 F	0,54 E	0,49 ns
Humidícola	0,07 C	0,12 C	0,09 ns	1,39 E	1,06 D	1,22*
Jiggs	0,10 C	0,09 C	0,09 ns	1,38 E	0,92 D	1,15*
Marandu	0,14 B	0,15 B	0,14 ns	1,72 D	1,75 B	1,74 ns
M. gigante	0,17 A	0,18 A	0,18 ns	3,12 A	3,00 A	3,06 ns
Pensacola	0,16 B	0,15 B	0,15 ns	1,48 E	1,32 C	1,40 ns
Piatã	0,12 C	0,11 C	0,11 ns	2,33 B	1,77 B	2,05*
Tanzânia	0,14 B	0,15 B	0,14 ns	1,64 Da	1,67 B	1,65 ns
Tifton-85	0,10 C	0,13 C	0,12 ns	1,89 C	1,07 D	1,48*
Xaraés	0,13 C	0,11 C	0,12 ns	2,41 B	1,41 C	1,91*
Média	0,12	0,13		1,77	1,46	
CV (%)	15,08			7,47		

Letras comparam gramíneas forrageiras dentro de mesma concentração de Cu. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si. *: significativo a 5% e ns: não-significativo a 5% pelo teste F, entre concentrações de Cu dentro da mesma gramínea forrageira. CV: Coeficiente de variação. Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Para a hemártria, o aumento da concentração do Cu na solução nutritiva também provocou redução do volume radicular sem prejuízo da massa seca. Mesmo sem ter havido redução da taxa de crescimento de colmo+pseudocolmo, houve redução da massa seca de colmos, o que contribuiu para a redução da massa seca total.

O aumento da concentração de Cu na solução nutritiva, para xaraés, aumentou o volume, entretanto com redução da densidade, o que pode ter influenciado na redução da massa seca das raízes. Apesar da redução da taxa de crescimento de colmo+pseudocolmo, houve aumento da massa seca de colmos, possivelmente devido ao espessamento dos tecidos. O aumento da área foliar específica e da taxa de senescência podem ter resultado na redução da massa seca de folhas, apesar do aumento da área foliar. Tais alterações reduziram a relação folha:colmo para a forrageira, apesar de não ter havido alteração da produção de massa seca total.

O aumento da concentração do Cu na solução nutritiva, para o Jiggs, reduziu o volume de raízes. Contudo, o aumento da densidade dessa estrutura pode ter contribuído para a

estabilidade da produção de massa seca. O aumento da taxa de crescimento de colmo+pseudocolmo resultou em no aumento da produção de massa seca de colmos. Não houve alteração da massa seca foliar, uma vez que a redução da área foliar específica pode ter equilibrado a redução da área foliar e aumento da taxa de senescência. Muito embora não tenha havido alteração da massa seca total, houve redução da relação folha:colmo.

Pensacola e Tanzânia não sofreram alterações no volume, densidade, e massa seca de raízes, tampouco na taxa de crescimento de colmo+pseudocolmo e massa seca de colmos. Para Tanzânia, mesmo com redução da taxa de expansão foliar e aumento da taxa de senescência, a área se manteve constante, tal como a área foliar específica, o que proporcionou ausência de efeitos na massa seca de folhas. Para pensacola, apesar do aumento da taxa de senescência, também não houve alteração da massa seca de folhas. Dessa forma, para ambas, não houve variação na massa seca total e relação folha:colmo.

Os efeitos do Cu sobre as raízes de piatã ocorreram de forma semelhante à xaraés, todavia sem redução da massa seca. A taxa de crescimento de colmo+pseudocolmo mais elevada conduziu ao aumento da massa seca de colmos. Para esta forrageira, o aumento da área foliar, mesmo com o aumento da área foliar específica e aceleração da taxa de senescência, contribuiu para o aumento da massa seca das folhas. Tais alterações reduziram a relação folha:colmo para a forrageira, sem prejuízo da massa seca total.

Com o aumento da concentração de Cu na solução nutritiva, marandu sofreu um aumento do volume, sem que houvesse alteração na densidade de raízes, contribuindo, assim, para o aumento da massa seca dessa estrutura. Com a redução da área específica e aumento da área foliar, houve acréscimo da produção de massa seca das folhas. Todavia, não houve variação da massa seca total e relação folha:colmo.

Os efeitos do aumento da concentração de Cu na solução nutritiva sobre as raízes de Tifton-85 foram semelhantes à xaraés. Todavia, houve aumento da massa seca de raízes. Mesmo sem ter havido aumento da taxa de crescimento de colmo+pseudocolmo, houve aumento da massa seca de colmos. Uma vez que houve estabilidade da massa seca de folhas, ocorreu redução da relação folha:colmo. Os aumentos na massa seca de colmos e raízes provocaram o aumento da massa seca total de plantas.

Para as plantas de missioneira gigante, os aumentos da densidade das raízes e da área foliar específica contribuíram para o aumento da massa seca dessas duas estruturas. Dessa forma, houve também aumento da massa seca total.

Para a Aruana, apesar de não ter havido alteração do volume e densidade de raízes, bem como da área foliar e área foliar específica, houve aumento da massa seca de raízes e folhas, e da massa seca total.

Sheldon e Menzies (2005) encontraram doses críticas (redução de massa seca de 10%) entre 0,6 a 1,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu na solução nutritiva para plantas de capim de Rhodes. Em plantas de capim Urocloa, Kopittke et al. (2009b) encontraram redução de 50% na massa fresca das plantas quando a atividade de Cu na solução nutritiva atingiu 1,0 e 1,2 μM , respectivamente para raízes e parte aérea. Kopittke et al. (2009a) encontraram doses críticas (redução de 50% da massa seca da parte aérea) nas doses de Cu em solução nutritiva de 1,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para *Dichanthium sericeum* (R.Br.) A. Camus; 2,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$, para *Astrebla lappacea* (Lindl.) Domin; 2,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para capim decumbens; 4,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para capim de Rhodes; 4,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para *Austrodanthonia richardsonii* cv. Hume; 5,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para *Themeda australis* Forssk.; e 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para capim Urochloa.

Keller et al. (2015) não encontraram redução significativa da biomassa de plantas de trigo em todo o intervalo de doses avaliado em solução nutritiva (0 a 7,65 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Ali, Bernal e Ater (2002) observaram reduções significativas na massa fresca de plantas nas doses de 78,7 e 7,85 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu na solução nutritiva para *Phragmites australis* e para o milho, respectivamente. Na dose de 15,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$, entretanto, não houve redução para a massa fresca do milho. WEI et al. (2008) verificaram redução de aproximadamente 20 e 25% na massa seca da parte aérea e raízes, respectivamente, em plantas de sorgo, em 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu em solução nutritiva. Todavia, os autores não verificaram redução das variáveis até 25 μM (WEI et al., 2008).

4.5.4 Concentração de Cu nas raízes, parte aérea e fator de translocação de Cu

Houve interação entre as forrageiras e os níveis de Cu na solução para a concentração de Cu nas raízes e parte aérea, e para o fator de translocação de Cu (ver Tabela 14). O aumento da concentração do elemento-traço na solução nutritiva ocasionou aumento da concentração de Cu nas raízes para todas as forrageiras (ver Tabela 14). Para Aruana, hemártria e humidícola, esse aumento correspondeu a 84, 24 e 704 vezes, respectivamente (ver Tabela 14). Para Jiggs, marandu e missioneira gigante, o aumento foi de 97, 61 e 25 vezes, respectivamente (ver Tabela 14). Para Pensacola, piatã e Tanzânia, o aumento equivaleu a 36, 92 e 18 vezes, respectivamente (ver Tabela 14). Para Tifton-85 e xaraés, o aumento correspondeu a 75 e 361 vezes, respectivamente (ver Tabela 14).

Tabela 14 - Concentração de Cu nas raízes e parte aérea e fator de translocação para o Cu em plantas de Aruana, hemártria, humidícola, Jiggs, marandu, missioneira gigante, pensacola, piatã, Tanzânia, Tifton-85 e xaraés cultivadas em solução nutritiva com Cu em concentrações de 0,3 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Forrageira	Concentração de Cu nas raízes (mg kg^{-1})			Concentração de Cu na parte aérea (mg kg^{-1})			Fator de translocação para o Cu		
	0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$	20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	Média	0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$	20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	Média	0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$	20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	Média
	7,71 B	646,06 C	326,89*	2,03 C	11,80 C	6,91*	0,26 C	0,02 D	0,14*
aruana	15,86 A	382,80 D	199,33*	6,10 A	44,19 A	25,14*	0,38 C	0,12 B	0,25*
hemártria	2,88 C	2024,70 A	1013,79*	3,78 B	20,16 B	11,97*	1,31 A	0,01 D	0,66*
humidícola	11,77 A	1138,05 B	574,91*	1,81 C	13,47 C	7,64*	0,15 D	0,01 D	0,08*
Jiggs	17,31 A	1056,32 B	536,82*	3,19 B	10,35 C	6,77*	0,18 D	0,01 D	0,10*
marandu	4,75 B	119,46 E	62,10*	7,57 A	29,64 A	18,60*	1,59 A	0,25 A	0,92*
M. gigante	17,53 A	636,96 C	327,24*	4,06 B	33,60 A	18,83*	0,23 D	0,05 C	0,14*
pensacola	6,59 B	607,17 C	306,88*	4,95 A	22,31 B	13,63*	0,75 B	0,04 C	0,39*
piatã	7,45 B	133,26 E	70,35*	2,45 C	18,04 B	10,24*	0,33 C	0,14 B	0,23*
Tanzânia	5,22B	392,61 D	198,92*	1,67 C	19,88 B	10,77*	0,32 C	0,05 C	0,19*
Tifton-85	2,96 C	1068,81 B	535,89*	2,01 C	12,66 C	7,33*	0,68 B	0,01 D	0,35*
xaraés	9,09	746,02		3,6	21,46		0,4	0,03	
Média									
CV (%)	5,92			11,23			12,6		

Letras comparam gramíneas forrageiras dentro de mesma concentração de Cu. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si. *: significativo a 5% e ns: não-significativo a 5% pelo teste F, entre concentrações de Cu dentro da mesma gramínea forrageira. CV: Coeficiente de variação. Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

Em relação à concentração de Cu na parte aérea, também houve aumento para todas as forrageiras (ver Tabela 14). Aruana, hemártria e humidícola aumentaram em 6, 7 e 5 vezes, respectivamente (ver Tabela 14). Para Jiggs, marandu e missioneira gigante, esse aumento correspondeu a 7, 3 e 4 vezes, respectivamente (ver Tabela 14). Pensacola, piatã e Tanzânia aumentaram em 8, 4 e 7 vezes, respectivamente (ver Tabela 14). Tifton-85 e xaraés tiveram um aumento de 12 e 6 vezes, respectivamente (ver Tabela 14).

O fator de translocação do Cu reduziu para todas as forrageiras (ver Tabela 14). Para Aruana, hemártria e humidícola, a redução correspondeu a 93, 71 e 99%; respectivamente (ver Tabela 14). Jiggs, marandu e missioneira gigante reduziram em 93, 95 e 83%, respectivamente (ver Tabela 14). Pensacola, piatã e Tanzânia reduziram em 79, 96 e 59%, respectivamente (ver Tabela 14). A redução para Tifton-85 e xaraés correspondeu a 85 e 98%, respectivamente (ver Tabela 14).

Adrees et al. (2015) definem a faixa de 2 a 5 mg kg^{-1} na parte aérea como valor crítico inferior, abaixo do qual as plantas poderão sofrer efeitos da deficiência de Cu. Observou-se que para grande maioria das plantas expostas à dose de 0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu na solução nutritiva, os níveis do elemento-traço na parte aérea superaram esse limite. Para marandu e Tifton-85, os

níveis de Cu na parte aérea ficaram abaixo ($1,81$ e $1,67 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente), entretanto muito próximos do valor crítico inferior. Contudo, não foram observados sintomas típicos de deficiência em todas as forrageiras, quando desenvolveram-se nesse nível de Cu na solução nutritiva.

A concentração de Cu nas raízes apresentou maiores valores que na parte aérea, tanto para a dose de $0,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ quanto para a dose de $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu na solução nutritiva, à exceção da humidícola e missioneira gigante, na dose de $0,3 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Altas concentrações de Cu nas raízes, em comparação à parte aérea, sugerem uma forte habilidade das plantas em extrair o Cu do meio de cultivo e acumulá-lo efetivamente no sistema radicular. Houve baixa translocação das raízes para a parte aérea, a qual foi ainda mais evidente com o aumento do nível de Cu na solução nutritiva. Altas concentrações nas raízes, e baixa translocação para a parte aérea ocorrem devido ao fato de que nas plantas, o Cu é retido principalmente na epiderme das raízes, ou nos vacúolos de células corticais adjacentes à endoderme das raízes (SHI et al., 2008; KOPITTKE et al., 2009b).

Uma vez que altos níveis de Cu nas folhas podem afetar negativamente crescimento e desenvolvimento das plantas, a capacidade de exportação do elemento-traço das raízes à parte aérea é um importante determinante da tolerância da espécie (YRUELA, 2009; GĄSECKA et al., 2012). Segundo Adrees et al. (2015), a fitotoxicidade ocorre numa faixa crítica que varia de 15 a 30 mg kg^{-1} de Cu na parte aérea das plantas. Mesmo que tenha havido baixos valores para a translocação do Cu quando as plantas se desenvolveram no nível de $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu na solução nutritiva, a variação dos efeitos do elemento-traço no crescimento das plantas sugere eficiências distintas do mecanismo de redução da translocação de Cu entre as forrageiras.

Na dose de $20 \mu\text{mol L}^{-1}$, humidícola, apesar de apresentar uma das menores translocações, apresentou concentração de Cu na parte aérea dentro da faixa crítica, e efeitos negativos generalizados nas plantas. Hemártria e Tanzânia apresentaram altos valores de translocação em relação às demais forrageiras, com concentração de Cu na parte aérea superior à faixa crítica, e presença de efeitos negativos.

Esses resultados estão de acordo com Sheldon e Menzies (2005), que encontraram redução da altura de plantas e da massa seca de raízes e parte aérea acima de 60% , em plantas de capim de Rhodes com 26 mg kg^{-1} de Cu na parte aérea. Esses autores ainda encontraram redução do alongamento radicular em concentrações ainda menores de Cu na parte aérea. Kopittke et al. (2009b) observaram redução da produção de massa fresca de 50% de plantas de capim Urocloa com 19 mg kg^{-1} de Cu na parte aérea, e danos às raízes em concentrações do elemento-traço na parte aérea em valores ainda menores.

Na dose de 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu, Jiggs e xaraés, também com baixas translocações do Cu, apresentaram concentração de Cu abaixo da faixa crítica, contudo também desenvolveram efeitos negativos ao elemento-traço. Uma redução na produção de massa seca nas raízes e parte aérea de 13 e 21%, respectivamente, foi observada em plantas de sorgo, por Wei et al. (2008), quando a concentração do elemento-traço na parte aérea correspondia a 14 mg kg^{-1} . Contudo, esses autores observaram redução do alongamento radicular e da concentração de clorofila nas folhas quando a concentração de Cu nessa estrutura perfazia aproximadamente 10 mg kg^{-1} .

Aruana e marandu, com baixa translocação em comparação às demais forrageiras, e concentração de Cu na parte aérea abaixo da faixa crítica, apresentaram baixa sensibilidade à fitotoxicidade provocada pelo elemento-traço.

Na dose de 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$, piatã, pensacola e Tifton-85, com translocações intermediárias, e missioneira gigante, com a maior translocação de Cu em relação às outras forrageiras, apresentaram concentração de Cu na parte aérea dentro e até mesmo acima da faixa crítica. Todavia, para essas plantas, houve ausência ou baixo efeito da fitotoxicidade do elemento-traço, sugerindo a contribuição de outros fatores para a tolerância, tais como a acumulação em compartimentos menos sensíveis ao elemento-traço. Benimeli et al. (2010) observaram redução de apenas 13% na massa fresca de plantas de milho quando a concentração na massa seca das folhas atingiu 22,06 mg kg^{-1} , mesmo com a redução da altura de plantas. Mesmo que as folhas tenham apresentado clorose e que as raízes tenham reduzido o crescimento, Michaud, Chappellaz e Hillsinger (2008) não encontraram redução na massa seca da parte aérea plantas de trigo duro, em valores de até 38 mg kg^{-1} de Cu nessa estrutura.

A humidícola foi a forrageira mais sensível ao aumento da concentração do Cu na solução nutritiva, e embora não tenha apresentado a maior concentração do elemento-traço na parte aérea, obteve a maior concentração nas raízes (2.024,70 mg kg^{-1}). Mesmo que Jiggs, marandu e xaraés não tenham apresentado valores de Cu na parte aérea dentro da faixa crítica, desenvolveram sintomas de toxicidade, o que pode estar ligado à alta acumulação do elemento-traço nas raízes ($>1.000 \text{ mg kg}^{-1}$). Isso pode ter ocorrido devido à redução da absorção de água e nutrientes pelas raízes provocada pelo estresse ao elemento-traço (PANOU-FIOTHEOU; BOSABALIDIS, 2004). Esses resultados concordam com Kopittke et al. (2009), que observaram uma redução de 50% na produção de massa fresca de capim Urocloa a 890 mg kg^{-1} de Cu nas raízes. Entretanto, Wei et al. (2008) verificaram baixa redução da massa seca em plantas de sorgo de (13 e 21% para raízes e parte aérea, respectivamente), quando a concentração de Cu nas raízes atingiu aproximadamente 3.500 mg kg^{-1} . Contudo, esses autores

observaram redução da concentração de clorofila nas folhas e do alongamento radicular em aproximadamente 1.300 mg kg⁻¹ do elemento-traço nessa estrutura.

A hemártria, que também desenvolveu alta sensibilidade ao aumento da concentração do Cu na solução nutritiva, apresentou concentração do elemento-traço nas raízes de 382,80 mg kg⁻¹; todavia, foi a forrageira que mais acumulou o elemento-traço na parte aérea.

Para as demais forrageiras, em que houve ausência, ou menores efeitos negativos com o aumento da concentração do Cu na solução nutritiva, a concentração nas raízes variou de 119,46 a 646,36 mg kg⁻¹. Esses resultados divergem de Sheldon e Menzies (2005), que observaram uma redução da altura de plantas, danos às raízes e diminuição de 60% da massa seca total de capim de Rhodes quando a concentração de Cu nessa estrutura perfazia 390 mg kg⁻¹. Michaud, Chappellaz e Hillsinger (2008) não observaram redução da massa seca até a 269 mg kg⁻¹ de Cu nas raízes; todavia, para estes autores, à medida em que essa concentração atingiu 672 mg kg⁻¹, a redução na massa seca, cloroses nas folhas e alteração da morfologia radicular se tornaram evidentes.

A limitada translocação de Cu das raízes para a parte aérea, nas forrageiras avaliadas neste estudo, indica baixo risco de entrada de Cu em concentrações potencialmente tóxicas na cadeia alimentar, quando cultivadas em solos com altas concentrações do elemento-traço. Todavia, na dose de 20 µmol L⁻¹ de Cu na solução nutritiva, a concentração de Cu na parte aérea das plantas ultrapassou o limite máximo de tolerância (LMT) em produtos destinados à alimentação animal indicado pelo NRC (2005) para ovinos (15 mg kg⁻¹), para hemártria, humidícola, missioneira gigante, pensacola, piatã, Tanzânia e Tifton-85, e para bovinos (40 mg kg⁻¹), para hemártria.

4.6 CONCLUSÕES

O aumento da concentração de Cu de 0,3 a 20 µmol L⁻¹ na solução nutritiva acarreta em prejuízo do crescimento das raízes de humidícola, hemártria e da grama Jiggs, e em estímulo às raízes dos capins Aruana, piatã, marandu, xaraés e Tanzânia e da grama Tifton-85. Não há alterações para o capim pensacola;

Esse aumento, em relação à morfogênese e crescimento da parte aérea, compromete a humidícola, hemártria, grama Jiggs e capins xaraés e Tanzânia, e estimula os capins marandu, Aruana e Piatã e as gramas Tifton-85 e missioneira gigante. Não há alterações consideráveis para o capim pensacola;

O aumento da concentração de Cu na solução nutritiva provoca o aumento dos teores do elemento-traço nas raízes e parte aérea, para todas as gramíneas forrageiras tropicais avaliadas;

A presença de efeitos negativos na parte aérea das plantas de hemártria, humidícola e capim Tanzânia com teores de Cu dentro da faixa crítica, e da ausência para os capins Aruana e marandu com teores de Cu abaixo da faixa crítica, estão em consonância com a literatura. Para a grama Jiggs e capim xaraés, os efeitos negativos aparecem mesmo em níveis na parte aérea abaixo da faixa crítica.

Para o capim piatã, pensacola e as gramas Tifton 85 e missioneira gigante, a ausência ou poucos efeitos negativos observados com níveis dentro da faixa crítica de toxicidade na parte aérea sugerem a acumulação de Cu em compartimentos menos sensíveis ao elemento-traço nessa parte.

4.7 REFERÊNCIAS

- ADREES, M. et al. The effect of excess copper on growth and physiology of important food crops: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, Landsberg, v. 22, n. 11, p. 8148–8162, 2015.
- ALI, N. A.; BERNAL, M. P.; ATER, M. Tolerance and bioaccumulation of copper in *Phragmites australis* and *Zea mays*. **Plant and Soil**, The Hague, v. 239, p. 103-111, 2002.
- ANDO, Y. et al. Copper in xylem and phloem saps from rice (*Oryza sativa*): the effect of moderate copper concentrations in the growth medium on the accumulation of five essential metals and a speciation analysis of copper-containing compounds. **Functional Plant Biology**, Colingwood, v. 40, p. 89–100, 2013.
- ARNON, D. I.; HOAGLAND, D.R. Crop production in artificial culture solutions and in soils with special reference to factors influencing yields and absorption of inorganic nutrients. **Soil Science**, Baltimore, v.50, p.463-485, 1940.
- BENIMELI, C. S. et al. Bioaccumulation of copper by *Zea mays*: Impact on root, shoot and leaf growth. **Water, Air, and Soil Pollution**, Dordrecht, v. 210, p. 365–370, 2010.
- BOUMA, T. J. et al. Root system topology and diameter distribution of species from habitats differing in inundation frequency. **Journal of Ecology**, Oxford, v. 15, p. 360-369, 2001.

BRASIL. **Regras para análises de sementes.** Brasília: MAPA/ACS, 2009. 399 p.

CHEN, L. M.; KAO, C. H. Effect of excess copper on rice leaves: evidence for involvement of lipid peroxidation. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, Taipei, v. 40, p. 283–287, 1999.

CRUZ, P. et al. Une nouvelle approche pour caractériser les prairies naturelles et leur valeur d'usage. **Fourragees**, Paris, v. 172, p. 335–354, 2002.

DANDAN, L. et al. Responses of nutrient capture and fine root morphology of subalpine coniferous tree *Picea asperata* to nutrient heterogeneity and competition. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 12, n. 11, p. 1–20, 2017.

FEIGL, G. et al. Comparing the effects of excess copper in the leaves of *Brassica juncea* (L. Czern) and *Brassica napus* (L.) seedlings: Growth inhibition, oxidative stress and photosynthetic damage. **Acta Biologica Hungarica**, Budapest, v. 66, n. 2, p. 205–221, 2015.

FERRAZ, J. B. S.; FELÍCIO, P. E. D. Production systems - An example from Brazil. **Meat Science**, Oxford, v. 84, n. 2, p. 238-243, 2010.

FRY, S. C.; MILLER, J. G.; DUMVILLE, J. C. A proposed role for copper ions in cell wall loosening. **Plant and Soil**, The Hague, v. 247, n. 1, p. 57–67, 2002.

GĄSECKA, M. et al. Physiological and morphological changes in *Salix viminalis* L. as a result of plant exposure to copper. **Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering**, New York, v. 47, n. 4, p. 548–557, 2012.

GOMES, M. P. et al. Ecophysiological and anatomical changes due to uptake and accumulation of heavy metal in *Brachiaria decumbens*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 68, n. 5, p. 566-573, 2011.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Oxygen toxicity, oxygen radical, transition metals and disease. **The Biochemical Journal**, London, v. 219, p. 1–14, 1984.

HÄNSCH, R.; MENDEL, R. R. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 12, p. 259–266, 2009.

IBGE. **Censo agropecuário 2006**: Brasil, grandes regiões e unidades da federação. Rio de Janeiro: IBGE, 2006. 777 p.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants**. 4. ed. Boca Raton: CRC Press, 2011. 520 p.

KELLER, C. et al. Effect of silicon on wheat seedlings (*Triticum turgidum* L.) grown in hydroponics and exposed to 0 to 30 µM Cu. **Planta**, Berlin, v. 241, n. 4, p. 847-660, 2015.

KOPITTKE, P. M. et al. Tolerance of perennial grasses to high copper in sand culture. **Environmental Chemistry**, Boca Raton, v. 6, n. 3, p. 253–259, 2009a.

KOPITTKE, P. M. et al. Toxic effects of Cu²⁺ on growth, nutrition, root morphology, and distribution of Cu in roots of Sabi grass. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 407, n. 16, p. 4616–4621, 2009b.

KÜPPER, H.; KRONECK, P. M. H. Heavy metal uptake by plants and cyanobacteria. **Metal Ions in Biological Systems**, New York, v. 44, p. 97–144, 2005.

LEQUEUX, H. et al. Response to copper excess in *Arabidopsis thaliana*: Impact on the root system architecture, hormone distribution, lignin accumulation and mineral profile. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 48, n. 8, p. 673–682, 2010.

LIN, C. C.; CHEN, L. M.; LIU, Z. H. Rapid effect of copper on lignin biosynthesis in soybean roots. **Plant Science**, Beijing, v. 168, n. 3, p. 855–861, 2005.

MALEA, P. Uptake of cadmium and the effects on viability of leaf cells in the seagrass *Halophila stipulacea* (Forsk.) Aschers. **Botanica Marina**, Berlin, v. 37, p. 67-73, 1994.

MARSCHNER, P. **Mineral Nutrition Of Higher Plants**, 3rd ed. London: Academic Press, 2012. 672 p.

MATEOS-NARANJO, E. et al. Growth and photosynthetic responses to copper stress of an invasive cordgrass, *Spartina densiflora*. **Marine Environmental Research**, London, v. 66, p. 459–465, 2008.

MICHAUD, A. M.; CHAPPELLAZ, C.; HINSINGER, P. Copper phytotoxicity affects root elongation and iron nutrition in durum wheat (*Triticum turgidum* durum L.). **Plant and Soil**, The Hague, v. 310, n. 1–2, p. 151–165, 2008.

MURPHY, A.S. et al. Early copper- induced leakage of K⁺ from *Arabidopsis* seedlings is mediated by ion channels and coupled to citrate efflux. **Plant Physiology**, Belmont, v. 121, p. 1375-1382, 1999.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Mineral Tolerance of Animals**. 2 rev. ed. Washington D.C.: The National Academy Express, 2005. 493 p.

PANOU-FILOTHEOU, H.; BOSABALIDIS, A. M. Root structural aspects associated with copper toxicity in oregano (*Origanum vulgare* subsp. *hirtum*). **Plant Science**, Beijing, v. 166, n. 6, p. 1497–1504, 2004.

PASTERNAK, T. et al. Morphogenic effects of abiotic stress: Reorientation of growth in *Arabidopsis thaliana* seedlings. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 53, n. 3, p. 299–314, 2005.

PÄTSIKKÄ, E. et al. Excess copper predisposes photosystem II to photoinhibition *in vivo* by outcompeting iron and causing decrease in leaf chlorophyll. **Plant Physiology**, Belmont, v.129, p. 1359-1367, 2002.

PICHHODE, M.; NIKHIL, K. Effect of copper mining dust on the soil and vegetation in India: a critical review. **International Journal of Modern Science and Technology**, Kumbakonam, v. 2, p. 73-76, 2015.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, 2016. Disponível em: <<http://nbcgib.uesc.br/mirrors/cran/>>. Acesso em: 15 jan. 2018.

RIBEIRO Jr., G.O. et al. Production, nutritional quality and in vitro methane production from *Andropogon gayanus* grass harvested at different maturities and preserved as hay or silage. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, Seoul, v.27, n.3, p.330- 341, 2014.

SÁNCHEZ-PARDO, B.; FERNÁNDEZ-PASCUAL, M.; ZORNOZA, P. Copper microlocalisation and changes in leaf morphology, chloroplast ultrastructure and antioxidative response in white lupin and soybean grown in copper excess. **Journal of Plant Research**, Tokyo, v. 127, n. 1, p. 119–129, 2014.

SHELDON, A. R.; MENZIES, N. W. The effect of copper toxicity on the growth and root morphology of Rhodes grass (*Chloris gayana* Knuth.) in resin buffered solution culture. **Plant and Soil**, The Hague, v. 278, n. 1–2, p. 341–349, 2005.

SRIDHAR, B. B. M. et al. Anatomical changes due to uptake and accumulation of Zn and Cd in Indian mustard (*Brassica juncea*). **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 54, p. 131–141, 2005.

TAIZ, L.; ZIEGER, E. **Plant Physiology**. 5 ed. Massachusetts: Sinauer Associates Inc., 2010. 782 p.

WEI, L. et al. Copper accumulation and tolerance in *Chrysanthemum coronarium* L. and *Sorghum sudanense* L. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 55, n. 2, p. 238–246, 2008.

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

YRUELA, I. Transition metals in plant photosynthesis. **Metalomics**, Cambridge, v. 5, n. 9, p. 1090-1109, 2013.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O cobre (Cu) é um elemento essencial a numerosos processos vegetais. Quando presente em teores abaixo do adequado, causa deficiência e pode influenciar negativamente o metabolismo das plantas. Todavia, é requerido em baixas concentrações que, ao serem superadas, causa problemas de toxicidade, comprometendo o crescimento e desenvolvimento das plantas. Dessa forma, torna-se imprescindível conhecer a dinâmica do Cu e sua influência nos processos que alteram o desempenho de plantas da espécie de interesse.

O aumento das doses de Cu aplicadas em cambissolo háplico contribui para a superação da condição de deficiência em plantas de capim xaraés devido aos benefícios proporcionados à fotossíntese, acumulação de nutrientes e, consequentemente, ao crescimento das plantas. Todavia, a partir das doses ótimas estimadas, o aumento da aplicação das doses acarreta em prejuízo para essas variáveis, evidenciando a condição de fitotoxicidade. Com a redução do fator de translocação das raízes para à parte aérea, mesmo na maior dose testada (200 mg kg^{-1}) há baixo risco de entrada de Cu em concentrações potencialmente tóxicas à cadeia alimentar. Entretanto, para o capim xaraés, ainda são necessários estudos dos efeitos do aumento de doses de Cu aplicadas em outros tipos de solos.

O estudo dos efeitos da variação da concentração de Cu na solução nutritiva de 0,3 para $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ revelou respostas distintas para as gramíneas forrageiras tropicais estudadas, discriminando plantas com sensibilidade ou tolerância ao elemento-traço e apontando possíveis candidatas para o uso em solos com altas concentrações de Cu. Muito embora tenha havido redução da translocação de Cu entre raízes e parte aérea para todas as forrageiras, a concentração de Cu na parte aérea das plantas, acima do limite máximo de tolerância indicado pelo NRC para hemártria, humidícola, grama missioneira gigante, capim pensacola, capim piatã, capim Tanzânia e grama Tifton-85, na concentração de $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu, evidencia a necessidade de serem tomadas medidas de precaução em relação ao uso dessas forrageiras. Ainda assim, os efeitos de fitotoxicidade do Cu são de maior preocupação que a acumulação do elemento-traço na parte aérea. Mesmo para as forrageiras mais tolerantes ao Cu, estudos considerando curvas de resposta em relação ao aumento da concentração de Cu no solo ainda devem ser conduzidos no intuito de compreender melhor os efeitos do elemento-traço nas gramíneas forrageiras estudadas e realizar recomendações.

REFERÊNCIAS

- ALAMGIR, M. The effects of soil properties to the extent of soil contamination with metals. In: HASEGAWA, H.; RAHMAN, I. M. M.; RAHMAN, M. A. (Eds). **Environmental remediation technologies for metal-contaminated soils**. Tokio: Springer, 2016. p. 1–19.
- ABREU, C. A.; LOPES, A. S.; SANTOS, G. C. G. Micronutrientes. In: NOVAIS, R. F. et al. (Eds). **Fertilidade do solo**. Viçosa: SBCS, 2007. p. 645-736.
- ADREES, M. et al. The effect of excess copper on growth and physiology of important food crops: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, Landsberg, v. 22, n. 11, p. 8148–8162, 2015.
- AL-HAKIMI, A. B. M.; HAMADA, A. M. Ascorbic acid, thiamine or salicylic acid induced changes in some physiological parameters in wheat grown under copper stress. **Plant Protection Science**, Prague, v. 47, p. 92–108, 2011.
- ALI, N. A.; BERNAL, M. P.; ATER, M. Tolerance and bioaccumulation of copper in *Phragmites australis* and *Zea mays*. **Plant and Soil**, The Hague, v. 239, p. 103-111, 2002.
- ALLOWAY, B. **Heavy Metals in Soils**: Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability. 3rd ed. Springer: Dordrecht, 2013. 614 p.
- ANDO, Y. et al. Copper in xylem and phloem saps from rice (*Oryza sativa*): the effect of moderate copper concentrations in the growth medium on the accumulation of five essential metals and a speciation analysis of copper-containing compounds. **Functional Plant Biology**, Colingwood, v. 40, p. 89–100, 2013.
- BARDUCCI, R. S. et al. Produção de *Brachiaria brizantha* e *Panicum maximum* com milho e adubação nitrogenada. **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v. 58, n. 222, p. 211-222, 2009.
- BORGES, K. S. C. et al. Germination and initial development of *Brachiaria brizantha* and *Brachiaria decumbens* on exposure to cadmium, lead and copper. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 38, n. 4, p. 335–343, 2016.
- BRADL, H. B. Adsorption of heavy metal ions on soils and soils constituents. **Journal of Colloid and Interface Science**, Orlando, v. 277, n. 1, p. 1–18, 2004.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 420 de 2009**, 2009.

BRUNETTO, G. et al. Copper and zinc accumulation, fractionation and migration in vineyard soils from Santa Catarina State, Brazil. **Bragantia**, Campinas, v. 77, n. 1, p. 141–151, 2018.

CHEN, L. M.; KAO, C. H. Effect of excess copper on rice leaves: evidence for involvement of lipid peroxidation. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, Taipei, v. 40, p. 283–287, 1999.

COLZI, I. et al. Copper tolerance strategies involving the root cell wall pectins in *Silene paradoxa*. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 78, p. 91–98, 2012.

COUTO, R. R. et al. Accumulation and distribution of copper and zinc in soils following the application of pig slurry for three to thirty years in a microwatershed of southern Brazil. **Archives of Agronomy and Soil Science**, Berlin, v. 62, p. 593-616, 2015.

CRUZ, P. et al. Une nouvelle approche pour caractériser les prairies naturelles et leur valeur d'usage. **Fourrages**, Paris, v. 172, p. 335–354, 2002.

CTAHR. **Cover Crops and green manures for Hawai - Bermuda Grass (*Cynodon dactylon*)**. Disponível em: <http://www.ctahr.hawaii.edu/sustainag/CoverCrops/bermuda_grass.asp>. Acesso em: 10/08/2016.

DENG, F. et al. A member of the heavy metal P-Type ATPase OsHMA5 is involved in xylem loading of copper in rice. **Plant Physiology**, Belmont, v. 163, p. 1353–1362, 2013.

DROPPA, M.; TERRY, N.; HORVATH, G. Effects of Cu deficiency on photosynthetic electron transport. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, v. 81, p. 2369– 237, 1984.

DUFLOTH, J. H. Missioneira Gigante: uma nova opção na produção do novilho precoce. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v.15, n.2, p.23, 2002

EPSTEIN, E.; BLOOM, J. A. **Mineral nutrition of plants: principles and perspectives**, 2nd ed. Sunderland: Sinauer Associates, Inc, 2005. 600 p.

ESSINGTON, M.E. **Soil and water chemistry: an integrative approach**. Boca Raton: CRC Press, 2004. 534p.

FEIGL, G. et al. Comparing the effects of excess copper in the leaves of *Brassica juncea* (L. Czern) and *Brassica napus* (L.) seedlings: Growth inhibition, oxidative stress and photosynthetic damage. **Acta Biologica Hungarica**, Budapest, v. 66, n. 2, p. 205–221, 2015.

FERNANDES, J.C; HENRIQUES, F.S. Excess Copper in Plants. **The Botanical Review**, New York, v. 57, n. 3, p. 246–273, 1991.

FERNÁNDEZ-CALVIÑO et al. Influence of humified organic matter on copper behavior in acid polluted soils. **Environmental Pollution**, Barking, v. 158, p. 3634-364, 2010.

HALL, J.L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, p. 1–11, 2002.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Oxygen toxicity, oxygen radical, transition metals and disease. **The Biochemical Journal**, v. 219, p. 1–14, 1984.

HÄNSCH, R.; MENDEL, R. R. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 12, p. 259–266, 2009.

HE, Z. L.; YANG, X. E.; STOFFELLA, P. J. Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, Stuttgart, v. 19, n. 2-3, p. 125–140, 2005.

HERLING, V.R.; BRAGA, G.J.; LUZ, P.H.C. Tobiatã, Tanzânia e Mombaça. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGENS, 17., 2000, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2000, p.21-64.

IBGE. **Censo agropecuário 2006**: Brasil, grandes regiões e unidades da federação. Rio de Janeiro: IBGE, 2006. 777 p.

JUNG, H. et al. COPT6 is a plasma membrane transporter that functions in copper homeostasis in *Arabidopsis* and is a novel target of SQUAMOSA promoter-binding protein-like 7. **The Journal of Biological Chemistry**, San Francisco, v. 287, n. 40, p. 33252– 33267, 2012.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants**. 4. ed. Boca Raton: CRC Press, 2011. 520 p.

KANG, W. Distribution and chemical forms of copper in the root cells of castor seedlings and their tolerance to copper phytotoxicity in hydroponic culture. **Environmental Science and Pollution Research**, Landsberg, v. 22, n. 10, p. 7726-7734, 2015.

KELLER, C. et al. Effect of silicon on wheat seedlings (*Triticum turgidum* L.) grown in hydroponics and exposed to 0 to 30 µM Cu. **Planta**, Berlin, v. 241, n. 4, p. 847-660, 2015.

KOPITTKE, P. M. et al. Tolerance of perennial grasses to high copper in sand culture. **Environmental Chemistry**, Boca Raton, v. 6, n. 3, p. 253–259, 2009a.

KOPITTKE, P. M. et al. Toxic effects of Cu²⁺ on growth, nutrition, root morphology, and distribution of Cu in roots of Sabi grass. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 407, n. 16, p. 4616–4621, 2009b.

KOPITTKE, P. M. et al. Trace metal phytotoxicity in solution culture: A review. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 61, n. 4, p. 945–954, 2010.

KRÄMER, U.; CLEMENS, S. Functions and homeostasis of zinc, copper, and nickel in plants. In: TAMÁS, M.; MARTINOIA, E. (Eds). **Molecular biology of metal homeostasis and detoxification from microbes to man**. Berlin: Springer-Verlag, 2006, p. 214–272.

KÜPPER, H.; KRONECK, P. M. H. Heavy metal uptake by plants and cyanobacteria. **Metal Ions in Biological Systems**, New York, v. 44, p. 97–144, 2005.

LANGE, B. et al. Copper and cobalt accumulation in plants: a critical assessment of the current state of knowledge. **New Phytologist**, London, v. 213, n. 2, p.537-551, 2017.

LIDON, F. C.; HENRIQUES, F. Effects of excess copper on the photosynthetic pigments in rice plants. **Botanical bulletin of Academia Sinica**, Taipei, v. 33, p. 141-149, 1992.

LIU, Z-D. et al. Effects of surface charge and functional groups on the adsorption and binding forms of cu and cd on roots of *indica* and *japonica* rice cultivars. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 8, n. August, p. 1–9, 2017.

LLORENS, N. et al. Effects of copper exposure upon nitrogen metabolism in tissue cultured *Vitis vinifera*. **Plant Science**, Beijing, v. 160, n. 1, p.159-163, 2000.

MEYCHIK, N. et al. Contribution of apoplast to short-term copper uptake by wheat and mung bean roots. **Functional Plant Biology**, Colingwood, v. 43, n. 5, p. 403–412, 2016.

MARSCHNER, P. **Mineral Nutrition Of Higher Plants**, 3rd ed. London: Academic Press, 2012. 672 p.

MARTINOIA, E.; DALLING, M. J.; MATILE, P. Catabolism of chlorophyll: demonstration of chloroplast-localized peroxidative and oxidative activities. **Zeitschrift für Pflanzenphysiologie. International journal of plant physiology**, Stuttgart, v. 107, n. 3, p. 269–279, 1982.

MATEOS-NARANJO, E. Growth and photosynthetic responses to copper stress of an invasive cordgrass, *Spartina densiflora*. **Marine Environmental Research**, London, v. 66, p. 459-465, 2008.

MIRA, H.; MARTÍNEZ-GARCÍA, F.; PEÑARRUBIA, L. Evidence for the plant-specific intercellular transport of the *Arabidopsis* copper chaperone CCH. **The Plant Journal: for cell and molecular biology**, Oxford, v. 25, p. 521–528, 2001.

MORALES, J. M. L. et al. Betacyanin accumulation and guaiacol peroxidase activity in *Beta vulgaris* L. leaves following copper stress. **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**, Warsaw, v. 81, p. 193–201, 2012.

NEWMAN, Y. C.; VENDRAMINI, J.; BLOUNT, A. **Bahiagrass (*Paspalum notatum*) Overview and Management**. Gainesville: University of Florida, 2010. Disponível em: <<https://edis.ifas.ufl.edu/ag342>>. Acesso em: 10 ago. 2016

PANOU-FIOTHEOU, H.; BOSABALIDIS, A. M. Root structural aspects associated with copper toxicity in oregano (*Origanum vulgare* subsp. *hirtum*). **Plant Science**, Beijing, v. 166, n. 6, p. 1497–1504, 2004.

PEREIRA, A.R. **Como selecionar plantas para áreas degradadas e controle de erosão**. Belo Horizonte: FAPI, 2006. 70 p.

PRINTZ, B. et al. Copper trafficking in plants and its implication on cell wall dynamics. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 7, p. 1–16, 2016.

QUESENBERRY, K.H. Limpograss cultivars for Florida: Past, present and future. In: PROCEEDING 42nd ANNUAL FLORIDA BEEF CATTLE SHORT COURSE, IFAS, 1993,

Florida. **Anais eletrônicos...** Florida: University of Florida, 1993. Disponível em: <http://animal.ifas.ufl.edu/beef_extension/besc/1993/docs/quesenberry.pdf>. Acesso: 24 nov. 2014.

PLENDERLEITH, R. W.; BELL, L. C. Tolerance of twelve tropical grasses to high soil concentrations of copper. **Tropical Grasslands**, Cali, v. 24, p. 103-110, 1990.

RAO, I.M.; KERRIDGE, P.C.; MACEDO, M.C.M. Nutrition requirements of Brachiaria and adaptation to acid soils. In: MILES, J.W.; MAASS, B.L.; VALLE, C.B. do (Eds.).

Brachiaria: biology, agronomy, and improvement. CALI; EMBRAPA: Campo Grande, 1996. p. 53-71 (CIAT Publication, n. 259).

RODRIGO-MORENO, A. et al. Calcium and potassium permeable plasma membrane transporters are activated by copper in *Arabidopsis* root tips: linking copper transport with cytosolic hydroxyl radical production. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.36, p. 844-855, 2013.

RUTKOWSKA, B.; SZULC, W.; BOMZE, K. Effects of soil properties on copper speciation in soil solution. **Journal of Elementology**, Olsztyn, n. 4/2013, p. 695-703, 2012.

RYAN, B. M. et al. Copper speciation and isotopic fractionation in plants: uptake and translocation mechanisms. **New Phytologist**, London, v. 199, p. 367–378, 2013.

SHAHEEN, S. M.; TSADILAS, C. D.; RINKLEBE, J. Immobilization of soil copper using organic and inorganic amendments. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Weinheim, v. 178, p. 112–117, 2015.

SHELDON, A. R.; MENZIES, N. W. The effect of copper toxicity on the growth and root morphology of Rhodes grass (*Chloris gayana* Knuth.) in resin buffered solution culture. **Plant and Soil**, The Hague, v. 278, n. 1–2, p. 341–349, 2005.

SHI, J. et al. An X-ray absorption spectroscopy investigation of speciation and biotransformation of copper in *Elsholtzia splendens*. **Plant and Soil**, The Hague, v. 302, p.163–174, 2008.

SIEDLESKA, A. Some aspects of interactions between heavy metals and plant mineral nutrients. **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**, Warsaw, v. 64, n. 3, p. 265-272, 1995.

SILVA, L. S. et al. Heavy metal contents in latosols cultivated with vegetable crops. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 46, n. 4, p. 391–400, 2016.

STIBOROVÁ, M.; DOUBRAVOVÁ, M; LEBLOVA, S. A comparative study of the effect of heavy metal ions on ribulose-1,5-biphosphate carboxylase and phosphoenol pyruvate carboxylase. **Biochemie und Physiologie der Pflanzen**, Jena, v. 181, p. 373-379, 1986.

TAKAHASHI, M. et al. Role of nicotianamine in the intracellular delivery of metals and plant reproductive development. **The Plant Cell**, Rockville, v.15, n. 6, p. 1263-1280, 2003.

TINGTING, L. et al. Tracing intracellular localization and chemical forms of copper in *Elsholtzia splendens* with cluster analysis. **Biological Trace Element Research**, London, v. 160, n. 3 p. 418-426, 2014.

VASSILEV, A. Photosynthetic performance and content of some nutrients in cadmium and copper treated barley plants. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 25, n. 11, p. 2343–2360, 2002.

WAN, X.; SCHICHT, O.; FREISINGER, E. Copper(I) coordination by two plant metallothioneins. **Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie**, Leipzig, v. 639, p. 1365–1369, 2013.

WEI, L. et al. Copper accumulation and tolerance in *Chrysanthemum coronarium* L. and *Sorghum sudanense* L. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 55, n. 2, p. 238–246, 2008.

WUANA, R. A.; OKIEIMEN, F. E. Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. **ISRN Ecology**, Cairo, v. 2011, n. 1, p. 1-20, 2011.

YADAV, S. K. Heavy metals toxicity in plants: an overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. **Journal of South Africa Botany**, Pretoria, v. 76, p. 167–179, 2010.

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

YRUELA, I. Transition metals in plant photosynthesis. **Metallomics**, Cambridge, v. 5, n. 9, p. 1090-1109, 2013.

ZHENG, L. et al. YSL16 is a phloem-localized transporter of the copper-nicotianamine complex that is responsible for copper distribution in rice. **The Plant Cell**, Rockville, v. 24, p. 3767–3782, 2012.