



UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CÂMPUS DE BOTUCATU

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS

**TOLERÂNCIA E POTENCIAL FITORREMEIADOR DE *Jatropha curcas* L. AOS
METAIS NÍQUEL E COBRE**

SIMONE SILVA HIRAKI

**Tese apresentada ao Instituto de
Biociências, Câmpus de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de
Doutor em Ciências Biológicas
(Botânica), AC: Fisiologia Vegetal**

BOTUCATU - SP

- 2016 -

UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CÂMPUS DE BOTUCATU

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS

**TOLERÂNCIA E POTENCIAL FITORREMEIADOR DE *Jatropha curcas* L. AOS
METAIS NÍQUEL E COBRE**

SIMONE SILVA HIRAKI

PROF^a DR^a GIUSEPPINA PACE PEREIRA LIMA

ORIENTADORA

PROF. DR. ENES FURLANI JUNIOR

Co-orientador

**Tese apresentada ao Instituto de
Biociências, Câmpus de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de
Doutor em Ciências Biológicas
(Botânica), AC: Fisiologia Vegetal**

BOTUCATU - SP

- 2016 -

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Hiraki, Simone Silva.

Tolerância e potencial fitorremediador de *Jatropha curcas* L. aos metais níquel e cobre / Simone Silva Hiraki.
- Botucatu, 2016

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de
Botucatu

Orientador: Giuseppina Pace Pereira Lima

Coorientador: Enes Furlani Junior

Capes: 20303009

1. Pinhão-manso. 2. Metais pesados. 3. Solos - Teor de metal pesado. 4. Solos - Poluição. 5. Níquel. 6. Cobre.

Palavras-chave: Composição mineral; Crescimento vegetativo; Metais pesados; Pinhão-manso.

DEDICATÓRIA

À minha mãe **Elza Baltazar da Silva** a quem devo toda a minha vida e me educou para que eu me tornasse a mulher que sou hoje. Tu és minha heroína, minha “mulher maravilha”, uma verdadeira guerreira! Tenho orgulho de ser sua filha...

Ao meu pai **Mauro Massachi Hiraki**, o qual mesmo sem entender direito o que eu tanto fazia na frente do computador e no laboratório, sempre acreditou no meu potencial.

À minha grande amiga e colega de trabalho **Amanda Pereira Paixão** por tolerar minha irritação, me incentivar, e me ajudar em todos os momentos.

À minha irmã **Monique Silva Hiraki**, minha “Nikinha”, que estava sempre presente e disposta a me ajudar. Te amo muito, minha irmã.

Ao meu noivo **Fábio Junio da Cunha**, meu maior incentivador e cobrador. Te amo imensamente. Obrigada por me dar lucidez em todas as vezes que pensei em desistir.

AGRADECIMENTOS

À DEUS, pelo dom da vida e pela força para enfrentar mais essa difícil e longa etapa.

À CAPES pela bolsa de pesquisa concedida.

À PETROBRAS pela parceria firmada e pelo incentivo ao desenvolvimento de pesquisas com a espécie *Jatropha curcas* L.

A minha orientadora profa. Dra. Giuseppina Pace Pereira Lima pela confiança, ensinamentos de técnicas analíticas, por sua criticidade com relação à minha escrita e principalmente por me incentivar, ter paciência e me ouvir nos momentos em que pensei em desistir.

Ao meu co-orientador prof. Dr. Enes Furlani Júnior pela confiança depositada, amizade, ideias e principalmente por sua paciência, em todos os momentos deste trabalho. Aprendi muito neste tempo em que trabalhamos juntos.

A profa. Dra. Liliane Santos de Camargos e Lucas Anjos de Souza pela ideia do projeto de pesquisa e pelas sugestões dadas

A profa. Dra. Kuniko Ywamoto Haga, e prof. Dr. Luis Lessi dos Reis pelo apoio e incentivo pessoal e profissional.

Aos técnicos de laboratório: Alexandre Marques da Silva, Carlos (“Carlim”) e Selma Maria Bozzite Moraes pelos ensinamentos de técnicas laboratoriais essenciais à execução deste trabalho. A experiência de vocês enriqueceu grandemente este trabalho.

Aos alunos do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas Luis Henrique Marani Daruichi Machado, Marcio Antonio de Lima, Marcelo Augusto Gomes e Marcelo M. Alcantara; aos mestrandos em agronomia Amanda Pereira Paixão, Jailson Vieira Aguilari e Carlos Vinícius Sanches; às alunas do curso de Engenharia Agrônoma Mayara Martins e Martins e Marta Moitinho; ao doutorando Antonio Flávio Ferreira; Monique Silva Hiraki, Fabio Junio da Cunha e Tatiane Garcez por toda ajuda nas análises laboratoriais e de campo. Agradeço por todos os dias que passamos juntos, sem vocês eu jamais faria este trabalho.

Aos amigos Elaine Renata de C. Viana Pereira, Gustavo Alves Pereira, Danilo Marcelo Aires dos Santos, Ricardo de Oliveira Manoel e Edemir Feliciano que estiveram ao meu lado desde o mestrado, me apoiando.

Ao IFMT – Campus Juína pelo incentivo à finalização deste trabalho.

A todos os professores ligados ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Botânica, do Instituto de Biociências de Botucatu pela confiança, ensinamentos e pela grande contribuição à minha carreira acadêmica, profissional e pessoal.

HIRAKI, S. S. **TOLERÂNCIA E POTENCIAL FITORREMEIADOR DE *Jatropha curcas* L. AOS METAIS NÍQUEL E COBRE.** 2016. 83 P. TESE (DOUTORADO) – INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU, UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, BOTUCATU.

RESUMO - Devido às atividades antrópicas de mineração, descarte inadequado de resíduos, e uso exagerado de pesticidas químicos, problemas de contaminação dos solos por metais pesados têm sido cada vez mais registrados, ocupando áreas agrícolas que poderiam ser utilizadas por culturas alimentares. Dentre as técnicas utilizadas para descontaminar áreas poluídas por metais, existe a fitorremediação, que é uma técnica que utiliza plantas para extrair, ou reter os metais do solo. O pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) é uma espécie que foi apontada em muitos trabalhos como tolerante à solos de baixa fertilidade e com alta concentração de metais pesados, e graças à essas características, poderia ser utilizada em programas de fitorremediação. No entanto, os dados sobre crescimento, tolerância, acúmulo de metais e alterações na composição mineral da espécie são escassos, necessitando que mais trabalhos sejam realizados a fim de comprovar esse potencial. A fim de analisar o potencial da espécie *J. curcas* para uso em áreas contaminadas por níquel e cobre, foram realizados seis experimentos aplicando-se 0; 6,5; 13; 30; 70 e 100 mg de Ni Kg⁻¹, e 0; 17,5; 35; 60; 200 e 400 mg de Cu Kg⁻¹ nas fases de germinação, desenvolvimento inicial e em plantas com dois anos de idade. Os resultados obtidos demonstraram que *J. curcas* tem potencial para revegetar áreas em processo de descontaminação por níquel, por mostrar melhorias na germinação, além de apresentar parâmetros de crescimento pouco afetados, apesar de ser notado um antagonismo à absorção de Mg, Cu e Zn, que poderiam levar à problemas em outras fases do desenvolvimento. A espécie não é indicada para plantio em áreas contaminadas por cobre, apresentando queda da germinação, alta mortalidade na fase jovem e sintomas visuais de toxidez causados por esse metal. Além das alterações no crescimento, a presença de cobre pode reduzir a absorção de N, P e Fe nutrientes essenciais ao desenvolvimento da planta.

Palavras-chave: Pinhão-manso. Metais pesados. Composição mineral.

HIRAKI, S. S. TOLERANCE AND PHYTOREMEDIATION POTENTIAL OF *Jatropha curcas* L. TO METALS NICKEL AND COPPER. 2016. 83 P. TESE (DOUTORADO) – INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU, UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, BOTUCATU.

ABSTRACT – Because the human activities of mining, inadequate waste disposal, and exaggerated use of chemical pesticides, soil contamination problems from heavy metals have been increasingly recorded, occupying agricultural land that could be used for food crops. Among the techniques used to decontaminate areas polluted with metals, there is phytoremediation, which is a technique that uses plants to extract or retain metals from soil. The physic nut (*Jatropha curcas* L.) is a species that was identified in many studies as tolerant of low soil fertility and high concentrations of heavy metals, and thanks to these characteristics, could be used in phytoremediation programs. However, data on growth, tolerance, accumulation of metals and changes in mineral composition of this kind are still scarce, requiring that more studies be carried out to prove that potential. In order to analyze the potential of *J. curcas* species for use in areas contaminated by nickel and copper, six experiments were carried out by applying 0; 6.5; 13; 30; 70 and 100 mg Kg⁻¹ Ni, and 0; 17.5; 35; 60; 200 and 400 mg Kg⁻¹ Cu phases germination and early development of plants with two years of age. The results showed that *J. curcas* has potential for Revegetate areas for nickel decontamination process, presents improvements on the germination and the growth parameters are little affected despite being noticed a antagonism the absorption of Mg, Cu and Zn, which could lead to problems in other stages of development. The species is not indicated for planting in copper contaminated areas, showing a drop of germination, high mortality in young stage and visual symptoms of toxicity caused by copper. In addition to the changes in growth, the presence of copper may reduce the absorption of N, P and Fe nutrients essential to plant development.

Key words: Physic nut. Heavy metal. Mineral composition.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	8
CAPÍTULO 1: REVISÃO DE LITERATURA	10
1.1 Características botânicas, origem, ocorrência e aspectos econômicos da espécie <i>Jatropha curcas</i> L.....	10
1.2 Cobre: características do elemento, fontes e níveis de poluição, sintomas de fitotoxidez	12
1.3 Níquel: características do elemento, fontes e níveis de poluição, sintomas de fitotoxidez	14
1.4 Fitorremediação	17
REFERÊNCIAS	19
CAPÍTULO 2: TOLERÂNCIA E EXTRAÇÃO DE NÍQUEL PELO PINHÃO-MANSO EM LATOSSOLO CONTAMINADO	23
INTRODUÇÃO	24
MATERIAL E MÉTODOS	25
Tratamentos e delineamento experimental	25
Solo utilizado e condições experimentais	26
Análise dos parâmetros de crescimento	26
Análise química dos tecidos vegetais.....	27
Análise química do solo.....	27
Análise estatística dos dados.....	28
RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
CONCLUSÕES	35
REFERÊNCIAS	36
CAPÍTULO 3: NUTRIÇÃO MINERAL DE PINHÃO-MANSO EM LATOSSOLO CONTAMINADO POR NÍQUEL	38
INTRODUÇÃO	38
MATERIAL E MÉTODOS	40
Tratamentos e delineamento experimental	40
Análise química dos tecidos vegetais.....	41
Análise estatística dos dados.....	42
RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
CONCLUSÃO	50
REFERÊNCIAS	50
CAPÍTULO 4: CRESCIMENTO, DISTRIBUIÇÃO E ACUMULAÇÃO DE COBRE EM PINHÃO-MANSO	52
INTRODUÇÃO	53
MATERIAL E MÉTODOS	54

Tratamentos e delineamento experimental	54
Análise dos parâmetros de crescimento	55
Análise química dos tecidos vegetais	56
Análise química do solo	56
Análise estatística dos dados	57
RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
CONCLUSÃO	65
REFERÊNCIAS	65
CAPÍTULO 5: NUTRIÇÃO MINERAL DE PINHÃO-MANSO EM LATOSSOLO CONTAMINADO POR COBRE	68
INTRODUÇÃO	69
MATERIAL E MÉTODOS	70
Tratamentos e delineamento experimental	70
Análise química dos tecidos vegetais	71
Análise estatística dos dados	72
RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
CONCLUSÃO	80
REFERÊNCIAS	81
CONSIDERAÇÕES FINAIS	83

INTRODUÇÃO

O aumento das atividades industriais e de mineração aliado ao uso inadequado de fertilizantes e pesticidas têm contribuído para a contaminação do solo, cursos de água e lençol freático por metais pesados. A conceituação de metais pesados engloba aspectos ambientais e toxicológicos, e dentro de uma contextualização química, são considerados metais pesados elementos metálicos que apresentam massa específica elevada variando entre 3,5 e 7,0 g/cm³ e massa atômica superior a 23 (Lima; Merçon, 2011).

Uma determinada área é considerada contaminada se, entre outros fatores, as concentrações de elementos ou substâncias de interesse ambiental estão acima de um dado limite denominado valor de intervenção. Acima desse limite, há um risco potencial de efeito deletério sobre a saúde humana, havendo necessidade de uma ação imediata na área. Até dezembro de 2013, o cadastro de locais contaminados no Estado de São Paulo apontou a existência de 4.771 locais, sendo 760 com metais pesados (Cetesb, 2013).

A busca e o desenvolvimento de soluções tecnológicas que atendam à legislação ambiental se fazem primordiais. Neste contexto, destaca-se a fitorremediação, que utiliza plantas para remover os metais do solo acumulando-os nas raízes e parte aérea. É uma tecnologia de baixo custo (Tandy et al., 2004) e o seu sucesso depende, do grau de contaminação do metal no solo, da capacidade das plantas em acumularem o metal na parte aérea e da disponibilidade do metal no solo. Essa técnica possui outros benefícios como a manutenção da fertilidade do solo e a grande aceitação pública por ser uma tecnologia ‘verde’, além de ter a luz solar como principal fonte de energia (Usepa, 2004).

Plantas das famílias Brassicaceae, Asteraceae, Lamiaceae e Euphorbiaceae, têm sido identificadas com potencial para extração de metais do solo. Pertencente à esta última, o pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) tem sido divulgado como uma alternativa promissora para fornecimento de matéria-prima para a fabricação de biocombustíveis, devido ao seu elevado teor de óleo na semente, e uma das características apresentadas por esta espécie que também é observada na mamoneira (*Ricinus comunis* L.), é seu crescimento em solos salinos e com a presença de metais pesados (Cortês, 1956) o que indicaria um certo potencial dessas duas euforbiáceas para fins de fitorremediação.

Sendo assim, *J. curcas* poderia ser utilizada em projetos para recuperação de áreas contaminadas por metais, agregando benefícios econômicos e ambientais, pois uma vez que não se trata de uma cultura alimentar, os metais extraídos e armazenados na planta não seriam

transferidos à cadeia alimentar humana, e se, a médio e longo prazo, a produção de frutos for satisfatória, as sementes poderiam ser utilizadas comercialmente como matéria-prima, para produção de biocombustível.

Alguns estudos indicaram que *J. curcas*, bem como outras espécies da mesma família, são capazes de sobreviver em solos com grandes quantidades de metais. Kumar et al. (2008) demonstraram que a espécie é capaz de crescer em solos com cromo, arsênio e zinco, e que acréscimos com biofertilizantes, podem melhorar a capacidade de absorção, diminuindo os sintomas de toxicidade na planta.

Ghavri e Singh (2010) relataram que *J. curcas* pode ser utilizada para a fitorremediação de áreas contaminadas com ferro, pois além de exibirem crescimento vigoroso, as plantas são capazes de acumular o metal na parte aérea. Tal acúmulo pode ser ainda maximizado, com o acréscimo de matéria orgânica ao solo.

Chaves et al. (2010) concluíram que em solo arenoso, *J. curcas* é capaz de se desenvolver com doses de cobre e zinco no solo de até 75 e 50 mg Kg⁻¹, respectivamente, e que o maior acúmulo desses metais deu-se nas partes aéreas, o que é uma característica desejável para uma planta fitoextratora.

Mangkoedihardjo e Surahmaida (2008) verificaram que apesar de *J. curcas* não ser acumuladora de chumbo e cádmio, a espécie pode ser utilizada para fins de fitorremediação desde que as concentrações iniciais desses metais não superem 50 mg Kg⁻¹ de solo. Além disso, os autores estabeleceram doses letais medianas (LD-50) de 10 e 20 mg Kg⁻¹ no solo, de cádmio e chumbo, respectivamente, para a espécie.

Tendo em vista os argumentos mencionados em relação à grande perspectiva de potencial fitorremediador da espécie, o objetivo deste trabalho foi analisar os efeitos de doses crescentes de níquel e cobre sobre a germinação, crescimento e nutrição mineral, da espécie *Jatropha curcas* L. com a finalidade de caracterizá-la ou não para utilização potencial em programas de recuperação de áreas contaminadas por metais pesados.

CAPÍTULO 1: REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Características botânicas, origem, ocorrência e aspectos econômicos da espécie *Jatropha curcas* L.

A família Euphorbiaceae possui cerca de 317 gêneros e 8000 espécies, distribuindo-se principalmente nos trópicos e subtropicais (Cronquist, 1981). Entre essas espécies, está *Jatropha curcas* L, conhecida popularmente como pinhão-mansão.

J. curcas é um arbusto de crescimento rápido, cuja altura varia de dois a cinco metros. As folhas são decíduas, alternadas e subopostas com filotaxia em espiral, cada folha dista 105° da próxima, os pecíolos são longos e esverdeados, dos quais partem as nervuras divergentes, e no final da época seca ou durante a estação fria, as folhas caem, em parte ou totalmente (Saturnino et al., 2005). O diâmetro caule é de aproximadamente 20 cm na fase adulta, possui poucas ramificações, caule liso, de lenho mole e medula desenvolvida, mas pouco resistente; floema com longos canais que se estendem até as raízes, nos quais circula o látex (Arruda et al., 2004). As flores da espécie são pequenas, amarelo-esverdeadas e o fruto é uma cápsula com três sementes escuras e lisas (Martins et al., 2008).

A semente do pinhão-mansão pesa de 0,48 a 0,72 g e fornece de 50 a 52% de óleo quando extraído com solventes, e 32 a 35% em caso de extração por trituração e aquecimento da amêndoa (Brasil, 1985). O gênero *Jatropha* apresenta polinização entomófila, o que aumenta a probabilidade de ocorrência de variabilidade genética dentro das espécies (Saturnino et al., 2005).

De acordo com a “Society for Rural Initiatives for Promotion of Herbals”, *J. curcas*, é uma espécie originária da América Central, com relatos de mais de 70 milhões de anos atrás. Peixoto (1973) julga que o pinhão-mansão seja oriundo da América do Sul, Brasil ou ainda das Antilhas, e que foi introduzido em 1783, nas Ilhas do Arquipélago de Cabo Verde, alcançando depois a África e a Índia, e posteriormente disseminada por todas as regiões tropicais, e em menor proporção, nas regiões frias.

Heller (1996) alega que o pinhão-mansão originou-se no México e América Central, mas que é cultivado em muitos outros países latino americanos, africanos e asiáticos como cerca viva e que foi um importante produto de exportação nas Ilhas de Cabo Verde durante a primeira metade do século passado. Porém, esse mesmo autor relata que as informações sobre o país de sua origem ainda não são totalmente claras, visto que vários trabalhos relatam origens diferentes

da espécie e que apesar de diversos cientistas tentarem definir a origem de *J. curcas*, a sua fonte continua bastante controversa.

Independente da origem, o pinhão-manso é encontrado em várias regiões intertropicais, ocorrendo na América Central, Índia, Filipinas e Timor, até mesmo nas zonas temperadas. A espécie ocorre praticamente em todas as regiões do Brasil, sempre de forma dispersa e adaptando-se às mais diversas condições edafoclimáticas, propagando-se, sobretudo, nos estados do Nordeste, assim como em Goiás e Minas Gerais e, de modo geral, crescendo nos terrenos abandonados e não cultivados, não subsistindo, porém, nos locais de densa vegetação, com a qual dificilmente consegue competir (Epamig, 2008).

J. curcas é uma planta com muitos atributos, múltiplos usos e considerável potencial, em especial para prevenção e controle de erosão do solo, recuperação do solo e como cerca viva (Jongschaap et al., 2007). Tong et al. (2006) acrescentam que a espécie, também é utilizada na produção de sabão, cosméticos, pesticidas e medicamentos anticancerígenos. Outros aspectos positivos se referem à produção de óleo com a vantagem de armazenamento das sementes por longos períodos de tempo, sem os inconvenientes da deterioração do óleo por aumento da acidez livre, como acontece com os frutos de dendê, por exemplo (Sluszz; Machado, 2006). *J. curcas* apresenta uma grande vantagem em relação a outras culturas, pois, ela se adapta a variadas condições externas, como por exemplo, solos salinos e contaminados por metais pesados (Kumar et al., 2008).

O pinhão-manso leva de três a quatro anos para atingir a idade produtiva, que se estende por 40 anos, e produz, no mínimo, duas toneladas de óleo por hectare, o que reflete de forma positiva para o cultivo da espécie (Cunha, 2009). Há diversos relatos do uso do óleo e sementes de pinhão-manso em lamparinas e candeieiros, por ser inodoro e ao ser queimado não produzir fumaça (Saturnino et al., 2005).

Na medicina popular, aplica-se o látex da planta como cicatrizante, hemostático e purgante, as raízes são consideradas diuréticas e antileucêmicas e as folhas são utilizadas para combater doenças de pele. São eficazes também contra o reumatismo e possuem alto poder antisifilítico, porém, verificam-se casos de intoxicação pelas sementes, em crianças e adultos quando ingeridas em excesso, o que pode ser perigoso e até fatal. Outras propriedades tóxicas do pinhão-manso são atribuídas à presença de uma globulina, a curcasina, e também ao ácido jatrópico, de toxicidade igual ou superior à ricinina (Arruda et al., 2004).

O pinhão-manso é utilizado industrialmente no arquipélago de Cabo verde, em Angola, Guiné, Moçambique, Antilhas Britânicas, Filipinas, México, Porto Rico, Venezuela e El Salvador, sempre em consórcio com outras culturas (Peixoto, 1973). Porém, atualmente, a Índia

vem se destacando nessa cultura. Segundo Saturnino et al. (2005), esse país vem desenvolvendo um grande programa de pesquisa com a espécie, entre outras oleaginosas, visando produção de biodiesel. No Brasil, com o advento do Programa Brasileiro de Biodiesel e o surgimento de grande demanda por óleos vegetais, o pinhão-manso foi divulgado como uma alternativa promissora para fornecimento de matéria-prima. Esta escolha se baseia na expectativa de que a planta tenha baixo custo de produção e seja resistente ao estresse hídrico, o que teria uma vantagem significativa principalmente na região semi-árida do país (Beltrão et al., 2007). Porém, o incentivo ao plantio do pinhão-manso em extensas áreas causa grande apreensão aos técnicos envolvidos com a pesquisa agrícola no Brasil, pois é uma cultura sobre a qual o conhecimento científico ainda é extremamente limitado (Beltrão et al., 2006).

1.2 Cobre: características do elemento, fontes e níveis de poluição, sintomas de fitotoxidez

O cobre (Cu) é um elemento amplamente distribuído na natureza presente em rochas, solo, água e ar. Os compostos de cobre podem ser usados na agricultura, no tratamento da água para controle de algas, na preservação de madeira, couro e tecido e como aditivo para alimentos, sendo a forma mais utilizada o sulfato de cobre pentahidratado (Cetesb, 2012 a).

O cobre é abundante na natureza na forma de sulfetos, arsenitos, cloretos e carbonatos, em concentrações naturais que variam em torno de 24 a 55 mg Kg⁻¹ na crosta terrestre (Baker; Senft, 1995). Está naturalmente presente na atmosfera por dispersão de partículas geológicas pelo vento e das erupções vulcânicas. Pode ser encontrado em animais e plantas, em altas concentrações em animais filtradores, como ostras e mexilhões. Também é encontrado em vários alimentos e bebidas (Cetesb, 2012 a).

No solo o cátion Cu²⁺ pode interagir com vários componentes minerais e orgânicos. O cobre precipita-se com os ânions sulfeto, carbonato e hidróxido, e é adsorvido facilmente à óxidos de Fe e Mn, ou hidróxidos amorfos de Fe e Al. Tais características de interação, tornam o cobre pouco móvel no solo (Kabata-Pendias; Pendias, 1992), mas em solos ácidos sua biodisponibilidade pode ser aumentada (Redente; Richards, 1997).

As principais fontes antropogênicas de emissão de cobre para o ambiente são a mineração e fundição, a queima de carvão como fonte de energia e a incineração de resíduos municipais. Outras fontes podem ser o uso como agente antiaderente em pinturas, na agricultura e excretas de animais e esgotos, porém essas fontes são menos relevantes (Cetesb, 2012 a).

No Estado de São Paulo têm-se como valores de referência de qualidade do cobre no solo a quantia de até 35 mg Kg⁻¹, a partir de 60 mg Kg⁻¹ os solos passam a ser monitorados pois encontram-se dentro do chamado valor de prevenção, no qual a qualidade e as funções do solo passam a ser comprometidas. Até o ano de 2013, eram considerados valores de intervenção concentrações de cobre no solo superiores a 200 mg Kg⁻¹ (Cetesb, 2005), mas a partir de fevereiro de 2014, os valores de intervenção para as áreas agrícola, residencial e industrial passaram a ser de 760, 2.100 e 10.000 mg Kg⁻¹, respectivamente (São Paulo, Cetesb 2014). Neste contexto, os solos com teores iguais ou superiores aos valores de intervenção, dentro de cada área, passam a ser considerados contaminados e devem, obrigatoriamente, passar por processos de reabilitação para que não causem danos à saúde humana (Cetesb, 2012 a)

O cobre é um elemento essencial aos organismos vivos em pequenas quantidades, entretanto, em quantidades acima das recomendadas em humanos causa asma, câibras, epilepsia, espasmos, psoríase, hipertensão, deficiência imunológica, esquizofrenia e a doença de Wilson, que se caracteriza por degeneração do fígado e do cérebro. Em ovinos e bovinos, a intoxicação por cobre seja via água contaminada ou excesso desse metal na pastagem é relatada em diversos trabalhos. A população pode ser exposta ao metal por inalação, ingestão de alimentos e água, ou contato dérmico, porém a principal via de exposição para pessoas não expostas ocupacionalmente ao cobre, é a oral (Cetesb, 2012 a).

Nas plantas o cobre é um micronutriente essencial que desempenha um importante papel nos processos fisiológicos redox. Várias proteínas contendo Cu desempenham papel fundamental em processos tais como fotossíntese, respiração, desintoxicação de radicais superóxido e lignificação. Quando há deficiência de cobre, as atividades de todas essas enzimas ficam drasticamente reduzidas. O decréscimo do transporte fotossintético de elétrons, como consequência especialmente dos menores teores da plastocianina, uma proteína contendo cobre, diminui a taxa de fixação de CO₂, de tal modo que o teor de amido e de carboidratos solúveis (especialmente sacarose) é diminuído. Este é o principal fator que causa a redução da produção de matéria seca em plantas que sofrem deficiência deste elemento durante o crescimento vegetativo (Kirkby; Römheld, 2007).

Devido à pouca mobilidade do cobre no floema, na sua deficiência as folhas mais novas apresentam os primeiros sintomas, indicando que a quantidade do nutriente translocada no floema, não é suficiente para sustentar o desenvolvimento de novos tecidos (Sfredo; Borkert, 2004).

Laviola e Dias (2008) caracterizaram o cobre como o elemento presente em menor quantidade no limbo foliar e em frutos maduros de *J. curcas*. Os valores encontrados em plantas

adultas para o elemento foi de 11,71 μg folha⁻¹ e 27,15 μg fruto⁻¹, com variações médias de 2,0 μg em cada uma das partes citadas. Em plantas jovens de *J. curcas*, o cobre é o segundo micronutriente que mais afeta a produção de matéria seca, e quando omitido da solução nutritiva, as plantas passam a apresentar engrossamento das nervuras e clorose internerval (Silva et al., 2009). Além dessas características, é relatado que quando deficientes em cobre, diversas espécies apresentam redução no crescimento devido ao encurtamento dos internódios, as folhas mais novas assumem a cor verde-acinzentada ou verde-azulada. Já nas plantas que apresentam sintomas de toxicidez aparecem pontos necróticos na borda dos folíolos das folhas mais velhas, que progridem para as mais novas (Sfredo; Borkert, 2004).

O cobre em doses elevadas é considerado tóxico há muitas espécies. Em mudas de girassol (*Helianthus annuus* L.) por exemplo, o excesso de cobre nos tecidos induziu estresse via geração de espécies reativas de oxigênio, e por reduzir a atividade da catalase, ocasionou na oxidação da estrutura de diversas proteínas. O estresse causado pelo cobre leva à redução da taxa de germinação por causar inibição nas atividades da α -amilase e invertase, afetando dessa forma além da mobilização de reservas nutritivas, a absorção de água nos tecidos (Sethy; Ghosh, 2013).

Espécies como *Typha dominguensis* Pers. (Martins et al., 2007), *R. comunis* e *H. annuus* são capazes de retirar quantidades significativas de cobre no solo, chegando a extrair até 53 mg Kg⁻¹ do metal (Zeitouni, 2003).

1.3 Níquel: características do elemento, fontes e níveis de poluição, sintomas de fitotoxicidez

O níquel (Ni) no estado puro é um metal prateado, razoavelmente duro, dúctil e maleável. Apresenta um fraco brilho amarelado devido, em parte, à existência de uma camada protetora de óxido. Forma compostos inorgânicos solúveis, como os hidróxidos, sulfatos, cloretos e nitratos, e insolúveis, como os óxidos e sulfetos. Também pode formar carbonila de níquel, um composto orgânico volátil e incolor. O níquel é utilizado principalmente na fabricação de aço inoxidável, por ser um elemento resistente à ação corrosiva de muitos ácidos, álcalis e sais, na galvanoplastia do cromo para conferir adesão do cromo ao ferro e como catalisador em algumas reações de hidrogenação, como na fabricação da margarina e manteiga a partir de gorduras líquidas. Também é usado na produção de ligas, baterias alcalinas, moedas, pigmentos inorgânicos, próteses clínicas e dentárias (Cetesb, 2012 b).

O níquel está naturalmente presente no solo e na água, geralmente como elemento traço, além de ser um elemento requerido pelas plantas, mas não se conhece função nos animais. Os solos agrícolas podem conter entre 3 e 1000 mg Kg⁻¹ (Cetesb, 2012 b). Entretanto, a rápida industrialização e urbanização têm causado acumulação de níquel em ambientes onde ele não estava presente naturalmente, causando sua transferência em toda a cadeia alimentar. Altas concentrações de níquel (superiores a 50 mg Kg⁻¹) causam problemas no crescimento da maioria das espécies de plantas (Rahman; Mahmud, 2010) e a partir de 250 mg Kg⁻¹ causam efeitos agudos em humanos (Cetesb, 2012 b).

A contaminação humana ao níquel pode ocorrer por inalação de ar, ingestão de água e alimentos ou contato com a pele. Dentre os problemas de saúde causados por esse metal estão a dermatite de contato, dores estomacais, alterações sanguíneas e renais, bronquite crônica, diminuição da função pulmonar e câncer nos pulmões e seios nasais. As atividades mais comuns que acarretam exposição ocupacional ao níquel são a mineração, a moagem e a fundição dos minérios, a partir de sulfetos e óxidos, e a utilização de produtos primários de níquel, tanto na produção de aço inoxidável e de ligas quanto em fundições (Cetesb, 2012 b).

No Estado de São Paulo têm-se como valores de referência de qualidade do níquel no solo a quantia de até 13 mg Kg⁻¹, a partir de 30 mg Kg⁻¹ os solos passam a ser monitorados pois encontram-se dentro do chamado valor de prevenção, no qual a qualidade e as funções do solo passam a ser comprometidas. Até o ano de 2013, solos com teores acima de 70 mg Kg⁻¹ eram considerados contaminados para a área agrícola (Cetesb, 2005), mas a partir de fevereiro de 2014 todos os valores de intervenção foram alterados, considerando a partir de então, os níveis de 190, 480 e 3.800 mg Kg⁻¹, como valores de intervenção para as áreas agrícola, residencial e industrial, respectivamente (São Paulo, Cetesb, 2014).

Presente em grande número de plantas, o níquel foi descrito como componente da enzima urease, despertando na comunidade científica o interesse acerca da sua função em plantas. A confirmação final de que o níquel é um nutriente essencial para as plantas veio a partir do trabalho de Brown e seus colaboradores, os quais foram capazes de demonstrar que o níquel é requerido para a viabilidade da cevada (*Hordeum vulgare* L.). Cultivando plantas de cevada por três gerações em meio nutritivo sem níquel, as sementes produzidas apresentaram concentrações extremamente baixas deste micronutriente, apresentando inviabilidade nos parâmetros de germinação (Kirkby; Römheld, 2007), e na publicação de Marschner (1995), ele foi incluído na lista dos micronutrientes de plantas.

Por ser requerido em baixíssimas quantidades, a deficiência de níquel em plantas cultivadas em solo não é observada, sendo relatada em apenas uma cultura, de árvores de noz

pecan (*Carya illinoensis* (Wang.) K.) no sudeste dos Estados Unidos, as quais apresentaram folhas pequenas em forma de concha (“orelha-de-rato”) e madeira quebradiça (Wood et al., 2003).

Sintomas de deficiência de níquel dificilmente são detectados em plantas em condições de campo, porém o efeito tóxico deste elemento já é conhecido há muito tempo. Em trigo (*Triticum* sp.), 2 mg Kg⁻¹ na planta foram suficientes para inibir o crescimento das raízes, e teores no solo a partir de 8 mg Kg⁻¹ demonstraram tal toxicidade. Por outro lado, em plantas de aveia (*Avena sativa* L.) cultivadas em solo com teor de 147 mg Kg⁻¹, não foi observado nenhum sintoma de toxidez (REIS et al., 2014), demonstrando que a necessidade nutricional e as respostas fisiológicas, para as diferentes quantidades de níquel no solo apresentadas, variam grandemente conforme a espécie estudada.

O níquel é reportado por ser tóxico para a maioria das espécies de plantas e afeta a atividade de proteases, amilases e ribonucleases, causando retardamento da germinação e no crescimento da maioria das culturas. Há relatos de que este elemento afeta a digestão e mobilização de reservas energéticas como proteínas e carboidratos na germinação de sementes, reduzindo a altura das plantas, comprimento das raízes, massas fresca e seca, teores de clorofila e atividade da enzima anidrase carbônica e aumentando o conteúdo de malondialdeído (Sethy; Ghosh, 2013).

O estresse causado pelo níquel afeta os pigmentos fotossintéticos, diminui a produção e causa o acúmulo de Na⁺, K⁺ e Ca⁺ em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), e em *Brassica nigra* (L.) Koch., o níquel aliado ao NaCl, aumentou os níveis de eletrólitos livres, a peroxidação de lipídeos, o conteúdo de H₂O₂, a atividade de enzimas antioxidantes e o conteúdo de prolina (Sethy; Ghosh, 2013).

O níquel é um dos elementos mais tóxicos para as plantas, sendo oito vezes mais tóxico às plantas que o zinco outro micronutriente essencial. Todavia algumas plantas são tolerantes à toxicidade do níquel e acumulam uma grande quantidade deste metal em suas raízes, sem demonstrar efeitos adversos. Dentre os sintomas de toxicidade de níquel estão a clorose, seguida de necrose e escurecimento das folhas, morte de folhas jovens e depressão das gemas apicais, redução do crescimento e da absorção de outros elementos essenciais (Kaveriammal; Subramani, 2015).

1.4 Fitorremediação

Na busca de alternativas para despoluir áreas contaminadas, tem-se optado por soluções que englobam: eficiência na descontaminação, simplicidade na execução, pouco tempo demandado pelo processo e baixo custo. Nesse contexto, cresce o interesse pela utilização da biorremediação, caracterizada como uma técnica que objetiva descontaminar solo e água por meio da utilização de organismos vivos, como microrganismos e plantas (Pires et al., 2003).

Dentro da biorremediação insere-se a fitorremediação, que, segundo Accioly e Siqueira (2000), envolve o emprego de plantas, sua microbiota associada e de amenizantes (corretivos, fertilizantes, matéria orgânica, etc.) do solo, além de práticas agrônômicas que, se aplicadas em conjunto, removem, imobilizam ou tornam os contaminantes inofensivos ao ecossistema.

O termo fitorremediação, do inglês *phytoremediation* (*phyto* = vegetal + *remediation* = remediação) foi cunhado pelo Dr. L. L. Raskyn, professor de biologia Rutgers University, EUA, 1989 (Black, 1995) e desde então têm sido amplamente difundido pelo mundo.

Desde a década de 90, diversas pesquisas tiveram como foco a fitorremediação, notadamente nos EUA e Europa, onde existem inúmeros grupos de pesquisa que se dedicam exclusivamente ao estudo e divulgação da remediação por plantas e até algumas companhias que a exploram com fins lucrativos (Santos et al., 2007).

A utilização da fitorremediação tem sido estudada e difundida principalmente nos Estados Unidos e na Europa, sendo que as projeções anuais são de que nos Estados Unidos os gastos com fitorremediação, até 2005, foram de 100-200 milhões de dólares. No Estado de São Paulo, de acordo com o relatório de dezembro de 2013 elaborado pela CETESB das 2.674 áreas nas quais a remediação foi finalizada, em apenas três foi utilizada a fitorremediação. Técnicas de alto custo e de alto impacto ambiental, como a extração de vapores e remoção de solo, são ainda as técnicas mais utilizadas no Estado (Cetesb, 2013).

Quando comparada com técnicas tradicionais como bombeamento e tratamento, ou remoção física da camada contaminada, a fitorremediação tem sido considerada vantajosa, principalmente por sua eficiência na descontaminação e pelo baixo custo. A pesquisa com metais pesados tem sido a mais difundida, como é o caso de algumas espécies que já têm sua eficiência comprovada (Accioly; Siqueira, 2000).

Tendo em vista as condições climáticas mais favoráveis e a biodiversidade existente, comparativamente às regiões de clima temperado, o Brasil apresenta grande potencial de uso dessa tecnologia. O País conta também com a flora mais diversificada do mundo, com número superior a 55 mil espécies descritas, o que corresponde a 22% do total mundial (Brasil, 2002).

Didaticamente a fitorremediação pode ser dividida em oito processos denominados de Fitoextração, Fitoacumulação, Fitodegradação, Fitovolatilização, Fitoestimulação, Rizodegradação, Rizovolatilização e Rizoestabilização, os quais ocorrem em função das características morfofisiológicas de cada espécie vegetal (Tabela 1).

Tabela 1 - Mecanismos biológicos de fitorremediação.

MECANISMO	DESCRIÇÃO DO PROCESSO
Fitoextração	Absorção do contaminante no ambiente pela espécie vegetal.
Fitoacumulação	Armazenamento do contaminante nas raízes ou outros órgãos, sem modificação nas moléculas do xenobiótico (aprisionado). Ocorre após a fitoextração.
Fitodegradação	Bioconversão contaminante em forma menos tóxicas ou não tóxicas nas raízes ou outros órgãos dos vegetais; em alguns casos a transformação ocorre de forma intensa, resultando na mineralização do xenobiótico. Ocorre após a fitoextração, ou mesmo após a fitoacumulação.
Fitovolatilização	Volatilização de um contaminante fitotransformado a uma forma volátil, a qual é liberada na atmosfera. Ocorre após a fitoextração ou mesmo após a fitoacumulação.
Fitoestimulação	Estimulação à concentração, ativação de comunidade microbiana apta a biodegradar o contaminante, resultado da produção e liberação de exsudatos radiculares pela espécie vegetal.
Rizodegradação	Biodegradação do contaminante pela comunidade microbiana associada a rizosfera da espécie vegetal. Normalmente ocorre após a Fitoestimulação.
Rizovolatilização	Volatilização do meio contaminante rizotransformado a uma forma volátil, a qual é liberada na atmosfera.
Rizoestabilização	Imobilização, lignificação ou humificação do contaminante na rizosfera da espécie vegetal, ficando o contaminante inativo no solo, mesmo que preservando sua integridade molecular.

Fonte: Embrapa, 2012.

Algumas plantas superiores desenvolveram estratégias de tolerância a metais pesados que lhes permitem sobreviver e se reproduzir em solos altamente contaminados. Um número muito reduzido de angiospermas, aproximadamente 2%, são consideradas metalófitas absolutas e são acumuladoras de metais pesados apenas em substratos enriquecidos (Baker et al., 2000).

Todas as metalófitas podem ser potencialmente utilizadas na recuperação ou fitoextração de áreas contaminadas por metais, entretanto tais espécies têm limitada distribuição geográfica e são consideradas raras e vulneráveis devido à sua ocorrência limitada (Bhatia et al., 2005).

Apesar do grande potencial desta técnica há algumas desvantagens: o longo tempo para que ocorra uma remediação em nível aceitável (Baird, 2001), pois até mesmo plantas hiperacumuladoras levam períodos longos de cultivos contínuos para descontaminar uma área, já que a maioria das plantas fitorremediadoras possuem baixa penetração radicular, pouca produção de biomassa e desenvolvimento lento (Garbisu; Aljorta, 2001). Outras limitações da técnica incluem a possibilidade de contaminação de outros níveis tróficos da cadeia alimentar, e a problemática da disposição da biomassa contaminada pós-cultivo (Zetouni, 2003).

REFERÊNCIAS

- ACCIOLY, A.M.A.; SIQUEIRA, J.O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V.V.H.; SCHAEFER, C.E.G.R. **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v. 1, p. 299-352, 2000.
- ARRUDA, F.O.; BELTRÃO, N E M.; ANDRADE, A P.; PEREIRA, W E.; SEVERINO, L.S. Cultivo de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) como alternativa para o semi-árido nordestino. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v. 8, n. 1, p. 789-799, jan.-abr. 2004.
- BAIRD, C. **Environmental Chemistry**. 2 ed. New York: W.H. Freedman & Company, 2001.
- BAKER, D.E.; SENFT, J.P. Copper. In: ALLOWAY, B.J. **Heavy metals in soils**. 2 ed. New York: John Wiley, 1995. p. 179-202.
- BAKER, A.J.M.; MCGRATH, S.P.; REEVES, R.D.; SMITH, J.A.C. Metal hyperaccumulator plants: a review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils. In: TERRY N, BAÑUELOS G (Eds.). **Phytoremediation of contaminated soil and water**. Boca Raton, Florida, USA: Lewis Publishers, p. 85–107, 2000.
- BHATIA, N.P.; NKANG, A.E.; WALSH, K.B.; BAKER, A.J.M.; ASHWATH, N.; MIDMORE, D.J. Successful seed germination of the nickel hyperaccumulator *Stackhousia tryonii*. **Ann. Bot.**, v. 96, n. 1, p. 159-163, jul. 2005.
- BELTRÃO, N.E. de M.; SEVERINO, L.S.; SUINAGA, F.A.; VELOSO, J.F.; JUNQUEIRA, N.; FIDELIS, M.; GONÇALVES, N.P.; SATURNINO, H.M.; ROSCOE, R.; GAZZONI, D.; DUARTE, J.O.; DRUMOND, M.A.; ANJOS, J.B. **Recomendação técnica sobre o de pinhão-manso plantio no Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2007. Folder. Disponível em: <<http://www.cpa0.embrapa.br/portal/noticias/Position%20Paper.pdf>>. Acesso em 05 dez. 2007.
- BELTRÃO, N.E.M.; SEVERINO VELOSO, J.F.; JUNQUEIRA, N.; FIDELIS, M.; GONÇALVES, N.P.; SATURNINO, H.M.; ROSCOE, R.; GAZZONI, D.; DUARTE, J.O.; DRUMOND, M.A.; ANJOS, J.B. **Alerta sobre o plantio de pinhão-manso no Brasil**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Algodão. Campina Grande, Documento 155, p. 1-16, out. 2006.
- BLACK, H. Absorbing Possibilities: Phytoremediation. **Environmental Health Perspectives Washington**, USA, v. 103, 1995. Disponível em: <<http://www.ehponline.org/docs/1995/103-12/innovations.html>>. Acesso em: 26/10/2013.

BRASIL. Ministério da Indústria e do Comércio. Secretária de Tecnologia Industrial. **Produção de combustíveis líquidos a partir de óleos vegetais**. Brasília: STI/CIT, 1985. 364 p. (Documentos, 16).

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Biodiversidade: riqueza de espécies**, 2002. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biodiversidade/biodiv/>>. Acesso em: 26 abr. 2007.

CAKMAK, I. Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species. **New Phytologist**, Cambridge, v. 146, p. 185-205, 2000.

Companhia de tecnologia de saneamento ambiental - CETESB. Decisão de diretoria n 195-2005-E, de 23 de novembro de 2005. 2005. Disponível em:<http://www.cetesb.sp.gov.br/solo/relatorios/tabela_valores_2005.pdf>. Acesso em: 01 mai. 2015.

Companhia de tecnologia de saneamento ambiental - CETESB, 2012 a. Divisão de toxicologia, genotoxicidade e microbiologia ambiental. Ficha de informação toxicológica – Cobre. 2012. Disponível em:<<http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/laboratorios/fit/cobre.pdf>>. Acesso em: 01 mai. 2015.

Companhia de tecnologia de saneamento ambiental - CETESB, 2012 b. Divisão de toxicologia, genotoxicidade e microbiologia ambiental. Ficha de informação toxicológica – Níquel. 2012. Disponível em:<<http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/laboratorios/fit/niquel.pdf>>. Acesso em: 01 mai. 2015.

Companhia de tecnologia de saneamento ambiental - CETESB, 2013. Diretoria de controle e licenciamento ambiental. Texto explicativo – Relação de áreas contaminadas e reabilitadas no Estado de São Paulo. Dez., 2013. Disponível em:<<http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/areas-contaminadas/2013/texto-explicativo.pdf>>. Acesso em: 01 maio 2015.

CORSEUIL, H.X.; MORENO, F.N. Phytoremediation Potential of Willow Trees for Aquifers Contaminated with Ethanol-Blended Gasoline. **Water Research**, v. 35, n. 12, p. 3013–3017, 2001.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. Houghyon Mifflin, Boston. 1981.

CUNHA, P.C. da. **Aspectos fisiológicos e bioquímicos de *Jatropha curcas* L. cultivada sob estresse salino**. 2009. 60 f. Dissertação (Mestrado em botânica) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2009.

EPAMIG / FINEP. Projeto Pinhão-manso: Relatório Final relativo ao 1º período encerrado a 31 de março de 1985. In: EPAMIG. **Coletâneas sobre pinhão-manso na EPAMIG**. Belo Horizonte, 2005. Disponível em: <<http://www.epamig.br/informativo/pinhaomanso/.pdf>>. Acesso em: 10 mar. 2008.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA. **Fitorremediação de solos com resíduos de herbicidas**. Brasília: EMBRAPA, 2012. Disponível em: <<http://www.cpatc.embrapa>>. Acesso em: 04 jun. 2014.

GARBISU, C.; ALKORTA, I. Phytoextraction: a cost effective plant-based technology for the removal of metals from the environment. **Bioresource Technology**, v. 77, p. 229 – 236, 2001.

- HELLER, J. Physic nut. *Jatropha curcas* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. **Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/ International Plant Genetic Resources Institute, Rome, 1996, 66 p.**
- JONGSCHAAP, R.E.E.; CORRE, W.J.; BINDRABAN, P.S.; BRANDENBURG W.A. Claims and facts on *Jatropha curcas*. **Plant Research International B.V., Wageningen. Stichting Het Groene Woudt, Laren, p. 1-42, out. 2007.**
- KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants.** 2 ed. Boca Raton: CRC Press, 1992.
- KAVERIAMMAL, S.; SUBRAMANI, S. Variation in seed germination and early growth of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) under nickel treatments. **International journal of environment and bioenergy**, v. 10, n.1, p.47-53, 2015.
- KIRKBY, E.A.; RÖMHELD, V. Micronutrientes na fisiologia de plantas: funções, absorção e mobilidade. **Encarte do informações agronômicas**, n. 118, p. 1-24, jun. 2007.
- KUMAR, G.P.; YADAV, S.K.; THAWALE, P.R.; SINGH, S.K.; JUWARKAR, A.A. Growth of *Jatropha curcas* on heavy metal contaminated soil amended with industrial wastes and *Azotobacter* – A greenhouse study. **Bioresource Technology**, n. 99, p. 2078–2082, 2008.
- LAVIOLA, B.G.; DIAS, L.A. dos S. Teor e acúmulo de nutrientes em folhas e frutos de pinhão-mansão. **R. Bras. Ci. Solo**, v. 32, p. 1969-1975, 2008.
- MARTINS, A.P.L.; REISSMANN, C.B.; FAVARETTO, N.; BOEGER, M.R.T.; OLIVEIRA, E.B. Capacidade de *Typha domingensis* na fitorremediação de efluentes de tanques de piscicultura na Bacia do Iraí – Paraná. **R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental**, v. 11, n. 3, p. 324 – 330, Campina Grande, 2007.
- MARTINS, C.C.; MACHADO, C.G; CAVASINI, R. Temperatura e substrato para o teste de germinação em sementes de pinhão-mansão. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 863-868, maio/jun. 2008.
- PEIXOTO, A. R. **Plantas oleaginosas arbóreas.** São Paulo: Nobel, 1973. 282 p.
- PIRES, F.R., SOUZA, C.M., SILVA, A.A., PROCÓPIO, S.O.; FERREIRA, L.R. Fitorremediação de solos contaminados com herbicidas. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 21, n. 2, p. 335-341, 2003.
- RAHMAN, K.M.; MAHMUD, K.M. Effect of varying concentration of nickel and cobalto on the plant growth and yield of chickpea. **Austral. J. Basic and Appl. Sci.**, v. 4, p. 1036-1046, 2010.
- REDENTE, E.F.; RICHARDS, J.L. Effects of lime and fertilizer amendments on plant growth in smelter impaired soil in Montana. **Arid Soil Ressearch Rehabilitation**, v.11, p. 353-366, 1997.
- REIS, A.R.; RODAK, B.W.; PUTTI, F.F.; MORAES, M.F. Papel fisiológico do níquel: essencialidade e toxidez em plantas. **Informações agronômicas**, n. 147, p. 10-24, set., 2014.
- SÃO PAULO (Estado) – Companhia ambiental do Estado de São Paulo. Decisão de diretoria n 045/2014/E/C/I, de 20 de fevereiro de 2014. Disponível em:<
<http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/solo/valores-orientadores-2014.pdf>>. Acesso em: 01 mar. 2015.
- SATURNINO, H.M.; PACHECO, D.D. ; KAKIDA, J.; TOMINAGA, N.; GONÇALVES, N. P. Cultura do pinhão-mansão (*Jatrofa curcas* L.). **Informe agropecuário**, Belo Horizonte, v. 26, n. 229, p. 44–78, 2005.

- SETHY, S.K.; GHOSH, S. Effect of heavy metals on germination of seeds. **J. Nat. Sci. Biol. Med.**, v. 4, n. 2, p. 272-275, jul.-dec., 2013.
- SFREDO, G.J.; BORKERT, C.M. **Deficiências e toxicidades de nutrientes em plantas de soja** – Descrição dos sintomas e ilustração com fotos. Londrina: Embrapa soja, 2004, 44p.
- SILVA, F. C. da (Ed. Técnico). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2 ed. rer. ampl. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 627 p.
- SLUSZZ, T.; MACHADO, J.A.D. **Características das potenciais culturas matérias primas do biodiesel e sua adoção pela agricultura familiar**. São Paulo: Agrened, p. 1-10, 2006.
- TONG, L.; SHU-MING, P.; WU-YUAN, D.; DAN-WEI, M.; YING, X.; MENG, X.; FANG, C. Characterization of a new stearyl-acyl carrier protein desaturase gene from *Jatropha curcas*. **Biotechnology Letters**, v. 28, p. 657–662, 2006.
- WOOD, B.W.; REILLY, C.C.; NYCZEPIR, A.P. Nickel corrects mouse-ear. The Pecan Grower, **Atlanta**, v. 14, p. 3-5, 2003.
- ZEITOUNI, C.F. **Eficiência de espécies vegetais como fitoextratoras de cádmio, chumbo, cobre, níquel e zinco de um latossolo vermelho amarelo distrófico**. 91 f. 2003. Dissertação (Mestrado em agricultura tropical e subtropical) – Instituto Agrônômico / Pós-Graduação, Campinas, 2003.

CAPÍTULO 2: TOLERÂNCIA E EXTRAÇÃO DE NÍQUEL PELO PINHÃO-MANSO EM LATOSSOLO CONTAMINADO

Resumo – O pinhão-manso tem sido apontado em alguns estudos por sua tolerância à solos contaminados, devido ao seu hábito natural de crescer em áreas com baixa fertilidade e altas concentrações de metais. Nesse sentido, foram realizados três experimentos a fim de demonstrar qual é a dose máxima de níquel tolerada pela planta para poder caracterizá-la ou não como acumuladora deste metal, e verificar a possibilidade de sua utilização em projetos de fitorremediação de áreas contaminadas. Os ensaios foram realizados em condição de cultivo protegido, com a aplicação de solução de sulfato de níquel nas doses 0; 6,5; 13; 30; 70 e 100 mg de Ni Kg⁻¹ sobre sementes, plantas jovens e adultas de *Jatropha curcas* L. A espécie é capaz de absorver e acumular níquel, principalmente nas raízes, entretanto transloca baixa quantidade de níquel para a parte aérea, e acumula até 88,5 mg de Ni Kg⁻¹ de matéria seca, e por isso não pode ser considerada fitoextratora, nem hiperacumuladora. *J. curcas* é tolerante ao níquel uma vez que na fase adulta não exhibe redução de crescimento nem sintomas visuais de toxidez por este elemento em latossolo com teores considerados tóxicos, podendo desta forma ser utilizada para revegetar áreas em processo de despoluição.

Termos para indexação: *Jatropha curcas* L.; metal pesado; poluição do solo.

TOLERANCE AND EXTRACTION OF NICKEL BY PHYSIC NUT ON CONTAMINATED OXISOL

Abstract - The physic nut has been suggested in some studies for its tolerance to contaminated soils, because of their natural habit of growing in areas with low fertility and high concentrations of metals. In this sense, we proposed three experiments to demonstrate what the maximum dose is tolerated by the nickel plant in order to characterize it or not as accumulating this metal, and check the possibility of their use in phytoremediation projects of contaminated areas. The studies were performed in greenhouse condition, with the nickel sulphate solution application at doses 0; 6.5; 13; 30; 70 and 100 mg Kg⁻¹ on seeds, seedlings and adult *Jatropha curcas*. The species is able to absorb and accumulate nickel, particularly in roots, however it translocates low amount of nickel to the shoot, and stacks up to 88.5 mg Ni Kg⁻¹ of dry matter and therefore can not be considered phytoextractor, or hyperaccumulator. *J. curcas* is tolerant nickel once in adulthood shows no growth reduction or visual symptoms of toxicity by this

element oxisol at levels considered toxic and can thus be used to revegetate areas decontamination process.

Index terms: *Jatropha curcas* L.; heavy metal; soil pollution.

INTRODUÇÃO

O níquel (Ni) é um metal de transição considerado metal pesado (Wuana & Okiemen, 2011), e também é classificado como essencial às plantas, devido à sua participação na enzima urease (Brown et al., 1987), além de promover, em baixas concentrações, benefícios ao crescimento das plantas (Rahman et al., 2005). Sintomas visuais de deficiência deste elemento foram relatados em algumas poucas culturas perenes, após alguns ciclos de cultivo ininterruptos em experimentos controlados (Wood et al., 2004; Malavolta & Moraes, 2007) ou em experimentos em solução nutritiva na ausência total do elemento (Brown et al., 1987). Por outro lado, os relatos sobre seus sintomas de toxidez em plantas são muito mais abundantes (Serengin & Kozhevnikova, 2006; Malavolta & Moraes, 2007).

Naturalmente, o Ni presente no solo é encontrado em baixas concentrações, com teores médios que variam grandemente entre 4 a 2.000 mg Kg⁻¹ dependendo da origem do solo (Kabata-Pendias & Pendias, 2011), mas podem ser drasticamente alterados devido às ações antrópicas de mineração, fabricação de ligas metálicas, utilização de biossólidos na agricultura, descarte inadequado de resíduos eletrônicos e queima de resíduos domésticos e de combustíveis fósseis (Wuana & Okiemen, 2011). De acordo com a Agência de Proteção Ambiental Norte Americana, o Ni é considerado potencialmente tóxico às plantas em doses a partir de 38 mg Kg⁻¹ no solo (Usepa, 2007), e por tratar-se de um elemento altamente móvel na planta, poderia ser translocado facilmente por diferentes órgãos, ser ingerido por animais e ser bioacumulado nos demais níveis tróficos da cadeia alimentar causando problemas de intoxicação. Nesse sentido, é importante que tecnologias de baixo custo e de fácil aplicação, que propiciem a remoção ou contenção deste metal do solo, sejam pesquisadas, para que as áreas cultiváveis mantenham-se dentro dos valores limites aceitáveis pelos órgãos reguladores ambientais.

O pinhão-mansão (*Jatropha curcas* L.) é uma espécie da família Euphorbiaceae, que é utilizada economicamente para a exploração de óleo de suas sementes e que também tem sido apontada por diversos autores como tolerante à solos com alta concentração de metais (Kumar et al., 2008; Mangkoedihardjo & Surahmida, 2008; Ghavri & Singh, 2010), o que nos leva a

crer que a espécie poderia ser utilizada com sucesso para fins de contenção ou descontaminação de áreas com elevada concentração de Ni. Entretanto, ainda se faz necessário estudos que correlacionem qual a quantidade máxima do metal tolerada pela espécie, qual o principal órgão de reserva, e quanto a espécie é capaz de extrair durante seu desenvolvimento.

Nesse sentido, foi realizado um estudo em condição de cultivo protegido, com a finalidade de avaliar o desempenho de *J. curcas*, em diferentes fases do desenvolvimento, sob doses elevadas de Ni no solo a fim de poder realizar sua caracterização como espécie fitoremediadora para este metal.

MATERIAL E MÉTODOS

Tratamentos e delineamento experimental

Foram desenvolvidos três experimentos simultâneos com a espécie *J. curcas*, para analisar os efeitos do níquel nas fases de germinação, crescimento inicial (plantas jovens com 8 meses após a semeadura) e na fase adulta (plantas com dois anos e seis meses de idade) durante o ano de 2013, que simulavam contaminações periódicas por Ni no solo, em uma forma prontamente absorvível pela planta.

No primeiro experimento, sementes provenientes de frutos secos de *J. curcas* foram embebidas por 24 horas em solução de sulfato de níquel nas doses 0; 6,5; 13; 30; 70 e 100 mg de Ni dm⁻³ e dispostas em bandejas contendo areia lavada, onde foram mantidas por 35 dias. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com oito blocos de 25 sementes cada.

No segundo experimento, mudas de *J. curcas*, com com 30 dias após a germinação, medindo cerca de 10 cm de altura e contendo de 2 a 3 folhas verdadeiras completamente expandidas foram transplantadas para sacos plásticos, com capacidade para 4 Kg de solo. Vinte dias após o transplante, foram iniciados os tratamentos, os quais foram estabelecidos por meio da aplicação de sulfato de níquel ao solo nas doses totais de 0; 6,5; 13; 30; 70 e 100 mg de Ni Kg⁻¹ de solo. A aplicação foi realizada em três parcelamentos mensais de maio à julho de 2013, e a dose estabelecida em cada tratamento após pesagem, foi diluída em um litro de água a fim de facilitar a aplicação e a homogeneização ao solo de cultivo. As plantas foram mantidas por oito meses neste solo. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com 10 repetições de duas plantas cada.

No terceiro experimento, foram analisados os efeitos das doses 0; 6,5; 13; 30; 70 e 100 mg de Ni Kg⁻¹ de solo, sobre plantas adultas de *J. curcas* com dois anos e seis meses de idade. Antes do início dos tratamentos, as plantas foram podadas, mantendo-se apenas dois ramos principais, com 60 cm de altura. Estas plantas foram então transplantadas para vasos com capacidade para 20 Kg de solo. Trinta dias após o transplante, a aplicação dos tratamentos foi iniciada, por meio de sulfato de níquel nas doses citadas, solubilizado em água após pesagem dos respectivos tratamentos. As doses foram parceladas em três vezes, com intervalos de 30 dias entre cada aplicação de maio à julho de 2013. As plantas foram mantidas até o mês de dezembro neste solo. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições, de duas plantas cada.

Solo utilizado e condições experimentais

Os experimentos foram realizados na UNESP/ Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – Câmpus II (20° 25' 9,4" S e 51° 20' 23" W), 380 metros de altitude, em casa de vegetação tipo pad fan com 100 m², e 5 m de altura, produzida em aço galvanizado e revestida por placas de policarbonato com espessura de 1,2 cm. As temperaturas mínimas e máximas (noturna/diurna) variaram entre 15 e 30°C durante o período experimental.

O solo utilizado no segundo e terceiro experimentos foi um Latossolo Vermelho Distroférico, de textura franco-argilosa, coletado na camada de 0 – 20 cm de profundidade com as seguintes características químicas: P-resina 92,7 mg dm⁻³; matéria orgânica 6,5 g dm⁻³; pH (CaCl₂) 5,2; K 0,38 mmol_cdm⁻³; Ca 40,8 mmol_cdm⁻³; Mg 4,8 mmol_cdm⁻³; H+Al 18,54 mmol_cdm⁻³; Al 0,47 mmol_cdm⁻³; Cu 0,7 mg dm⁻³; Fe 12,5 mg dm⁻³; Mn 10,5 mg dm⁻³; Zn 1,7mg dm⁻³ e Ni 0,01 mg dm⁻³, ao qual foi adicionado 295,5 g m⁻³ de calcário dolomítico PRNT 90%, e após 30 dias de incubação, foi adicionado 830 g m⁻³ de super fosfato simples, e 650 g m⁻³ de cloreto de potássio.

Análise dos parâmetros de crescimento

No primeiro experimento a germinação foi analisada diariamente entre o 5° e 35° dia após a semeadura, considerando como germinadas, plântulas cujo epicótilo emergiu acima do nível do substrato. Ao final dos 35 dias foi calculada a porcentagem de germinação e o índice de velocidade de emergência (IVE) através da fórmula: $IVE = E1/N1 + E2/N2 + \dots + En/Nn$. Onde: E1, E2,... En corresponde ao número de plântulas emergidas na primeira contagem, na segunda contagem e assim sucessivamente até a última contagem, e N1, N2,... Nn refere-se ao

número de dias após a semeadura à primeira, segunda e última contagem (Maguire, 1962). As plântulas foram coletadas, lavadas em água corrente, e aferidas quanto à altura e a massa seca.

No segundo experimento, após oito meses de cultivo foram obtidos dados de altura, diâmetro em nível do solo, número de folhas completamente expandidas e índice SPAD (Minolta, modelo SPAD-502) através da média de três folhas da porção mediana da planta. Ao final do período experimental foram obtidas as massas fresca e seca das folhas, caule e raízes das plantas.

Nas plantas adultas, ao final de oito meses foram analisados o diâmetro do caule em nível do solo, o índice SPAD através da média de três folhas adultas da porção mediana da planta e as massas fresca e seca total, bem como das folhas, caule e raízes.

Para determinação das massas secas, o material vegetal coletado, foi lavado em água corrente, separado em raiz, caule e folhas, acondicionado em sacos de papel e levado à estufa com circulação forçada de ar a 70°C, até massa constante.

Análise química dos tecidos vegetais

Para análise química de Ni e magnésio (Mg) 250 mg do material vegetal seco e moído, passado por peneira com malha de 20 mesh, foi misturado à 6 mL de ácido nítrico perclórico (HNO₃ e HClO₄) na proporção de 2:1 (v/v), digerido em bloco digestor aberto a 210 °C por cerca de duas horas, até que o material se tornasse incolor. Após resfriamento, o volume foi completado com água deionizada para 25 mL e em seguida analisado por espectrometria de absorção atômica, em equipamento da marca Varian modelo 55B, com base em uma curva analítica para cada um dos elementos (Malavolta et al., 1997). Para análise do nitrogênio (N) foi utilizado o método descrito em AOAC (2000).

Análise química do solo

Após o cultivo, o solo utilizado nos experimentos foi seco ao ar, triturado e peneirado em malha de 2mm. Para extração do Ni, 10g de solo foram misturados a 20 mL da solução extratora pH 3,0, agitado por duas horas em mesa agitadora a 220 rpm, e filtrado em papel de filtro quantitativo faixa azul de gramatura 85 g m⁻² e 2,0 micras de porosidade. Para preparo da solução extratora 14,92g de triethanolamina (TEA), 1,97g de ácido dietilenotriaminopentaacético (DTPA) e 1,47g de cloreto de cálcio (CaCl₂.2H₂O) foram homogeneizados e o volume foi completado para 1 litro com água deionizada, ajustando-se o pH para 3,0 com ácido clorídrico (HCl) 0,1M. O filtrado foi analisado quimicamente por

espectrometria de absorção atômica em equipamento da marca Varian, modelo 55B, e comparado à uma curva padrão do elemento (Raij et al., 2001).

Análise estatística dos dados

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância pelo teste F em nível de 5% de probabilidade e os resultados significativos foram analisados por meio de regressão linear e quadrática também em nível de 5% de probabilidade, a fim de se detectar as tendências de crescimento e absorção de minerais em função das doses de níquel aplicadas. Os teores de Ni aplicados foram correlacionados através da análise de correlação Pearson em nível de 5% de probabilidade, aos teores encontrados no solo e nas diferentes partes da planta ao final do período experimental (Ferreira, 2011). Os resultados cujos coeficientes de variação (CV) foram superiores a 30% foram transformados para \sqrt{x} a fim de manter a homogeneidade das variâncias e permitir a análise paramétrica dos dados (Pimentel-Gomes, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A aplicação das doses crescentes de Ni alteraram os caracteres de crescimento na fase de germinação (Figura 1) e desenvolvimento inicial de *J. curcas*, mas não mudou os parâmetros de crescimento da planta adulta (Tabela 1), o que demonstra maior tolerância da espécie a esse metal nesta fase de desenvolvimento. A quantidade de metais tolerada por uma planta é uma característica intrínseca a cada espécie e pode variar conforme a fase de desenvolvimento na qual ela se encontra e também variar quanto ao órgão acumulador (Ernst, 2006) o que explica as mudanças encontradas no presente estudo.

Na germinação, a embebição das sementes com doses crescentes de Ni causou alterações em todos os parâmetros avaliados. A porcentagem de germinação e o índice de velocidade de emergência aumentaram linearmente em função das doses aplicadas. A altura e a massa média das plântulas ajustaram-se à modelos de regressão quadráticos (Figura 1) obtendo-se os valores máximos nas doses 66,87 e 56,54 mg de Ni dm⁻³, respectivamente, com base nas equações de regressões obtidas, demonstrando que até a dose máxima de 66,87 mg dm⁻³ o Ni beneficia a espécie, e que doses acima das mencionadas acarretam em toxicidade às sementes de *J. curcas* reduzindo os dois parâmetros analisados. A aplicação de quantidades moderadas de sais contendo Ni sobre as sementes podem auxiliar a germinação (Brown et al., 1987; Ahamad et al., 2009) devido ao aumento da atividade de enzimas como amilase, proteases

e fosfatase ácida permitindo maior mobilização das reservas presentes nas sementes para o desenvolvimento inicial da plântula. Por outro lado, quando excede-se as quantidades máximas toleradas pela espécie, as mesmas enzimas passam a ter suas atividades reduzidas, e por consequência observa-se redução nos parâmetros de crescimento inicial. Além disso, quantidades excessivas de Ni podem promover aumento nos níveis de estresse oxidativo (Maheshwari & Dubey, 2009) induzido pelo aumento nas atividades de enzimas como a superóxido dismutase e ascorbato peroxidase (Thakur & Sharma, 2015) afetando a germinação e o desenvolvimento inicial, conforme relatado em *Raphanus sativus* L. (Yadav et al., 2009) e em *Arachis hypogaea* L. (Kaveriammal & Subramani, 2015).

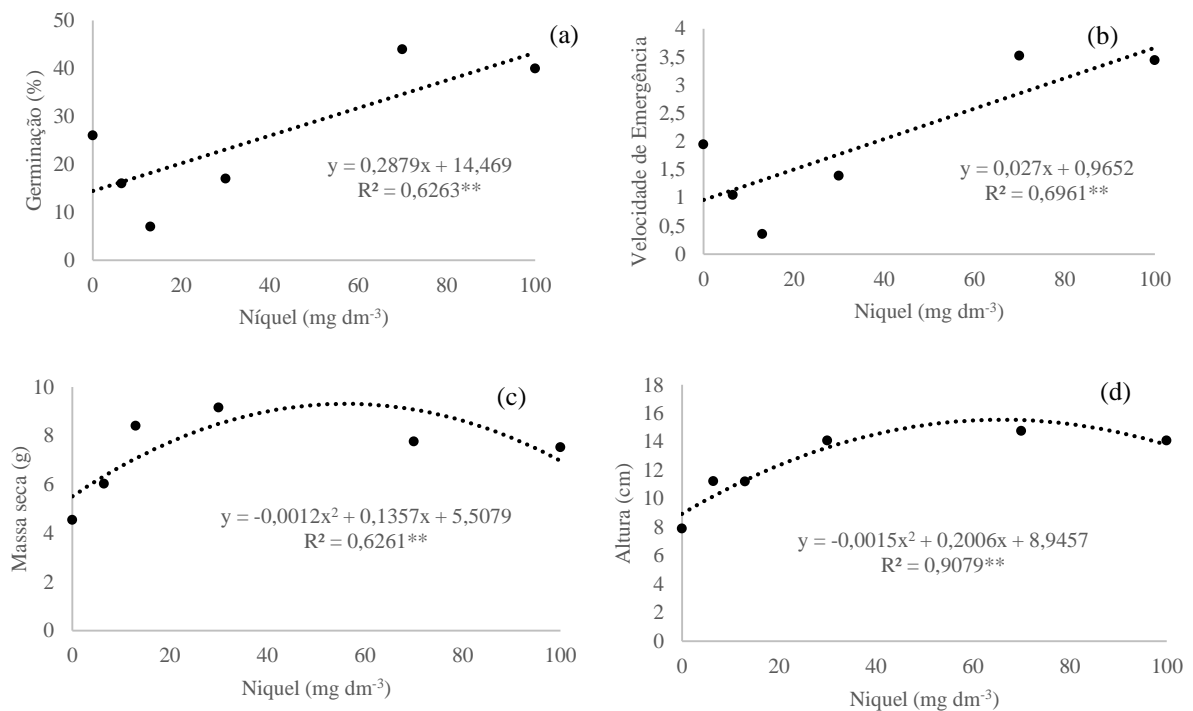


Figura 1. Porcentagem de germinação (a), índice de velocidade de emergência (b), massa (c) e altura média de plântulas (d) de *Jatropha curcas* L. com seus respectivos ajustes de regressão tratadas com doses crescentes de níquel. ** indicam equações de regressão significativas $p \leq 0,01$.

A primeira fase do desenvolvimento de *J. curcas* parece ser a mais afetada negativamente pela presença do Ni em grandes quantidades no solo (Tabela 1). Diferente da fase adulta na qual nenhum dos caracteres de crescimento foi alterado em função das doses de Ni aplicadas, na fase jovem, *J. curcas* apresentou alterações nos parâmetros de massas e também no número médio de folhas. Para as massas fresca e seca das raízes foram detectadas diferenças a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F (3,3* e 3,69**, respectivamente), entretanto

nenhum dos ajustes de regressão propostos foram significativos para estes parâmetros (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios de altura, diâmetro, número de folhas, massa fresca (MF) e massa seca (MS) de folhas, caule, raízes e total, coeficiente de variação (CV) e valores de F em plantas jovens, aos oito meses, e adultas, aos dois anos e seis meses, de *Jatropha curcas* L. tratadas com doses crescentes de níquel.

PLANTAS JOVENS											
Doses de Ni (mg Kg ⁻¹)	Altura cm	Diâmetro mm	nº de folhas	MF Folhas	MF Caule	MF Raízes	MF Total	MS Folhas	MS Caule	MS Raízes	MS Total
----- g -----											
0	61,9	23,1	21,1	74,93	117,05	46,01	237,98	13,05	61,74	10,29	85,09
6,5	51,0	19,1	12,2	36,5	61,27	25,77	123,54	6,18	14,7	5,45	26,34
13	49,6	18,6	14,3	39,99	58,14	23,2	121,33	6,3	16,09	4,29	26,67
30	54,5	18,3	12,2	35,42	58,2	26,01	119,64	5,83	14,57	6,57	26,97
70	53	19,3	14,7	45,85	66,58	32,43	144,86	7,41	18,59	7,22	33,22
100	46,6	20,2	11,2	25,21	59,21	24,72	103,81	4,87	24,43	5,11	34,41
CV %	20,8	17,42	26,98	18,91 ¹	16,87 ¹	24,52 ¹	16,56 ¹	26,69 ¹	29,65 ²	27,4 ¹	25,21 ¹
Valores de F											
Dose	2,3 ^{ns}	2,61 ^{ns}	8,73 ^{**}	11,32 [*]	7,81 ^{**}	3,3 [*]	9,54 ^{**}	5,44 ^{**}	9,81 ^{**}	3,69 ^{**}	9,57 ^{**}
Regressão linear	3,80 ^{ns}	0,3 ^{ns}	10,63 ^{**}	23,81 [*]	9,34 ^{**}	1,95 ^{ns}	14,52 [*]	8,82 ^{**}	4,43 [*]	1,68 ^{ns}	5,75 [*]
Regressão quadrática	0,01 ^{ns}	6,01 ^{ns}	2,65 ^{ns}	2,45 ^{ns}	10,58 [*]	1,48 ^{ns}	5,44 [*]	2,97 ^{ns}	19,40 ^{**}	0,32 ^{ns}	15,46 [*]
R ² linear	33,1	2,26	24,36	30,77	16,77	9,36	22,65	24,97	7,53	7,85	9,59
R ² quadrático	33,1	48,31	30,42	33,77	36,77	16,45	31,14	33,36	40,46	9,35	35,35
	4										
	6										
PLANTAS ADULTAS											
Dose (mg Kg ⁻¹)	Diâmetro mm	MF folhas	MF caule	MF raízes	MF total	MS folhas	MS caule	MS raízes	MS total		
----- g -----											
0	117,5	129,76	695,12	603,18	1428,06	65,49	218,07	187,35	470,91		
6,5	95,5	213,86	542,38	584,04	1340,28	62,35	235,4	212,66	510,41		
13	93,0	126,72	597,3	545,44	1269,46	60,81	190,83	178,22	429,86		
30	91,5	123,8	601,05	633,88	1358,73	58,76	202,16	247,00	507,93		
70	96,5	133,19	644,35	581,14	1358,67	63,39	187,54	192,88	443,81		
100	101,0	100,74	593,36	557,42	1251,52	57,97	185,74	185,49	429,21		
CV (%)	17,42	19,6 ¹	29,01	16,2	15,91	13,13	26,69	25,1	17,06		
Valores de F	1,61 ^{ns}	1,94 ^{ns}	0,43 ^{ns}	0,56 ^{ns}	0,47 ^{ns}	0,6 ^{ns}	0,67 ^{ns}	1,29 ^{ns}	1,1 ^{ns}		

¹ e ² Valores transformados para \sqrt{x} e $\sqrt{x+1}$, respectivamente. *, ** e ^{ns} correspondem a valores de F significativos a $p \leq 0,05$, $p \leq 0,001$ e não significativos.

Houve uma redução das massas fresca e seca do caule até aproximadamente 50 mg Kg⁻¹, e um posterior aumento a partir desta dose. Da mesma forma, as massas fresca e seca total das plantas jovens de *J. curcas* apresentaram a mesma tendência, pois tratam-se de variáveis

dependentes das massas do caule (Figura 2). Sabendo-se que nem a altura, nem o diâmetro foram influenciados pela aplicação do Ni (Tabela 1), o aumento em massa a partir de 50 mg Kg⁻¹ correlacionou-se positivamente ao maior conteúdo de Ni no tecido caulinar em função do aumento na aplicação, assim como da sua disponibilidade no solo (Tabela 2). Como o Ni é um metal de alta densidade, seu maior acúmulo neste tecido nas doses mais elevadas parece ter proporcionado aumento nas massas fresca e seca do caule, sem o incremento em altura e diâmetro, mas sim pela maior densidade agregada ao tecido devido aos maiores teores do metal encontrado na planta (Figura 3).

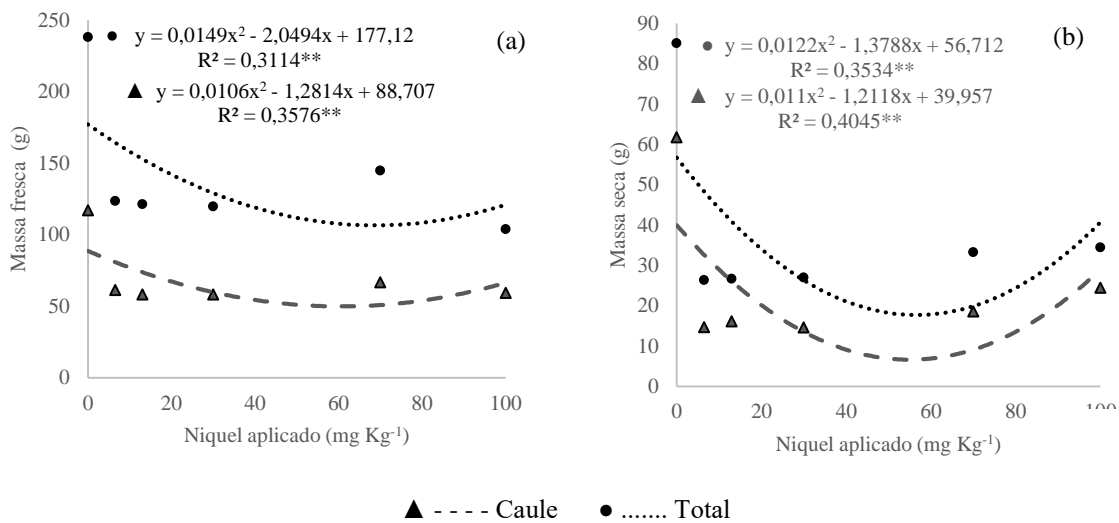


Figura 2. Ajustes de regressão quadráticos para massas fresca (a) e seca (b) do caule e total em plantas jovens de *Jatropha curcas* L. aos 8 meses de idade em função da aplicação de níquel. ** indicam equações de regressão significativas $p \leq 0,01$.

Tabela 2. Correlação linear de Pearson e seus níveis de significância entre as quantidades de níquel (Ni) aplicada, presentes no solo ao final do período experimental, na planta inteira (Ni total) e em seus diferentes órgãos, em plantas jovens de *Jatropha curcas* L., aos 8 meses de idade.

	Ni aplicado	Ni no solo	Ni foliar	Ni caule	Ni raiz	Ni total
Ni aplicado	1,00					
Ni no solo	0,4502**	1,00				
Ni foliar	0,8907**	0,3461 ^{ns}	1,00			
Ni caule	0,8783**	0,4524**	0,7106**	1,00		
Ni raiz	0,8640**	0,5945**	0,7693**	0,7626**	1,00	
Ni total	0,9412**	0,5577**	0,8565**	0,8751**	0,9714**	1,00

** e ^{ns} correspondem à valores de correlação linear de Pearson significativos e não significativos a 5% de probabilidade.

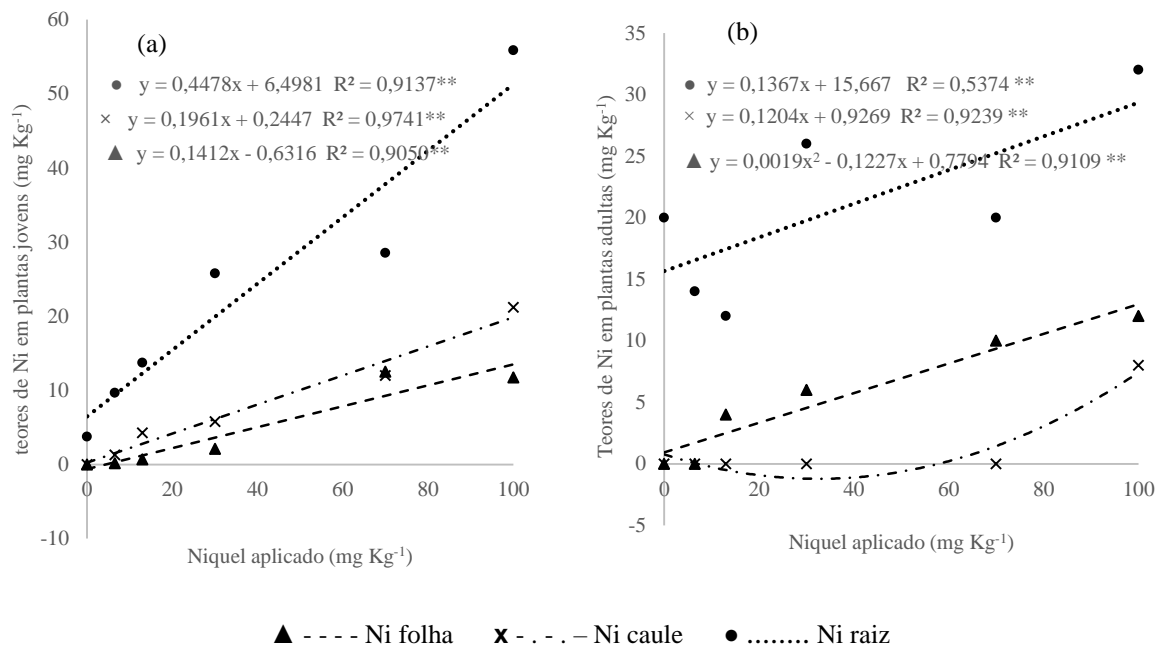


Figura 3. Teores e ajustes de regressão para os teores de Ni encontrados nos tecidos foliar, caulinar e radicular de *Jatropha curcas* L. aos 8 meses (a) e aos 2 anos de idade e seis meses (b). ** indicam equações de regressão significativas $p \leq 0,01$.

As correlações significativas e positivas entre os teores de Ni aplicados, encontrados no solo, na planta inteira e nos diferentes órgãos de *J. curcas* na fase jovem (Tabela 2) comprovam a alta mobilidade deste elemento na planta (Paiva et al., 2003; Yusuf et al., 2011). Nas plantas jovens, bem como nas plantas adultas, as maiores concentrações de Ni foram encontradas no sistema radicular aumentando linearmente em função das doses de Ni aplicadas, e em decorrência da translocação do elemento, ocorreram aumentos lineares nos tecidos caulinar e foliar em função das doses aplicadas (Figura 3). Excetuando-se as espécies excludoras de metal, a grande maioria das espécies vegetais que crescem em solos contaminados por metais pesados, não conseguem evitar sua absorção, mas são capazes de conter a translocação limitando a maior parte dos metais no sistema radicular (Reeves & Baker, 2000). Dessa maneira, apesar de translocar uma certa quantidade para a parte aérea, a planta é capaz de sobreviver no solo contaminado uma vez que os tecidos mais metabolicamente ativos como as folhas são poupados dos danos oxidativos causado pela presença excessiva do metal (Gajewska & Sklodowska, 2007).

Na fase inicial de desenvolvimento, os teores de Ni presentes no caule são maiores do que aqueles encontrados nas folhas, mas na fase adulta, ocorre uma inversão e os teores foliares de Ni passam a ser maiores que aqueles encontrados no caule (Figura 3). Assim como verificado neste estudo em *J. curcas*, ocorre que em outras espécies de plantas os conteúdos de Ni

presentes nos diversos órgãos de uma mesma planta podem sofrer alterações ao longo do desenvolvimento da espécie. Estas alterações estão intimamente relacionadas com o papel do Ni no metabolismo do nitrogênio. Dessa forma, é natural que ocorra maior translocação de Ni para o órgão que está se desenvolvendo vegetativamente, em detrimento àquele que deixa de ser o dreno principal, num dado momento do desenvolvimento da planta (Page & Feller, 2005).

A planta jovem absorve maior quantidade de Ni, e por consequência desta maior absorção, os teores de Ni encontrados no solo de cultivo destas plantas ao final do período experimental foram menores do que àqueles encontrados no solo onde foram cultivadas as plantas adultas (Figura 4). Comparativamente às plantas adultas, as plantas jovens acumulam em média 21,5% a mais de Ni em seus tecidos, e provavelmente devido à esta maior quantidade de Ni, as reduções nos parâmetros de crescimentos tenham sido perceptíveis nesta fase. Apesar dos aumentos lineares na concentração de Ni na planta, o valor máximo obtido foi de 88,5 mg Kg⁻¹ na fase jovem e 42 mg Kg⁻¹ na fase adulta, valores esses muito inferiores aos esperados por uma espécie hiperacumuladora de Ni, que geralmente acumula mais de 1000 mg de Ni Kg⁻¹ de matéria seca, tal como *Alyssum bertolonii* Thlaspii (Reeves & Baker, 2000), mas ainda assim, acima daqueles considerados tóxicos a um amplo número de espécies (Kabata-Pendias & Pendias, 2011). Estes valores aliados à ausência de sintomas visuais foliares de toxidez na fase adulta, mesmo em um solo com teores de Ni acima daquelas consideradas aceitáveis por algumas agências ambientais (Usepa, 2007; Conama, 2009), nos leva a crer que *J. curcas* pode ser considerada uma espécie tolerante à solos contaminados por Ni, e que devido ao fato de reter uma quantidade significativa do metal em suas raízes, mesmo sendo uma espécie caducifólia, poderia ser utilizada em programas de revegetação em áreas em processo de descontaminação, uma vez que é capaz de absorver e conter uma quantidade significativa de Ni no sistema radicular.

O único sintoma visual de toxidez por Ni detectado no experimento foi a redução do número médio de folhas nas plantas jovens, que diminuiu linearmente com o aumento das doses de Ni aplicadas e em decorrência desta redução, as massas fresca e seca de folhas também sofreram redução linear. Apesar da redução linear no índice SPAD, de modo qualitativo não foi possível verificar visualmente clorose nas folhas, mesmo sob a maior dose do metal estudado (Figura 5).

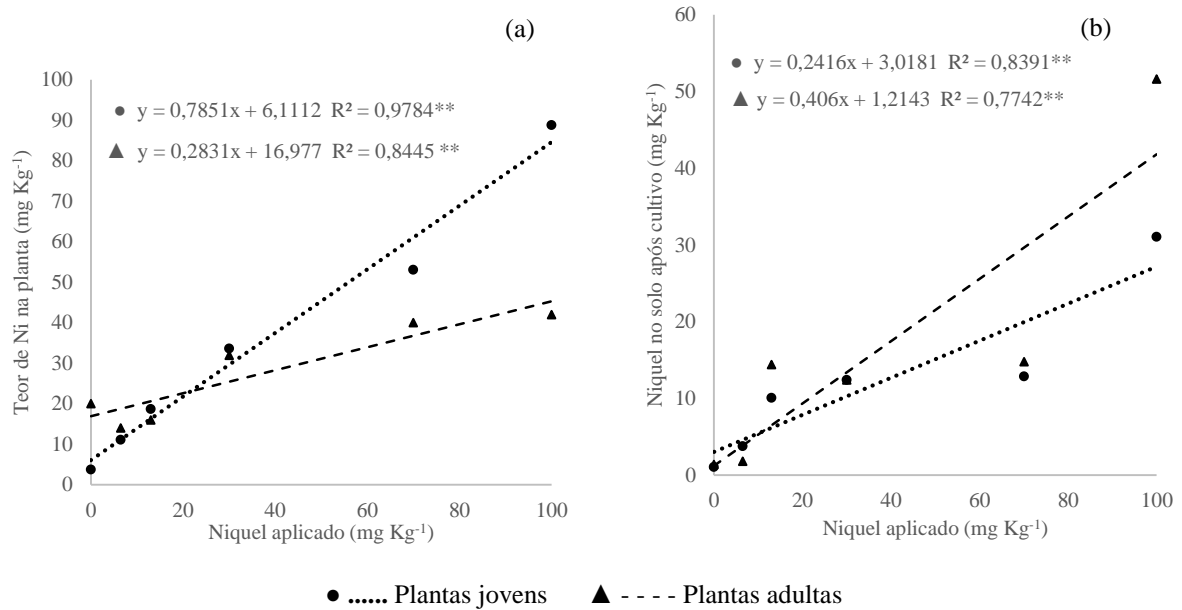


Figura 4. Teores de níquel e seus respectivos ajustes de regressão encontrados em plantas jovens e adultas de *Jatropha curcas* L. (a) e nos solos onde essas plantas foram cultivadas (b). ** indicam equações de regressão significativas $p \leq 0,01$.

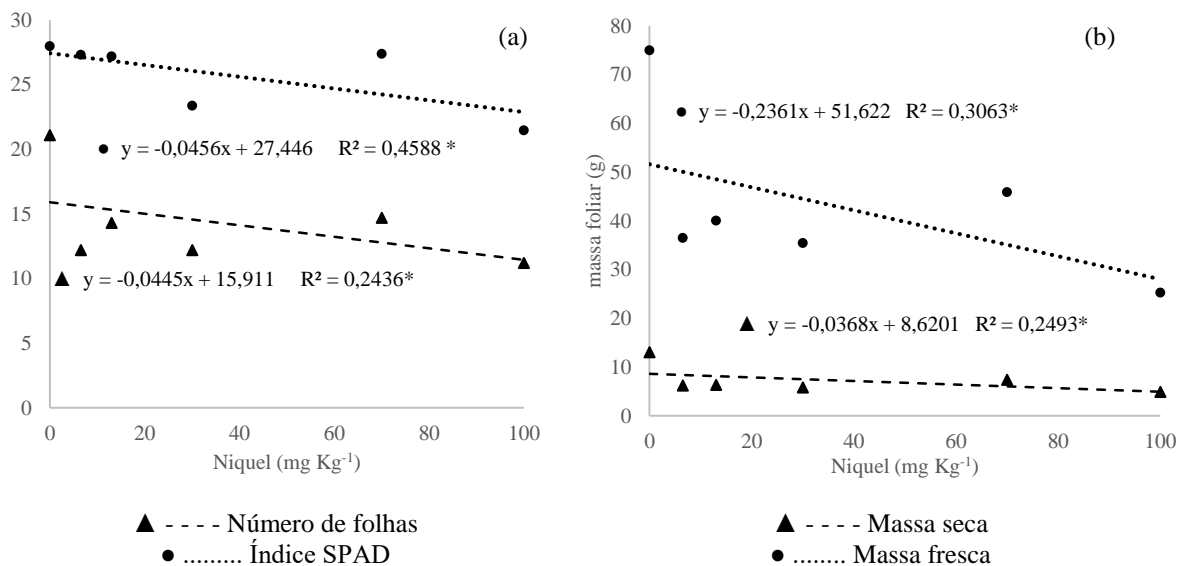


Figura 5. Ajustes de regressão lineares e suas respectivas equações para número de folhas e índice SPAD (a) e massa fresca e seca das folhas (b) em plantas jovens de *Jatropha curcas* L. aos 8 meses de idades em função de doses crescentes de níquel. * indicam equações de regressão significativas $p \leq 0,05$.

A redução na intensidade de cor verde em função a elevação das doses de níquel, detectada através da depreciação linear do índice SPAD (Figura 5), demonstra de forma indireta, uma redução nos níveis foliares de clorofila, que poderia estar relacionada à menor absorção dos elementos nitrogênio (N) ou magnésio (Mg) constituintes da molécula. Uma vez que os teores foliares de N não foram alterados, a redução do índice SPAD aqui verificada correlaciona-se diretamente à redução linear dos teores foliares do Mg em função das doses de Ni aplicadas ($y = -0,0331x + 9,0193 \quad R^2 0,3868^*$). A presença do Ni no solo age de forma antagonica à absorção do Mg devido à repulsão de cargas positivas entre os íons Mg^{2+} e Ni^{2+} . Nas plantas adultas por outro lado, não ocorreram alterações no índice SPAD, nem nos conteúdos foliares de N e Mg (Tabela 3). O antagonismo entre Ni e Mg foi verificado em outras espécies de plantas (Paiva et al., 2003) e a redução do conteúdo de clorofila em plantas tratadas com níquel foi descrita em *Triticum aestivum* L. (Gheibi et al., 2009).

Tabela 3. Índice SPAD e teores médios de nitrogênio e magnésio foliar em plantas de *Jatropha curcas* L., 8 meses e aos 2 anos e seis meses de idade, tratadas com níquel.

Doses de Ni mg Kg ⁻¹	Plantas aos 8 meses de idade			Plantas com 2 anos de idade		
	Índice SPAD	N ----- g Kg ⁻¹ -----	Mg ----- g Kg ⁻¹ -----	Índice SPAD	N ----- g Kg ⁻¹ -----	Mg ----- g Kg ⁻¹ -----
0	27,97	14,95	7,05	27,24	19,24	7,55
6,5	27,30	16,49	11,30	28,90	15,34	6,95
13	27,19	15,16	9,55	24,90	18,99	7,80
30	23,37	14,74	6,60	24,17	18,61	6,55
70	27,38	13,91	6,02	22,00	19,81	6,40
100	21,46	14,66	6,32	30,31	18,90	7,75
Valores de F	8,95**	0,62 ^{ns}	11,29**	2,1 ^{ns}	1,32 ^{ns}	1,35 ^{ns}
CV (%)	11,02	16,17	18,14	25,97	16,72	16,58
p>F linear	10,63**	1,14 ^{ns}	21,82**	0,06 ^{ns}	1,02 ^{ns}	0,02 ^{ns}

** indicam valores de F significativos a $p \leq 0,01$ e ^{ns} valores não significativos pelo Teste F $p \leq 0,05$.

CONCLUSÕES

1. *J. curcas* é capaz de acumular até 88,5 mg de níquel Kg⁻¹ de matéria seca após oito meses de cultivo, sendo mais de 60% desse total retido nas raízes.
2. *J. curcas* é uma espécie tolerante à solos contaminados por níquel até 50 mg Kg⁻¹ e não apresenta sinais visuais de deficiência até este valor.
3. O níquel aumenta a velocidade de germinação e o desenvolvimento da plântula de *J. curcas* até a dose de 66 mg dm⁻³.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, M.S.; HUSSAIN, M.; ASHRAF, M.; AHMAD, R.; ASHRAF, M.Y. Effect of nickel on seed germinability of some elite sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars. **Pak. J. Bot.**, v.41, n.4, p.1871–1882, 2009.
- Association of Official Analytical Chemists - AOAC. **Official methods of analysis of AOAC international**. 17 ed . Gaithersburg: AOAC International; 2000.
- BROWN, P.H.; WELCH, R.M.; CARY, E. E. Nickel: A micronutrient essential for higher plants. **Plant physiology**, v.85, p.801–803, 1987.
- Companhia Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. **Resolução n. 420, de 28 de dezembro de 2009**. Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. Diário oficial da união, n. 249, p. 81 – 84, dez, 2009.
- ERNST, W.H.O. Evolution of metal tolerance in higher plants. **For. Snow Landsc. Res.**, v.80, n.3, p.251–274, 2006.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia (UFLA)*, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- GAJEWSKA, E.; SKLODOWSKA, M. Effect of nickel on ROS content and antioxidative enzyme activities in wheat leaves. **BioMetals**, v.20, n.1, p.27–36, feb., 2007.
- GHAVRI, S.V.; SINGH, R.P. Phytotranslocation of Fe by biodiesel plant *Jatropha curcas* L. grown on iron rich wasteland soil. **Braz. J. Plant Physiol.**, v.22, n.4, p.235-243, 2010.
- GHEIBI, M.N.; MALACOUTI, M.J. KHOLDEBARIN, B.; GHANATI, F.; TEIMOURI, S.; SAYADI, R. Significance of nickel supply for growth and chlorophyll content of wheat supplied with urea or ammonium nitrate. **Journal of Plant Nutrition**, v.32, n.9, p.1440–1450, 2009.
- KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements from soil and plant**. New York: CRC Press, Taylor and Francis Group, 4 ed., 2011, 576 p.
- KAVERIAMMAL, S.; SUBRAMANI, A. Variation in seed germination and early growth of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) under nickel treatments. **International journal of environment and bioenergy**, v.10, n.1, p.47-53, 2015.
- KUMAR, G.P.; YADAV, S.K.; THAWALE, P.R.; SINGH, S.K.; JUWARKAR, A.A. Growth of *Jatropha curcas* on heavy metal contaminated soil amended with industrial wastes and Azotobacter – A greenhouse study. **Bioresource Technology**, n.99, p.2078–2082, 2008.
- MAGUIRE, J.D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.2, p.176-77, 1962.
- MAHESHWARI, R.; DUBEY, S. Nickel-induced oxidative stress and the role of antioxidant defence in rice seedlings. **Plant Growth Regulation**, v.59, n.1, p.37–49, 2009.
- MALAVOLTA, E.; MORAES, M. F. Nickel – from toxic to essential nutrient. **Better crops with plant food**, v.91, n.3, p.26-27, 2007.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. de. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2 ed. Piracicaba: Potafos, 1997. 319 p.

- MANGKOEDIHARDJO, S.; SURAHMAIDA. *Jatropha curcas* L. for phytoremediation of lead and cadmium polluted soil. **World Appl. Sci. J.**, n.4, v.4, p.519-522, 2008.
- PAGE, V.; FELLER, U. Selective transport of zinc, manganese, nickel, cobalt and cadmium in the root system and transfer to the leaves in young wheat. **Annals of botany**, v.96, p.425–434, 2005.
- PAIVA, H.N. de; CARVALHO, J.G. de; SIQUEIRA, J.O.; FERNANDES, A.R.; MIRANDA, J.R.P. de. Effect of the increasing levels of nickel on the nutrients content and accumulation in ipê-roxo (*Tabebuia impertiginosa* (Mart.) Standley) seedlings. **Scientia florestalis**, n.63, p. 158-166, jun. 2003.
- PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. Piracicaba, USP, 2000, 477 p.
- RAHMAN, H.; SABREEN, S.; ALAM, S.; KAWAI, S. Effects of nickel on growth and composition of metal micronutrientes in barley plants grown in nutrient solution. **Journal of plant nutrition**, v. 28, n. 3, 2005.
- RAIJ, B.V.; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H. QUAGGIO, J.A. (Ed.). **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2001, 285 p.
- REEVES, R.D., BAKER, A.J.M. Metal-accumulating plants. In: RASKIN, I., ENSLEY, B. D. (Eds). **Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment**. New York, USA: John Wiley & Sons, p.193 –229, 2000.
- SERENGIN, I.V.; KOZHEVNIKOVA, A. Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants. **Russian Journal of Plant Physiology**, v.53, n.2, p.257-277, 2006.
- THAKUR, S.; SHARMA, S.S. Characterization of seed germination, seedling growth, and associated metabolic responses of *Brassica juncea* L. cultivar to elevated nickel concentrations. **Protoplasma**, 2015.
- U.S. Environmental Protection Agency - USEPA. **Ecological soil screening levels for nickel**: Interim final. Washinton: U.S. Environmental Protection Agency/ Office of solid waste and emergency response. 2007, 133 p.
- WUANA, R.A.; OKIEIMEN F.E. Heavy metals in contaminated soils: A review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. **International Scholarly Research Network Ecology**, 2011.
- YADAV, S.S.; SHUKLA, R.; SHARMA, Y.K. Nickel toxicity on seed germination and growth in radish (*Raphanus sativus*) and its recovery using copper and boron. **Journal of Environmental Biology**, v.30, n.3, p.461–466, 2009.
- YUSUF, M.; FARIDUDDIN, Q.; HAYAT, S.; AHMAD, A. Nickel: a overview of uptake, essentiality and toxicity in plants. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v.86, p.1-17, 2011.

CAPÍTULO 3: NUTRIÇÃO MINERAL DE PINHÃO-MANSO EM LATOSSOLO CONTAMINADO POR NÍQUEL

Resumo - A presença excessiva de níquel no solo pode interferir de forma antagônica ou sinérgica na absorção de outros elementos essenciais ao crescimento das plantas. A fim de verificar as alterações decorrentes da presença de Ni ao solo de cultivo na absorção mineral de N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn, Zn e Ni, em pinhão-manso, foram realizados dois experimentos simultâneos, utilizando mudas e plantas adultas da espécie *Jatropha curcas* L. utilizando-se Latossolo Vermelho Distroférico. O níquel foi aplicado nas doses 0; 6,5; 13; 30; 70 e 100 mg de Ni Kg⁻¹ de solo mantendo-se as plantas por oito meses nessa condição. A análise dos diferentes órgãos da planta demonstrou que há acúmulo de K, Ca, S, Ni, Mn e Fe na presença do Ni. O Ni em quantidades excessivas no solo é antagônico à absorção de Mg, Cu e Zn.

Palavras-chave: *Jatropha curcas* L. Interação entre nutrientes. Metal pesado.

MINERAL NUTRITION OF PHYSIC NUT IN OXISOIL CONTAMINATED BY NICKEL

Abstract - The bigger presence of nickel in soil can change of antagonist or synergistic form in the absorption of other essentials elements for plant growth. In order to verify the changes arising from the presence of Ni to soil in mineral absorption of N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn, Zn and Ni in physic-nut, two experiments were conducted simultaneous using seedlings and adult plants of the species *Jatropha curcas* L. using Oxisol Distroferric as a substrate. Nickel was applied in doses 0; 6.5; 13; 30; 70 Ni and 100 mg Kg⁻¹ of soil keeping plants for eight months in this condition. The analysis of the different organs of the plant demonstrated that there is accumulation of K, Ca, S, Ni, Mn and Fe in the presence of Ni. Ni in excessive amounts in the soil is antagonistic to the absorption of Mg, Cu and Zn.

Key words: *Jatropha curcas* L. Nutrients interaction. Heavy metal.

INTRODUÇÃO

O níquel é um micronutriente essencial às plantas superiores (Brown et al., 1987), que existe naturalmente no solo e na água, mas que tem tido sua disponibilidade aumentada,

provocando poluição do solo e da água, graças às atividades antrópicas de mineração, fabricação de ligas metálicas, utilização de biossólidos na agricultura, descarte inadequado de resíduos eletrônicos e queima de resíduos domésticos e de combustíveis fósseis (Wuana; Okieimen, 2011). Nessas condições, devido à facilidade com a qual o níquel é absorvido e translocado pela maioria das espécies vegetais (Malavolta; Moraes, 2007), o níquel passa a ter seu papel de metal pesado enaltecido, uma vez que em concentrações elevadas pode causar toxidez tanto para os vegetais, como para a saúde humana (Serengin; Kozhevnikova, 2006).

A capacidade de uma planta tolerar a presença do níquel varia de acordo com a espécie, fase de seu desenvolvimento e também conforme o tipo de solo no qual ela é cultivada. Em altas concentrações, o níquel reduz a biomassa total por conta do menor crescimento aéreo e radicular; reduz a germinação; causa deformidades na planta, incluindo distúrbios mitóticos na raiz, os quais podem afetar a absorção de outros nutrientes minerais essenciais, além de clorose e necrose foliar devido às interações com outros elementos tal como o ferro, cobre e zinco (Uren, 1992). As alterações de antagonismo ou sinergismo com outros íons presentes na solução do solo podem causar redução do rendimento das culturas agrícolas, e por isso devem ser estudadas a fim de elucidar as causas primárias e os efeitos nas mais diferentes espécies vegetais.

O pinhão-mansão (*Jatropha curcas* L.) é uma euforbiácea, utilizada comercialmente para extração de óleo para produção de biodiesel, e que tem sido relatado em vários trabalhos como uma espécie com grande capacidade de crescimento em solos pobres e com alta concentração de metais (Kumar et al., 2008; Ghavri; Singh, 2010; Mangkoedihardjo; Surahmida, 2008). Devido a essa característica, o pinhão-mansão é considerada uma espécie promissora em trabalhos cuja finalidade é o tratamento de áreas contaminadas por níquel, uma vez que o metal absorvido não entraria na cadeia alimentar humana. Todavia, estudos básicos sobre fitotoxicidade desse metal, sobre essa espécie, e as interações deste metal com outros elementos essenciais, ainda precisam ser realizados, a fim de conhecer melhor os padrões de absorção, translocação e acúmulo de íons metálicos e sintomas de fitotoxidez causados pelo próprio elemento (Ahmad et al., 2011), bem como as relações de antagonismo ou sinergismo existentes entre este elemento e outros macro e micronutrientes essenciais ao desenvolvimento da espécie.

Com base no exposto, objetivou-se através deste trabalho verificar se doses excessivas de níquel interferem na absorção e translocação de macro e micronutrientes essenciais em *J. curcas*, em duas fases distintas de seu desenvolvimento.

MATERIAL E MÉTODOS

Tratamentos e delineamento experimental

Foram realizados dois experimentos simultâneos utilizando plantas jovens, 30 dias após a germinação, e adultas, com dois anos e seis meses de idade, de *Jatropha curcas* L., no ano de 2013, na UNESP/ Câmpus de Ilha Solteira (20° 25' 9,4" S e 51° 20' 23" W), 380 metros de altitude, em casa de vegetação tipo pad fan com 100 m², e 5 m de altura, produzida em aço galvanizado e revestida por placas de policarbonato com espessura de 1,2 cm. As temperaturas mínimas e máximas variaram entre 15 e 30 °C durante o período experimental.

O solo utilizado nos experimentos foi um Latossolo Vermelho Distroférico, de textura franco-argilosa, coletado na camada de 0-20 cm de profundidade com as seguintes características químicas: P-resina 92,7 mg dm⁻³; matéria orgânica 6,5 g dm⁻³; pH (CaCl₂) 5,2; K 0,38 mmol_cdm⁻³; Ca 40,8 mmol_cdm⁻³; Mg 4,8 mmol_cdm⁻³; H+Al 18,54 mmol_cdm⁻³; Al 0,47 mmol_cdm⁻³; Cu 0,7 mg dm⁻³; Fe 12,5 mg dm⁻³; Mn 10,5 mg dm⁻³; Zn 1,7mg dm⁻³ e Ni 0,01 mg dm⁻³, ao qual foi adicionado 295,5 g m⁻³ de calcário dolomítico PRNT 90%, e após 30 dias de incubação, foi adicionado 830 g m⁻³ de super fosfato simples, e 650 g m⁻³ de cloreto de potássio.

Na implantação do primeiro experimento, mudas da espécie *J. curcas*, com com 30 dias após a germinação, medindo cerca de 10cm de altura e contendo de 2 a 3 folhas verdadeiras completamente expandidas, foram transplantadas para sacos plásticos, com capacidade para 4Kg de solo. Vinte dias após o transplante, foram iniciados os tratamentos, por meio da aplicação líquida de sulfato de níquel ao solo nas doses totais de 0; 6,5; 13; 30; 70 e 100 mg de Ni Kg⁻¹ de solo. A aplicação foi realizada em três parcelamentos mensais de maio à julho de 2013, e as plantas foram mantidas até o mês de dezembro neste solo, totalizando oito meses de tratamento. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com 10 repetições, de duas plantas cada.

No segundo experimento, plantas adultas de *J. curcas* com dois anos e seis meses de idade, foram podadas, deixando-se apenas dois ramos principais com 60cm de altura, e transplantadas para vasos com capacidade para 20Kg de solo. Trinta dias após o transplante, iniciou-se a aplicação dos tratamentos nas doses totais 0; 6,5; 13; 30; 70 e 100 mg de Ni Kg⁻¹ de solo. Os tratamentos foram aplicados na forma de solução de sulfato de níquel, em três parcelamentos mensais, com intervalos de 30 dias entre cada aplicação, no período de maio à julho de 2013, e as plantas foram mantidas até o mês de dezembro neste solo. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições de duas plantas cada.

Análise química dos tecidos vegetais

Ao final do período experimental, as folhas, caule e raízes das plantas jovens e adultas de *J. curcas* foram coletadas, lavadas com água destilada e secas em estufa com circulação forçada de ar a 70°C, até obtenção de massa constante. O material seco foi então triturado em moinho tipo Wiley, passado por peneira com malha de 20 mesh.

Para digestão dos tecidos vegetais, 250mg do material vegetal triturado e finamente moído foi misturado à 6mL de ácido nítrico-perclórico na proporção de 2:1 (v/v) e digerido em bloco digestor aberto, a 210°C, por cerca de duas horas, até que o material se tornasse incolor. Após resfriamento, o volume foi completado com água deionizada para 25mL. Esse material digerido foi utilizado para as análises de fósforo (P), enxofre (S), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), níquel (Ni), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn) (Malavolta et al., 1997).

A análise do P foi realizada através do ensaio colorimétrico com amarelo de vanadato. Para preparo da reação, 1mL do extrato da digestão nítrico-perclórica foi homogeneizado a 4 mL de água destilada e 2mL do reativo composto por parte iguais de solução de molibdato de amônio a 5% e metavanato de amônio a 0,25%. Procedeu-se então leitura em espectrofotômetro (Biospectro, modelo SP22) a 420nm. A concentração de P nas plantas foi correlacionada com uma curva analítica padrão de dihidrogenofosfato (Malavolta et al., 1997).

A quantificação do S foi realizada pelo método de turbidimetria em espectrofotômetro (Biospectro, modelo SP22). Para a reação, 5mL do extrato da digestão nítrico-perclórica foi misturado a 1 mL de HCl 6N e a 500 mg de cloreto de bário, homogeneizados e lido em 420 nm. Para cálculo dos teores finais, os valores obtidos foram comparados a uma curva analítica padrão (Malavolta et al., 1997).

Para análise do nitrogênio (N) 100mg do material vegetal triturado foi misturado à 2g de uma mistura catalisadora composta por duas partes de sulfato de sódio anidro e uma de sulfato de sódio pentahidratado, seguida da adição de 4mL de ácido sulfúrico (HCl) concentrado. Esta reação foi mantida a 25°C por 12 horas em capela com exaustão de gases para a primeira etapa de digestão fria e então foi finalizada sob aquecimento, em bloco digestor aberto, partindo-se da temperatura ambiente (25°C) com rampa de aquecimento de 50°C cada 30 minutos até alcançar a temperatura de 350°C. O material foi mantido sob aquecimento por cerca de 50 minutos, quando adquiriu a coloração verde clara. Após resfriamento, ao material digerido foi adicionado 15 mL de hidróxido de sódio 40% (m/v) e levado ao equipamento de destilação de nitrogênio para arraste do vapor e coleta da amônia desprendida em 15mL de uma solução

receptora indicadora até que o volume alcançado fosse de 50mL. A solução receptora indicadora foi preparada através da mistura de 1000 mL de solução de ácido bórico 2%, 6 mL de solução etanólica de vermelho de metila ($C_{15}H_{15}N_3O_2$) a 0,1% e 15 mL de solução etanólica de verde de bromocresol ($C_{21}H_{14}Br_4O_5S$) a 0,1%. O material coletado na solução indicadora foi titulado com ácido clorídrico $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ até o ponto de viragem do indicador para a cor rósea. A quantidade de N total (NT) foi calculada através da equação: $NT = [(Va - Vb) \times F \times 0,1 \times 0,014 \times 100]/P$. Onde: NT – teor de nitrogênio total na amostra, em percentagem; Va – volume da solução de ácido clorídrico gasto na titulação da amostra, em mililitros; Vb – volume da solução de ácido clorídrico gasto na titulação do branco, em mililitros; F – fator de correção para o ácido clorídrico $0,01 \text{ mol L}^{-1}$; P1 – massa da amostra (em gramas) (AOAC, 2000).

Os elementos K, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, Zn e Ni foram analisados por espectrometria de absorção atômica, em equipamento um espectrômetro de absorção atômica (Varian modelo 55B), com base em uma curva analítica para cada um dos elementos (Malavolta et al., 1997).

Análise estatística dos dados

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância pelo teste F em nível de 5% de probabilidade e os resultados significativos foram analisados por meio de regressão linear e quadrática também em nível de 5% de probabilidade utilizando-se o programa de análises estatísticas Sisvar versão 5.3 (Ferreira, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Teor de macronutrientes

Houve alteração na composição de macronutrientes tanto em plantas jovens como em plantas adultas de *J. curcas* sob a aplicação de níquel. Nas plantas adultas foram detectadas alterações somente nos teores de Mg e S (Tabela 1), enquanto que nas plantas jovens as modificações provocadas pela presença do níquel foram muito mais severas, sendo possível detectar alterações em quase todos os macronutrientes analisados, nas diferentes partes da planta, à exceção do N (Figura 1).

Assim como nas plantas adultas (Tabela 1), nas plantas jovens, o teor de N não foi influenciado pelo aumento das doses de níquel (Figura 1). Em mudas de umbuzeiro (*Spondias*

tuberosa Arr. Cam.) a aplicação de níquel em solução nutritiva até 1 mmol L⁻¹ não alterou os teores foliares desse elemento (Neves et al., 2007), por outro lado em híbridos de girassol (*Helianthus annuus* L.) a aplicação de doses inferiores a 40 mg L⁻¹ já foi suficiente para promover redução dos teores foliares de nitrogênio na espécie (Ahmad et al., 2011).

Tabela 1 - Teores médios de macronutrientes encontrados em folhas, caule e raízes de plantas adultas, com dois anos e seis meses de idade, de *Jatropha curcas* L. em função da aplicação de níquel.

Doses aplicadas (mg de Ni Kg ⁻¹)	N								
	(g Kg ⁻¹)								
	folha			caule			raízes		
0,0	19,24	10,14	7,67	2,85	2,3	2,42	13	11,6	17,2
6,5	15,34	9,91	11,23	2,73	2,52	1,82	12	8,9	15,15
13,0	18,99	9,79	9,88	2,91	2,14	2,26	10,6	11,4	16,55
30,0	18,61	9,77	13,13	2,78	2,07	2,35	11,1	9,75	17,05
70,0	19,81	9,76	10,02	2,98	2,23	2,32	17,05	11,12	15,8
100,0	18,9	8,38	11,58	3,04	2,29	2,45	12,6	11,4	13,9
Valores de F para dose	1,32 ^{ns}	0,17 ^{ns}	2,4 ^{ns}	0,37 ^{ns}	0,79 ^{ns}	1,17 ^{ns}	2,56 ^{ns}	1,14 ^{ns}	1,66 ^{ns}
Coefficiente de variação (CV %)	16,72	17,61 ¹	25,26	15,12	17,44	20,94	50,24 ²	21,68	13,74
Valores de F para regressão linear	1,02 ^{ns}	0,62 ^{ns}	1,52 ^{ns}	1,21 ^{ns}	0,09 ^{ns}	1,21 ^{ns}	2,22 ^{ns}	0,56 ^{ns}	4,14 ^{ns}
Valores de F para regressão quadrática	0,27 ^{ns}	0,11 ^{ns}	1,95 ^{ns}	0,04 ^{ns}	1,33 ^{ns}	0,01 ^{ns}	3,43 ^{ns}	0,45 ^{ns}	1,41 ^{ns}
Doses aplicadas (mg de Ni Kg ⁻¹)	P								
	(g Kg ⁻¹)								
	folha			caule			raízes		
0,0	15,45	7,20	2,85	7,55	2,20	5,55	1,14	0,80	1,95
6,5	16,10	6,25	5,30	6,95	2,85	4,05	1,12	0,78	1,50
13,0	16,30	6,90	4,25	7,80	2,30	5,20	0,99	1,09	1,45
30,0	15,70	5,80	4,20	6,55	2,65	5,80	0,96	0,80	3,13
70,0	16,65	6,75	3,55	6,40	2,25	4,60	1,03	1,00	1,72
100,0	17,50	6,55	4,75	7,75	1,70	5,85	1,31	0,77	2,22
Valores de F para dose	0,79 ^{ns}	0,94 ^{ns}	1,67 ^{ns}	1,35 ^{ns}	2,80*	1,83 ^{ns}	2,29 ^{ns}	0,46 ^{ns}	3,08*
Coefficiente de variação (CV %)	11,36	17,42	17,73	16,58	22,89	22,95	17,27	25,82	18,74
Valores de F para regressão linear	3,04 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,22 ^{ns}	0,02 ^{ns}	6,67*	0,67 ^{ns}	2,74 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,75 ^{ns}
Valores de F para regressão quadrática	0,17 ^{ns}	0,96 ^{ns}	0,07 ^{ns}	4,13 ^{ns}	3,09 ^{ns}	0,29 ^{ns}	8,28**	0,5 ^{ns}	1,23 ^{ns}

¹ e ² correspondem a valores de CV transformados para \sqrt{x} e $\sqrt{x+1}$, respectivamente. * e ^{ns} indicam valores de F significativos e não significativos, respectivamente pelo teste F em nível de 5% de probabilidade. ** indica valores significativos menores que 1% pelo teste F.

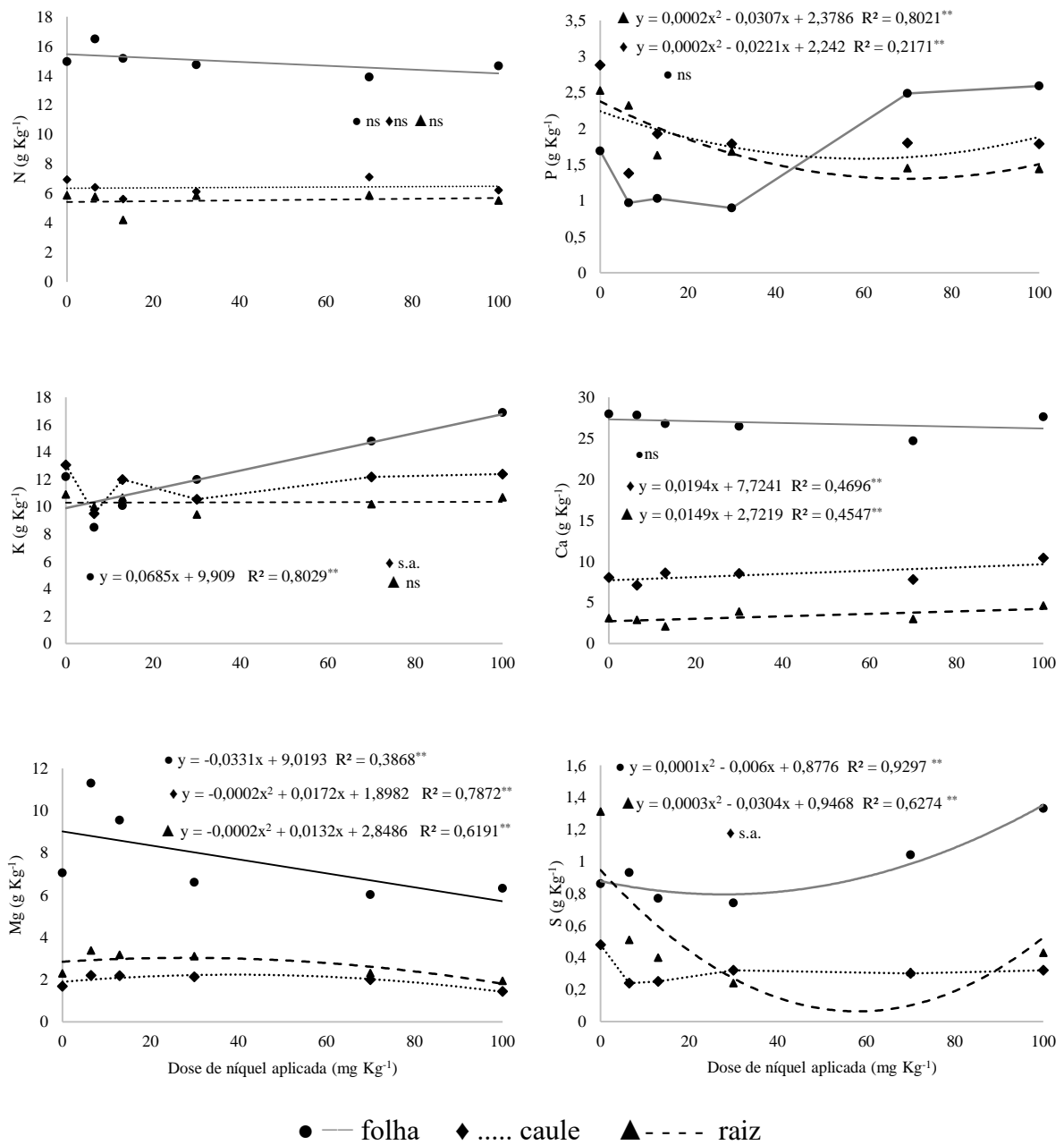


Figura 1 – Teores de N, P, K, Ca, Mg e S na matéria seca de folhas, caule e raízes em plantas jovens, com oito meses de idade, de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L) em resposta à aplicação de Ni. (ns: não significativo pelo teste F $p \leq 0,05$; s.a.: sem ajuste polinomial; ** significativo $p \leq 0,01$).

Nas plantas adultas, os tratamentos interferiram somente no teor de Mg no caule o qual foi reduzido linearmente sob o aumento das doses de níquel ($y = -0,0069x + 2,5767$ $R^2 = 0,48^*$). Os teores deste elemento nas raízes e nas folhas das plantas adultas não foram influenciados pela presença de níquel (Tabela 1). Nas plantas jovens, a aplicação do níquel alterou a composição do elemento em todos os órgãos analisados. Nas folhas, houve redução linear do Mg em função da aplicação de níquel. No caule e nas raízes, o teor de Mg ajustou-se à modelos

de regressão quadráticos obtendo os conteúdos máximos nas doses de 43 e 32,5 mg de Ni Kg⁻¹, respectivamente em cada um dos órgãos e reduzindo em doses maiores que essas (Figura 1). Nas espécies *H. annuus* (Ahmad et al., 2011) e em *S. tuberosa* (Neves et al., 2007) a aplicação no níquel não influenciou os teores de Mg em nenhum dos órgãos analisados, mas em *Tabebuia impertiginosa*, assim como no presente estudo, foi verificada também redução linear nos teores de Mg radicular devido à inibição competitiva existente entre os íons Ni²⁺ e Mg²⁺ (Paiva et al., 2002).

O teor de S no sistema radicular foi influenciado em plantas jovens e adultas, sendo que nestas últimas não pode ser ajustado a nenhum dos modelos de regressão propostos (Tabela 1). Nas plantas jovens, ocorreu redução de S até a dose de 60 mg de Ni Kg⁻¹, e aumento a partir de doses maiores que essa (Figura 1). No caule, nenhum dos ajustes de regressão propostos foram significativos para explicar o conteúdo de S. Nas folhas, o teor de S ajustou-se ao modelo de regressão quadrático, apresentado os maiores teores nas doses de 70 e 100 mg Kg⁻¹. Plantas submetidas à estresse por metais pesados tal como o níquel, passam a aumentar a produção de fitoquelatinas como mecanismo de proteção, compostos esses ricos em grupamentos – SH (Hirata et al., 2005). Esse efeito poderia ter contribuído para os maiores teores de S verificados nas folhas no presente trabalho. Aumento no teor de S foliar em função da aplicação de Ni foi relatado também em *S. tuberosa* (Neves et al., 2007), em *T. impertiginosa* (Paiva et al., 2003; Paiva et al., 2002) e em *Cedrela fissilis* Vell. (Paiva et al., 2002).

Os teores de P no caule e raízes das plantas jovens de *J. curcas* ajustaram-se a modelos de regressão quadráticos decrescendo até 25 mg de Ni Kg⁻¹ e tendendo a uma estabilização dos teores a partir desta dose. Nas folhas, a aplicação de níquel não causou alterações significativas nos teores de P (Figura 1). Em *H. annuus* também ocorreu redução dos teores foliares de P em função do aumento das doses de níquel (Ahmad et al., 2011), por outro lado em *S. tuberosa* o P foliar apresentou aumento linear em função do aumento da aplicação de níquel até 1 mmol L⁻¹ (Neves et al., 2007) e em *T. impetiginosa* ocorreu aumento nos teores desse elemento nas raízes, caule e folhas das plantas tratadas com níquel até 252 mmol L⁻¹ (Paiva et al., 2003). Percebe-se então que apesar do possível antagonismo existente entre Ni e P (Zaidi et al., 2006) o níquel pode afetar a absorção de P de diferentes maneiras dependendo da espécie analisada, bem como da dose aplicada.

O teor de K foliar e caulinar nas plantas jovens foi influenciado pelo aumento das doses de níquel, enquanto no sistema radicular não foi detectada diferença para esse macronutriente. O K caulinar não ajustou-se a nenhum dos modelos de regressão propostos, mas é possível verificar que houve um aumento dos teores caulinares a partir de 25 mg Kg⁻¹. Nas folhas, o K

aumentou linearmente em função da aplicação de Ni (Figura 1) demonstrando o efeito sinérgico do níquel sobre o K. Resultado semelhante foi relatado em *S. tuberosa* (Neves et al., 2007), enquanto em *H. annuus* (Ahmad et al., 2011) e em *T. impetiginosa* (Paiva et al., 2003) foram verificadas diminuições para o K foliar.

Nas plantas jovens, o teor de Ca foliar não foi influenciado pela aplicação de níquel. No caule e nas raízes entretanto, houve aumento linear de Ca em função do aumento da aplicação de Ni, demonstrando efeito sinérgico entre esses elementos (Figura 1). Em *T. impetiginosa* também foi verificado aumento linear no conteúdo de Ca em função da aplicação de Ni (Paiva et al., 2002).

Teor de micronutrientes

Nas plantas adultas somente os teores de micronutrientes Ni e Cu foram alterados pela aplicação de Ni (Tabela 2). Nas plantas jovens, todos os micronutrientes analisados apresentaram alguma alteração, em pelo menos um dos órgãos analisados (Figura 2).

Os teores de Ni em plantas jovens e adultas aumentaram linearmente em todos os órgãos (Figura 2), demonstrando a alta mobilidade deste elemento e a capacidade dele ser absorvido pela planta e translocado a todos os tecidos (Riesen; Feller, 2005). Aumentos lineares deste elemento sob o aumento de doses de níquel no solo ou em solução nutritiva foram relatados também em *H. annuus* (Ahmad et al., 2011), *T. impetiginosa* (Paiva et al., 2003) e em *Trigonella corniculata* (Parida et al., 2003). Durante todo o período experimental, mesmo sob a maior dose de níquel, não foram observados sintomas visuais de toxidez por este elemento tanto em plantas jovens como em plantas adultas. Possivelmente, a ausência de sintomas seja um reflexo dos baixos teores encontrados nas folhas, que chegou ao máximo de 12 mg Kg⁻¹ nas plantas adultas, sob a aplicação de 100 mg de Ni Kg⁻¹ ao solo. Na maioria das espécies nas quais sintomas foliares foram relatados, os teores foliares de Ni estavam entre 10 e 100 mg Kg⁻¹ (Malavolta; Moraes, 2007), sendo que essa amplitude de variação nos teores foliares depende de características genéticas da espécie, fase do desenvolvimento, bem como do tipo de solo no qual a planta foi cultivada (Li et al., 2015).

Tabela 2 – Teores médios de micronutrientes encontrados em folhas, caules e raízes de plantas adultas de *Jatropha curcas* L. em função da aplicação de níquel.

Doses (mg de Ni Kg ⁻¹)	Ni			Cu			Fe		
	(mg Kg ⁻¹)								
	folha	caule	raízes	folha	Caule	raízes	folha	caule	raízes
0	0,0	0,0	20,0	10,0	8,0	12,0	164,0	132,0	1456,0
6,5	0,0	0,0	14,0	6,0	6,0	8,0	342,0	140,0	1290,0
13,0	4,0	0,0	12,0	4,0	6,0	10,0	380,0	62,6	1236,0
30,0	6,0	0,0	26,0	6,0	10,0	28,0	170,0	130,0	1764,0
70,0	10,0	0,0	20,0	4,0	14,0	10,0	192,0	150,0	1608,0
100,0	12,0	8,0	32,0	4,0	0,0	10,0	140,0	70,0	1606,0
Valores de F para dose	3,27*	6,00**	8,32**	1,09 ^{ns}	4,10**	15,16**	2,14 ^{ns}	1,47 ^{ns}	1,51 ^{ns}
Coefficiente de variação (CV %)	57,22 ²	32,31 ²	27,94	50,08 ²	35,9 ²	20,37 ¹	27,59 ¹	25,49 ¹	24,87 ¹
Valores de F para regressão linear	12,52**	5,03*	22,36**	2,15 ^{ns}	1,06 ^{ns}	0,59 ^{ns}	3,04 ^{ns}	0,48 ^{ns}	2,35 ^{ns}
Valores de F para regressão quadrática	1,52 ^{ns}	8,89**	1,03 ^{ns}	0,2 ^{ns}	12,68**	21,43**	0,07 ^{ns}	1,07 ^{ns}	1,04 ^{ns}
Doses (mg de Ni Kg ⁻¹)	Mn			Zn					
	(mg Kg ⁻¹)								
	folha	caule	raízes	folha	caule	raízes			
0,0	50,0	150,0	142,0	30,0	24,0	30,0			
6,5	64,0	148,0	234,0	28,0	22,0	24,0			
13,0	56,0	158,0	212,0	26,0	14,0	28,0			
30,0	52,0	112,0	206,0	20,0	26,0	36,0			
70,0	60,0	190,0	270,0	28,0	24,0	36,0			
100,0	60,0	172,0	208,0	26,0	20,0	32,0			
Valores de F para dose	1,35 ^{ns}	1,09 ^{ns}	1,95 ^{ns}	2,37 ^{ns}	2,28 ^{ns}	2,00 ^{ns}			
Coefficiente de variação (CV %)	17,98	17,50 ¹	15,92 ¹	18,99	29,19	23,92			
Valores de F para regressão linear	0,92 ^{ns}	1,62 ^{ns}	1,82 ^{ns}	0,25 ^{ns}	0,01 ^{ns}	3,03 ^{ns}			
Valores de F para regressão quadrática	0,03 ^{ns}	0,16 ^{ns}	3,33 ^{ns}	3,56 ^{ns}	0,82 ^{ns}	3,16 ^{ns}			

¹ e ² correspondem a valores de CV transformados para \sqrt{x} e $\sqrt{x+1}$, respectivamente. * e ^{ns} indicam valores de F significativos e não significativos, respectivamente pelo teste F em nível de 5% de probabilidade. ** indica valores significativos menores que 1% pelo teste F.

O teor de cobre no tecido foliar das plantas jovens diminuiu linearmente com o aumento da aplicação de níquel (Figura 2), enquanto nas plantas adultas o Cu foliar não foi alterado (Tabela 2). No caule das plantas jovens, houve aumento dos teores de Cu até 47,6 mg de Ni Kg⁻¹ e em doses maiores que essa houve redução dos teores de cobre (Figura 2). Nas plantas adultas o comportamento da absorção seguiu o mesmo padrão ajustando-se ao modelo de regressão quadrático negativo ($y = -0,0038x^2 + 0,3523x + 4,7037$ R² 0,67), a concentração máxima deste elemento foi obtida na dose 46,4 mg de Ni Kg⁻¹ (Tabela 2). Na raiz das plantas jovens, apesar de ser detectada diferença pelo teste F, não houve ajuste de regressão que demonstrasse uma tendência em relação ao acúmulo de Cu. Nas plantas adultas, o teor de Cu ajustou-se ao modelo de regressão quadrático ($y = -0,0041x^2 + 0,392x + 9,7173$ R² 0,29), e mesmo com o baixo índice de determinação da reta, foi possível verificar que até a dose de 47,8 mg Kg⁻¹, ocorreu

um aumento da absorção de Cu. Entretanto, em doses maiores, ocorreu um antagonismo entre Cu e Ni, culminando na menor absorção do primeiro elemento, devido à repulsão de cargas positivas entre esses elementos. Resultados semelhantes tanto quanto aos teores médios acumulados de Cu, bem como as tendências de absorção em função do níquel aplicado foram encontrados em *T. corniculata* (Parida et al., 2003), e indicam uma relação antagonística entre níquel e cobre devido à repulsão de cargas iguais, assim como verificado também por Paiva et al. (2003) em trabalho com *T. impetiginosa*, por Murch et al. (2003) em *Hipericum perforatum* L.

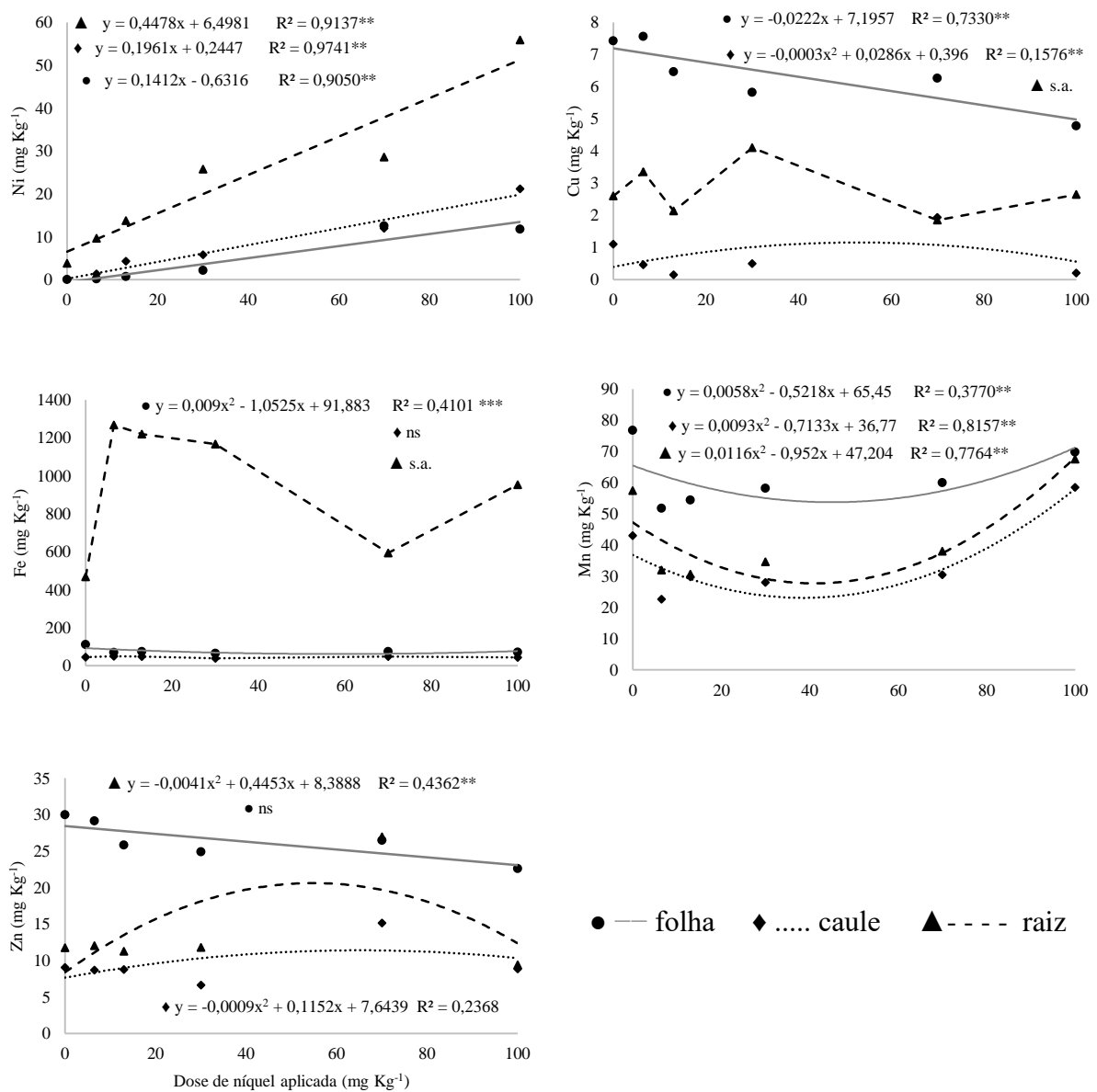


Figura 2 – Teores de Ni, Cu, Fe, Mn e Zn na matéria seca de folhas, caule e raízes de plantas jovens de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.), sob a aplicação de doses crescentes de níquel. (ns: não significativo pelo teste F $p \leq 0,05$; s.a.: sem ajuste polinomial; ** significativo $p \leq 0,01$).

O teor de ferro nas raízes e folhas das plantas jovens foi alterado em função da aplicação de níquel. Os teores encontrados nas raízes foram muito superiores àqueles presentes nas folhas e no caule, e apesar existir diferença significativa em função dos tratamentos, não houve ajuste de regressão para esta variável. Nas folhas, o teor de ferro diminuiu até 40 mg Kg^{-1} de Ni e após essa dose ocorreu um aumento pouco expressivo, demonstrado a partir do baixo coeficiente de determinação da reta (Figura 2). Estes resultados são contrastantes aos encontrados em *T. corniculata* na qual o aumento da dose de níquel proporcionou aumento do teor de ferro nas raízes e na parte aérea (Parida et al., 2003), mas corrobora os resultados obtidos por Paiva et al., 2003 em trabalho com a espécie *T. impetiginosa*, bem como parte dos resultados observados em *S. tuberosa* (Neves et al., 2007) e em *H. perforatum* (Murch et al., 2003). É comum que plantas cultivadas sob altas doses de Ni apresentem também sintomas de deficiência por Fe, mas de acordo com Paiva et al. (2003), não se trata de um antagonismo de absorção entre Ni e Fe, já que o Ni aumenta a absorção de Fe, mas sim, de um sintoma de deficiência induzida, pois a presença do Ni interfere no metabolismo do Fe, devido à interferência na produção substâncias químicas compostas por este metal.

Nas folhas, caule e raízes de plantas jovens de *J. curcas* ocorreu uma redução dos teores de Mn em função das doses de níquel aplicadas até aproximadamente 40 mg Kg^{-1} de Ni, e após essa dose houve um aumento da concentração desse elemento, resultando em teores muito próximos àqueles encontrados na ausência da aplicação de níquel (Figura 2). Resultado semelhante foi observado na espécie *T. impetiginosa* (Paiva et al., 2003), e também em *Hordeum vulgare* L. (Rahman et al., 2005).

Até a dose máxima de 64 mg Kg^{-1} o níquel promoveu aumento na absorção de Zn no caule e raízes das plantas jovens, porém acima deste valor, causou redução do teor encontrado nesses mesmos órgãos (Figura 2), demonstrando um efeito antagonístico em função da dose resposta aplicada. Em *T. corniculata* (Parida et al., 2003), em *H. vulgare* (Rahman et al., 2005) e em *T. impetiginosa* (Paiva et al., 2003) a aplicação de níquel causou redução linear dos teores de Zn na parte aérea e nas raízes, pois de acordo com esses autores, Ni^{2+} e Zn^{2+} são cátions antagonistas. Por outro lado, em *S. tuberosa* o aumento das doses de Ni até a dose de 1 mmol L^{-1} promoveu maior acúmulo de Zn na parte aérea (Neves et al., 2007).

CONCLUSÃO

A presença do níquel em altas doses no solo causam alterações nutricionais de outros maco e micronutrientes em plantas jovens e também adultas de *Jatropha curcas* L. As plantas jovens, devido ao maior investimento energético em crescimento vegetativo, são mais susceptíveis à presença do níquel que as plantas adultas, demonstrando de forma mais evidente e rápida em todos os órgãos as alterações nutricionais provocadas direta e indiretamente por sua presença no solo. A presença de níquel no solo tem efeito sinérgico sobre a absorção de K, Ca, S, Ni, Fe e Mn, e efeito antagônico à absorção de Mg, Cu e Zn em *J. curcas* até a dose de 100 mg de Ni Kg⁻¹ em Latossolo Vermelho distroférico.

REFERÊNCIAS

- Association of Official Analytical Chemists - AOAC. **Official methods of analysis of AOAC international**. 17 ed. Gaithersburg: AOAC International, 2000.
- BROWN, P.H.; WELCH, R.M.; CARY, E. E. Nickel: A micronutrient essential for higher plants. **Plant physiology**, v. 85, p. 801–803, 1987.
- FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e agrotecnologia (UFLA)**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- GHAVRI, S.V.; SINGH, R.P. Phytotranslocation of Fe by biodiesel plant *Jatropha curcas* L. grown on iron rich waste land soil. **Braz. J. Plant Physiol.**, v. 22, n. 4, p.235-243, 2010.
- HIRATA, K.; TSULI, N.; MIYAMOTO, K. Biosynthetic regulation of phytochelatins, heavy metal-binding peptides. **J. Biosci. Bioenerg.**, v. 100, n. 6, p. 593-599, dec. 2006.
- KUMAR, G.P.; YADAV, S.K.; THAWALE, P.R.; SINGH, S.K.; JUWARKAR, A.A. Growth of *Jatropha curcas* on heavy metal contaminated soil amended with industrial wastes and Azotobacter – A greenhouse study. **Bioresource Technology**, n. 99, p. 2078–2082, 2008.
- LI, B.; LIU, J.; YANG, J.; MA, Y.; CHEN, S. Comparison of phytotoxicity of copper and nickel in soils with different Chinese plant species. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 14, n. 6, p. 1192-1201, 2015.
- MALAVOLTA, E.; MORAES, M. F. Nickel – from toxic to essential nutrient. **Better crops with plant food**, v.91, n.3, p.26-27, 2007.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. de. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2 ed. Piracicaba: Potafos, 1997. 319 p.
- MANGKOEDIHARDJO, S.; SURAHMAIDA. *Jatropha curcas* L. for phytoremediation of lead and cadmium polluted soil. **World Appl. Sci. J.**, n. 4, v. 4, p. 519-522, 2008.
- MURCH, S. J.; HAQ, K.; RUPASINGHE, H. P. V.; SAENA, P. K. Nickel contamination affects growth and secondary metabolite composition of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.). **Environmental and Experimental Botany**, v. 49, n. 3, jun. 2003, p. 251-257.

- NEVES, O. S. C.; FERREIRA, E.V. O.; CARVALHO, J. G.; SOARES, C. R. F. S. Addition of nickel to nutrient solution for cultivating Spondias tuberosa tree seedlings. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, p. 485-490, 2007.
- PAIVA, H. N.; CARVALHO, J. G.; SIQUEIRA, J. O. Translocation index of nutrients in cedro (*Cedrela fissilis* Vell.) and ipê-roxo (*Tabebuia impertiginosa* (Mart.) Standl.) seedlings submitted to increasing levels of cadmium, nickel and lead. **Revista Árvore**, v. 26, n. 4, p. 467-473, 2002.
- PAIVA, H. N.; CARVALHO, J. G.; SIQUEIRA, J. O.; FERNANDES, A. R.; MIRANDA, J. R. P. Effect of the increasing levels of nickel on the nutrients content and accumulation in ipê-roxo (*Tabebuia impertiginosa* (Mart.) Standley) seedlings. **Scientia Forestalis**, n. 63, p. 158-166, jun., 2003.
- PARIDA, B. K.; CHHIBBA, I. M.; NAYYAR, V. K. Influence of nickel-contaminated soils on fenugreek (*Trigonella corniculata* L.) growth and mineral composition. **Scientia Horticulturae**, v. 98, p. 113-119, 2003.
- RAHMAN, H.; SABREEN, S.; ALAM, S.; KAWAI, S. Effects of nickel on growth and composition of metal micronutrients in barley plants grown in nutrient solution. **Journal of Plant Nutrition**, v. 28, n. 3, 2005.
- RIESEN, O.; FELLER, U. Redistribution of nickel, cobalt, manganese, zinc and cadmium via phloem in young and maturing wheat. **Journal of Plant Nutrition**, v. 28, p. 421-430, 2005.
- SERENGIN, I.V.; KOZHEVNIKOVA, A. Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 53, n. 2, p. 257-277, 2006.
- UREN, N.C. Forms, reactions and availability of nickel in soils. **Advances in Agronomy**, New York, v. 48, p. 141-203, 1992.
- 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**, 2011, 20 p.
- ZAIDI, S.; USMANI, S.; SINGH, B. R.; MUSSARRAT, J. Significance of *Bacillus subtilis* SJ-101 as a bioinoculant for concurrent plant growth promotion and nickel accumulation in *Brassica juncea*. **Chemosphere**, v. 64, n. 6, p. 991-997, aug. 2006.

CAPÍTULO 4: CRESCIMENTO, DISTRIBUIÇÃO E ACUMULAÇÃO DE COBRE EM PINHÃO-MANSO

Resumo - A contaminação dos solos por cobre tem se agravado devido à utilização de maneira indiscriminada do lodo de esgoto, águas residuárias e pesticidas à base de cobre na agricultura. Assim, tecnologias de baixo custo e que sejam ambientalmente aceitas pela sociedade devem ser aplicadas a fim de despoluir essas áreas. O pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) é uma espécie que tem sido apontada em alguns trabalhos por sua capacidade de crescer em solos de baixa fertilidade e com alta concentração de metais. Nesse sentido, objetivou-se com este trabalho analisar os efeitos das doses 0; 17,5; 35,0; 60,0; 100,0; 200,0 e 400,0 mg de Cu Kg⁻¹ sobre a germinação, desenvolvimento de mudas e de plantas adultas da espécie, a fim de caracterizar seu potencial para fins de fitorremediação. O pinhão-manso apresentou baixa tolerância ao cobre, sendo capaz de acumular o teor máximo de 107,88 mg Kg⁻¹ nas raízes. Quanto menor a fase de desenvolvimento da espécie, maior é o dano causado pelo cobre e mais rapidamente são observáveis os sintomas de fitotoxidez, devido à maior absorção e translocação nos tecidos jovens.

Palavras-chave: *Jatropha curcas* L.; metal pesado; poluição do solo.

GROWTH, DISTRIBUTION AND ACCUMULATION OF COPPER IN PHYSIC NUT

Abstract - Soil contamination by copper has increase because inappropriate use of sewage sludge, wastewater and copper-based pesticides in agriculture. Thus, low-cost technologies that are environmentally accepted by society should be applied to clean up these areas. The physic nut (*Jatropha curcas* L.) is a species that has been implicated in some studies for their ability to grow in low fertility soils with high metal concentration. In this sense, the aim of this work was to analyze the effects of doses 0; 17.5; 35.0; 60.0; 100.00; 200.0 and 400.0 mg Cu Kg⁻¹ on germination, seedling development and adult plants of the species in order to characterize their potential for phytoremediation purposes. The physic nut showed low tolerance to copper, being able to accumulate the maximum level of 107.88 mg kg⁻¹ in the roots. The lower stage of development of the species, the greater the damage caused by copper and soon the symptoms of toxicity symptoms are observable due to higher absorption and translocation in young tissues.

Key words: *Jatropha curcas* L.; heavy metal; soil pollution.

INTRODUÇÃO

O cobre (Cu) é um elemento amplamente distribuído na natureza, podendo ser encontrado naturalmente em rochas, solo, água e ar. Trata-se de um micronutriente essencial às plantas que desempenha um importante papel nos processos fisiológicos redox como a fotossíntese, respiração, desintoxicação de radicais superóxido e lignificação (Kirkby; Römheld, 2007). Em níveis acima dos ideais, o cobre torna-se tóxico, causando inibição do crescimento vegetal por alterar processos respiratórios, fotossintéticos, atividade enzimática, replicação do DNA e a desestabilizar a integridade das membranas celulares (Alaoui-Sosse et al., 2004).

Devido à ampla utilização do cobre na formulação de pesticidas e da aplicação de lodo de esgoto e águas residuárias na agricultura, níveis de cobre acima dos ideais têm sido relatados em áreas de solo agricultável (Xu et al., 2006). Para que estas áreas voltem a ser produtivas, é necessário que elas sejam recuperadas. Dentre as técnicas para remoção de metais do ambiente, a fitorremediação é uma tecnologia de baixo custo (Weis; Weis, 2004), que além de revegetar áreas onde a maioria das culturas convencionais não são capazes de se estabelecer, também diminui a dispersão dos contaminantes, minimiza a erosão do solo e a lixiviação de seus nutrientes, além de recompor a paisagem (Caires et al., 2011).

O pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) é uma espécie pertencente à família Euphorbiaceae, que é utilizada economicamente para extração de óleo de suas sementes para produção de biodiesel e que tem sido apontada em diversos trabalhos como resistente à solos pobres (Saturnino et al., 2005) e com alta concentração de metais (Kumar et al., 2008; Mangkoedihardjo; Surahmida, 2008; Ghavri; Singh, 2010). As informações contidas nesses trabalhos dão indícios de que a espécie poderia ser utilizada com sucesso para fins de contenção ou descontaminação de áreas com elevada concentração de Cu. Todavia, ainda se faz necessário estudos que correlacionem qual a quantidade máxima do metal tolerada pela espécie, qual o principal órgão de reserva, e quanto a espécie é capaz de extrair durante seu desenvolvimento.

Nesse sentido, foi realizado um estudo em condição de cultivo protegido, com a finalidade de avaliar o desempenho de *J. curcas*, em diferentes fases do desenvolvimento, sob doses elevadas de Cu no solo a fim de poder realizar sua caracterização como espécie fitorremediadora para este metal.

MATERIAL E MÉTODOS

Tratamentos e delineamento experimental

Foram desenvolvidos três experimentos simultâneos com a espécie *J. curcas*, para analisar os efeitos do cobre nas fases de germinação, crescimento inicial (plantas jovens com 8 meses após a semeadura) e na fase adulta (plantas com dois anos e seis meses de idade) durante o ano de 2013, que simulavam contaminações periódicas por Cu no solo, em uma forma prontamente absorvível pela planta.

Os experimentos foram desenvolvidos na UNESP/ Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – Câmpus II (20° 25' 9,4" S e 51° 20' 23" W), 380 metros de altitude, em casa de vegetação tipo pad fan com 100 m², e 5 m de altura, produzida em aço galvanizado e revestida por placas de policarbonato com espessura de 1,2 cm. As temperaturas mínimas e máximas (noturna/ diurna) variaram entre 15 e 30°C durante o período experimental.

No primeiro experimento, sementes provenientes de frutos secos de *J. curcas* foram embebidas por 24 horas em solução aquosa de sulfato de cobre nas doses 0; 17,5; 35; 60; 200 e 400 mg de Cu dm⁻³ e dispostas em bandejas contendo areia lavada, onde foram mantidas por 35 dias. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados com oito blocos de 25 sementes cada.

No segundo experimento, mudas de *J. curcas* com com 30 dias após a germinação, semeadas em vermiculita, medindo cerca de 10 cm de altura e contendo de 2 a 3 folhas verdadeiras completamente expandidas foram transplantadas para sacos plásticos, com capacidade para 4Kg de solo. Vinte dias após o transplante, foram iniciados os tratamentos, os quais foram estabelecidos por meio da aplicação de sulfato de níquel ao solo nas doses totais de 0; 17,5; 35; 60; 200 e 400 mg de Cu Kg⁻¹de solo. A aplicação foi realizada em três parcelamentos mensais de maio à julho de 2013, e a dose estabelecida em cada tratamento após pesagem, foi diluída em um litro de água a fim de facilitar a aplicação e a homogeneização ao solo de cultivo. As plantas foram mantidas até o mês de dezembro neste solo. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com 10 repetições de duas plantas.

No terceiro experimento, foram analisados os efeitos das doses 0; 17,5; 35; 60; 200 e 400 mg de Cu Kg⁻¹ de solo, sobre plantas adultas de *J. curcas* com dois anos de idade, as quais estavam em vasos contendo vermiculita. As plantas foram podadas, mantendo-se apenas dois ramos principais, com 60 cm de altura e transplantadas para vasos de com capacidade para 20 Kg contendo solo. Trinta dias após a poda, foram aplicadas as doses de cobre por meio de

sulfato de cobre, solubilizado em água após pesagem dos respectivos tratamentos. As doses foram parceladas em três vezes, com intervalos de 30 dias entre cada aplicação de maio à julho de 2013. As plantas foram mantidas até o mês de dezembro neste solo. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições de duas plantas cada.

O solo utilizado no segundo e terceiro experimentos foi um Latossolo Vermelho Distroférico, de textura franco-argilosa, coletado na camada de 0 – 20 cm de profundidade com as seguintes características químicas: P-resina 92,7 mg dm⁻³; matéria orgânica 6,5 g dm⁻³; pH (CaCl₂) 5,2; K 0,38 mmol_cdm⁻³; Ca 40,8 mmol_cdm⁻³; Mg 4,8 mmol_cdm⁻³; H+Al 18,54 mmol_cdm⁻³; Al 0,47 mmol_cdm⁻³; Cu 0,7 mg dm⁻³; Fe 12,5 mg dm⁻³; Mn 10,5 mg dm⁻³; Zn 1,7mg dm⁻³ e Ni 0,01 mg dm⁻³, ao qual foi adicionado 295,5 g m⁻³ de calcário dolomítico PRNT 90%, e após 30 dias de incubação, foi adicionado 830 g m⁻³ de super fosfato simples, e 650 g m⁻³ de cloreto de potássio.

Análise dos parâmetros de crescimento

No primeiro experimento a germinação foi analisada diariamente entre o 5° e 35° dia após a semeadura, considerando como germinadas, plântulas cujo epicótilo emergiu acima do nível do substrato. Ao final dos 35 dias foi calculada a porcentagem de germinação e o índice de velocidade de emergência (IVE) através da fórmula: $IVE = E1/N1 + E2/N2 + \dots + En/Nn$. Onde: E1, E2,... En corresponde ao número de plântulas emergidas na primeira contagem, na segunda contagem e assim sucessivamente até a última contagem, e N1, N2,... Nn refere-se ao número de dias após a semeadura à primeira, segunda e última contagem (Maguire, 1962). As plântulas foram coletadas, lavadas em água corrente, e aferidas quanto à altura e a massa seca das plântulas.

No segundo experimento, após oito meses de cultivo foram obtidos dados de altura, diâmetro em nível do solo, número de folhas completamente expandidas e índice SPAD (Minolta, modelo SPAD-502) através da média de três folhas da porção mediana da planta. Ao final do período experimental foram obtidas as massas fresca e seca das folhas, caule e raízes das plantas.

Nas plantas adultas, ao final de oito meses foram analisados o diâmetro do caule em nível do solo, o índice SPAD através da média de três folhas adultas da porção mediana da planta e as massas fresca e seca total, bem como das folhas, caule e raízes.

Para determinação das massas secas, o material vegetal coletado, foi lavado em água corrente, separado em raiz, caule e folhas, acondicionado em sacos de papel e levado à estufa com circulação forçada de ar a 70°C, até massa constante.

Análise química dos tecidos vegetais

Para análise química de Cu 250 mg do material vegetal seco e moído, passado por peneira com malha de 20 mesh, foi misturado à 6 mL de ácido nítrico perclórico (HNO₃ e HClO₄) na proporção de 2:1 (v/v), digerido em bloco digestor aberto a 210 °C por cerca de duas horas até que o material se tornasse incolor. Após resfriamento, o volume foi completado com água deionizada para 25 mL e em seguida analisado por espectrometria de absorção atômica, em equipamento da marca Varian modelo 55B, com base em uma curva analítica (Malavolta et al., 1997).

Com os dados de massa seca e teores de cobre na planta, calculou-se o acúmulo, índice de absorção e translocação para a espécie. O acúmulo (A) do Cu nas folhas, caules e raízes das plantas (mg) foi calculado pela expressão $A = (MSC, \text{ ou } MSF \text{ ou } MSR \text{ (mg)} \times \text{Concentração do elemento (mg de Cu Kg}^{-1})) / 1000$, onde MSC corresponde à massa seca dos caules; MSF à massa seca das folhas e MSR à massa seca das raízes. A quantidade total de Cu acumulada na planta foi calculada pelo somatório das quantidades acumuladas destes elementos em cada parte da planta. O índice de translocação (IT) dos elementos, dado em porcentagem, foi calculado utilizando-se a equação, $IT = (\text{Quantidade acumulada na parte aérea} / \text{Quantidade acumulada na planta}) \times 100$ (Abichequer; Bohnen, 1998). A eficiência de absorção de Cu (EAP, mg g⁻¹) foi calculada através da expressão $EAP = (\text{conteúdo total de Cu na planta, mg}) / (\text{massa seca do sistema radicular, g})$ (Swiader et al., 1994).

Análise química do solo

O solo foi seco ao ar, triturado e peneirado em malha de 2mm. Para extração do Cu, 10 g de solo foram homogeneizados em 20 mL da solução extratora pH 3,0, agitado por duas horas em mesa agitadora a 220 rpm, e filtrado em papel de filtro quantitativo faixa azul de gramatura 85 g m⁻² e 2,0 micras de porosidade. Para preparo da solução extratora 14,92 g de triethanolamina (TEA), 1,97 g de ácido dietilenotriaminopentaacético (DTPA) e 1,47 g de cloreto de cálcio (CaCl₂.2H₂O) foram homogeneizados e o volume foi completado para 1 litro

com água deionizada, ajustando-se o pH para 3,0 com ácido clorídrico (HCl) 0,1M. O filtrado foi analisado quimicamente por espectrometria de absorção atômica em equipamento da marca Varian, modelo 55B, e comparado à uma curva padrão do elemento (Raij et al., 2001).

Análise estatística dos dados

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância pelo teste F em nível de 5% de probabilidade e os resultados significativos foram analisados por meio de regressão linear e quadrática também em nível de 5% de probabilidade, a fim de se detectar as tendências de crescimento e absorção de minerais em função das doses de níquel aplicadas. Os teores de Ni aplicados foram correlacionados através da análise de correlação Pearson em nível de 5% de probabilidade, aos teores encontrados no solo e nas diferentes partes da planta ao final do período experimental (Ferreira, 2011). Os resultados cujos coeficientes de variação (CV) foram superiores a 30% foram transformados para \sqrt{x} a fim de manter a homogeneidade das variâncias e permitir a análise paramétrica dos dados (Pimentel-Gomes, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A aplicação de doses crescentes de Cu causaram redução da porcentagem e atraso da germinação, registrado através da diminuição gradual do índice de velocidade de emergência (Figura 1). Nas doses 200 e 400 mg de Cu dm⁻³ não houve germinação, não sendo possível obter plantas para realizar as medidas de altura e massa de plântulas. Assim, a análise de regressão da altura e da massa média de plântulas foi calculada com a dose máxima de 60 mg de Cu dm⁻³ (Figura 1). Moccifora e Bellani (2013) relataram que doses de cobre acima de 0,3177 mg dm⁻³ (5×10^{-3} M) bloqueiam a mobilização de proteínas e inibem a síntese de novas enzimas nos cotilédones de *Vicia sativa* L. reduzindo a divisão celular e impossibilitando a emissão da radícula, e portanto da germinação, semelhante ao encontrado neste estudo. Além de reduzir a divisão celular, o cobre em excesso inibe a atividade das enzimas α -amilase e invertase, afetando, dessa forma a mobilização de reservas nutritivas e a absorção de água nos tecidos (Sethy; Ghosh, 2013). Em *Vigna radiata* L. 63,5 mg dm⁻³ (1000 μ M) não alteram a germinação, mas reduziram a altura das plântulas, uma vez que houve diminuição da divisão celular causando efeitos clastogênicos e aneugênicos (Verma et al., 2011). Em trigo, doses a partir de 5 mg dm⁻³ causaram redução da germinação e do comprimento da radícula (Singh et al., 2007).

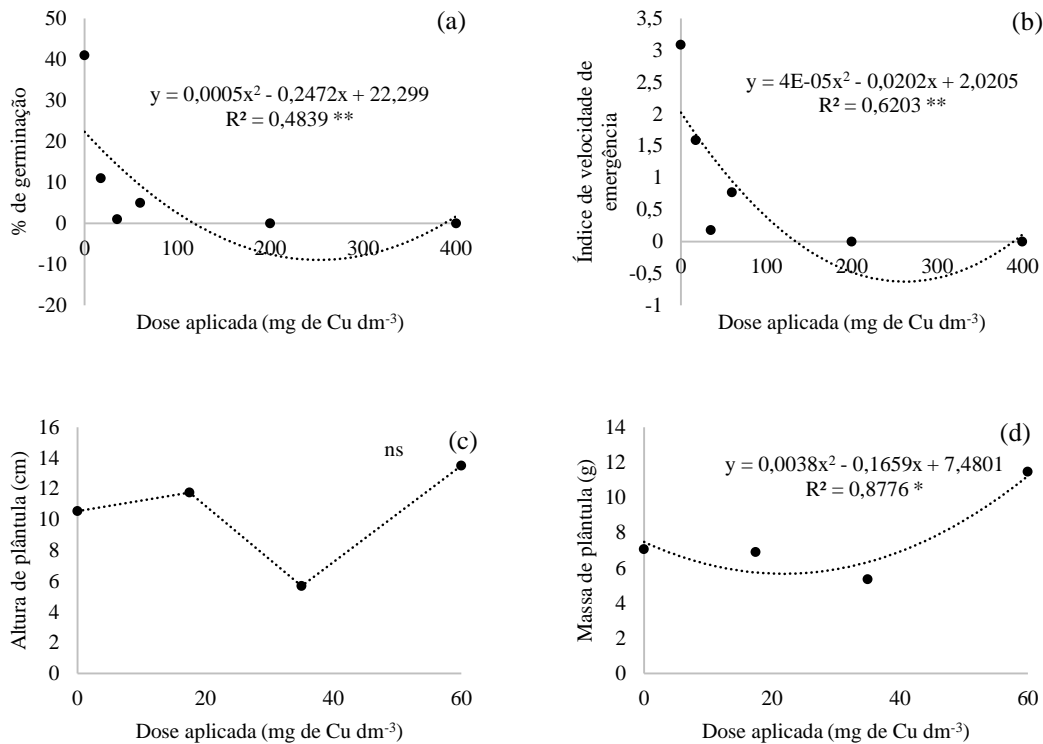


Figura 1 – Porcentagem de germinação (a), índice de velocidade de emergência (b), altura média (c) e massa seca (d) de plântulas de *Jatropha curcas* L. em função de doses crescentes de cobre. *indica equações de regressão significativas a $p \leq 0,05$ e ** $p \leq 0,01$.

A altura das plântulas não foi influenciada pelos tratamentos realizados, entretanto a massa das plântulas aumentou gradualmente em função da aplicação de cobre (Figura 1). Por ser um metal de alta densidade, é possível que a maior absorção e acúmulo de cobre nas plântulas dos tratamentos de doses mais elevadas tenham influenciado no aumento da massa observada.

Os teores totais de cobre encontrados no solo, após a colheita das plantas jovens, correspondentes aos tratamentos 0, 17,5; 35,0; 60,0 e 200,0 mg de Cu Kg⁻¹ foram, respectivamente, 1,02; 1,14; 2,70; 3,82 e 81,14 mg de Cu Kg⁻¹. No solo onde foram cultivadas as plantas adultas, os teores totais finais correspondentes aos tratamentos 0, 17,5; 35,0; 60,0; 200,0 e 400,0 mg de Cu Kg⁻¹ foram 0,46; 5,03; 6,60; 18,62; 21,56 e 296,56 mg de Cu Kg⁻¹ (Figura 2). De acordo com a legislação utilizada pela Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo – CETESB, que adota como referência de qualidade dos solos no Estado o valor de 35 mg de Cu Kg⁻¹, dois dos teores encontrados são considerados perigosos ao meio ambiente, pois além de ultrapassarem o valor de referência de qualidade,

encontram-se também acima do valor de prevenção, que é de 60 mg Kg^{-1} . Teores de cobre acima valor de prevenção diminuem a qualidade e restringem as funções do solo e por isso, medidas de contenção do metal poluente devem ser tomadas com monitoramento constante da área (São Paulo; Cetesb 2014).

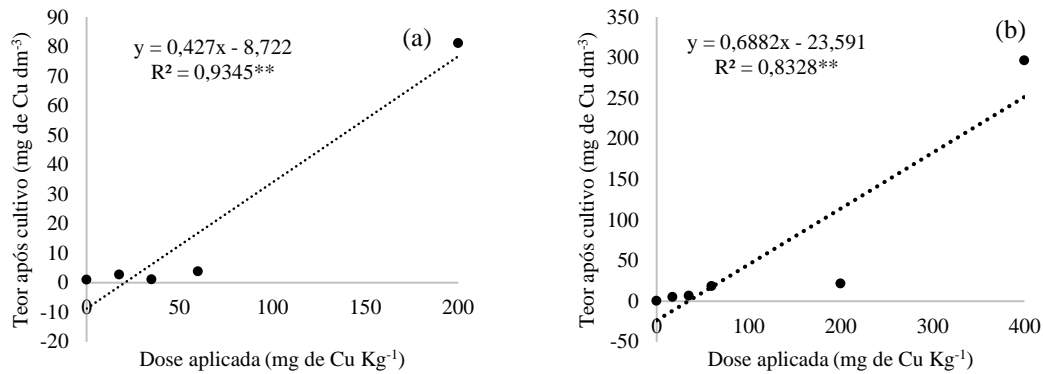


Figura 2 – Teores de cobre no solo após 8 meses de cultivo de plantas jovens, com oito meses após a germinação (a) e adultas, com dois anos e seis meses após a germinação (b) de *Jatropha curcas* L. em função da aplicação de doses de cobre. **indica equações de regressão significativas a $p \leq 0,01$.

A aplicação do segundo parcelamento da dose $400 \text{ mg de Cu Kg}^{-1}$ causou a morte de 90% das plantas jovens. Por esse motivo, a análise estatística dos dados deu-se até a dose máxima de $200 \text{ mg de Cu Kg}^{-1}$. Além da alta mortalidade, nas plantas jovens, os sintomas visuais de toxidez por cobre puderam ser visualizados 15 dias após a aplicação da segunda parcela dos tratamentos de 200 e $400 \text{ mg de Cu Kg}^{-1}$. No experimento realizado com plantas adultas não ocorreu mortalidade, mesmo no tratamento de maior dose. Entretanto, 15 dias após a aplicação do terceiro parcelamento das doses de 200 e $400 \text{ mg de Cu Kg}^{-1}$ foram visualizados sintomas de toxidez típicos causados pelo cobre que incluíram queda acentuada de folhas, encarquilhamento, necrose do limbo foliar e formação apical de roseta (Figura 3). Alguns autores relatam sintomas de toxidez por cobre, que não foram observados no presente trabalho, que incluem clorose internerval, causada pela deficiência induzida por ferro; engrossamento, menor desenvolvimento e oxidação das raízes (Soares et al., 2000; Verma et al., 2011; Silva et al., 2013). Chaves et al. (2010) não visualizaram qualquer sintoma de toxidez por cobre em pinhão-manso até os 110 dias após a semeadura em plantas cultivadas em neossolo quartzarênico, com doses de até $100 \text{ mg de Cu Kg}^{-1}$, o que certamente é um reflexo dos baixos teores foliares relatos pelo autor. Por outro lado, há espécies muito sensíveis ao cobre como *Eucalyptus urophylla* e *Eucalyptus maculata* começam a exibir sintomas de fitotoxidez a partir de $2,33 \text{ mg de Cu Kg}^{-1}$ (Soares et al., 2000).

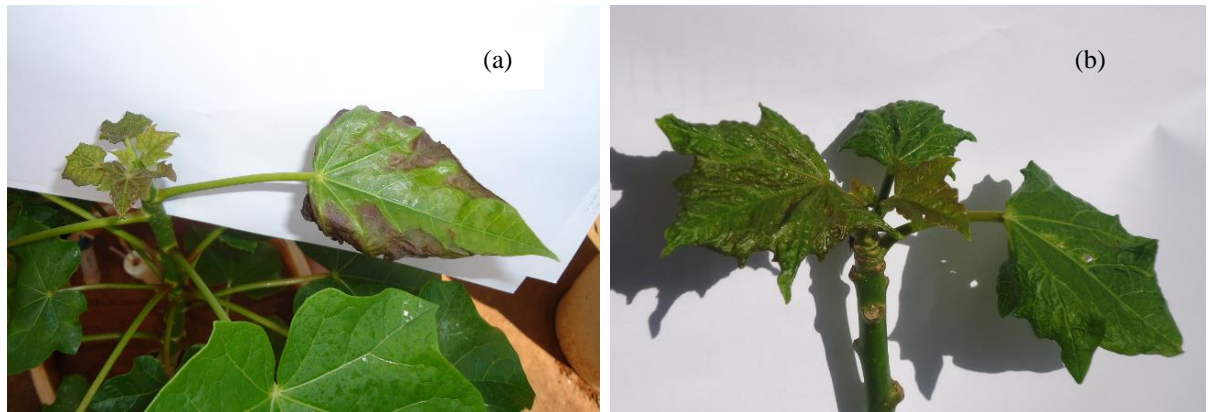


Figura 3 – Aspecto geral de folhas de plantas adultas de *Jatropha curcas* L. com sintomas de toxidez por cobre nas doses de 200 mg de Cu Kg⁻¹ (a) e 400 mg de Cu Kg⁻¹ (b). Observar aspecto necrótico em (a) e encarquilhamento e ápice em roseta em (b).

A aplicação de cobre reduziu linearmente o número e a massa fresca de folhas, bem como a massa fresca total das plantas jovens, uma vez que trata-se de um parâmetro interligado à massa fresca foliar. Comparativamente ao tratamento controle (0 mg de Cu Kg⁻¹), a queda de folhas na dose de 200 mg de Cu Kg⁻¹ foi de 30%, e a massa fresca foi diminuída em 43,57%. Os parâmetros de altura, diâmetro, índice SPAD, massa fresca e seca do caule e das raízes e a massa seca total não foram alteradas pelos tratamentos efetuados (Tabela 1). Chaves et al. (2010) também verificaram que a aplicação de cobre até 100 mg de Cu Kg⁻¹, não causou alterações na altura do pinhão-manso, mas houve redução no diâmetro, na área foliar, e nas massas secas de folhas, caules e raízes.

Assim como nas plantas jovens, também as massas fresca e seca foliar das plantas adultas foram reduzidas em função da aplicação de Cu. A queda acentuada de folhas nos tratamentos com doses mais altas de cobre contribuiu para este resultado (Tabela 2). A redução das massas foliares também é explicada pela diminuição da área foliar nos tratamentos de dose mais elevada, conforme relatado por Chaves et al. (2010). Nas plantas adultas, a massa fresca foliar na dose de 400 mg de Cu Kg⁻¹ foi 54,37% menor que a massa do tratamento controle.

Tabela 1 – Médias de altura, diâmetro, número de folhas, índice SPAD e massas fresca e seca nas diferentes partes de plantas jovens de *Jatropha curcas* L., após oito meses de cultivo sob a aplicação de doses crescentes de cobre.

Dose aplicada (mg Kg ⁻¹)	Altura (cm)	Diâmetro (mm)	Nº de Folhas	Índice SPAD	Massa fresca				Massa seca			
					Folhas	Caul e	Raízes	Total	Folhas	Caul e	Raízes	Total
0	56,75	21,05	19,6	35,29	63,89	87,0	34,45	185,4	7,89	17,2	9,81	34,89
17,5	52,40	20	19,7	35,22	57,31	81,5	32,86	171,7	10,06	18,5	7,55	36,11
35,0	55,90	18	16,3	34,66	46,46	68,7	21,14	136,3	9,09	16,7	6,44	32,29
60,0	56,85	19,5	18,1	36,59	56,01	79,4	34,42	169,9	9,59	18,1	7,94	35,69
200,0	39,00	16,6	13,8	30,93	36,08	58,8	28,38	123,3	7,07	12,1	7,2	26,37
CV (%)	21,35 ₁	20,28	23,75	14,73	17,78 ₁	19,0 _{0¹}	23,12 ₁	17,29 ₁	18,93 ₁	22,0 _{7¹}	23,62 ₁	18,7 _{0¹}
Valor de F para dose	2,31 ^{ns}	2,05 ^{ns}	3,58*	1,77 ^{ns}	3,81*	1,95 ^{ns}	2,13 ⁿ	2,73*	1,48 ^{ns}	1,51 ⁿ	1,17 ⁿ	1,14 ⁿ
Regressão linear	7,74*	5,97*	11,32*	5,12*	11,6*	5,79*	0,41 ⁿ	6,61*	2,31 ^{ns}	4,99*	0,74 ⁿ	3,67 ⁿ
Regressão quadrática	0,90 ^{ns}	0,33 ^{ns}	0,17 ^{ns}	1,27 ^{ns}	0,22 ^{ns}	0,12 ⁿ	0,27 ⁿ	0,22 ⁿ	2,05 ^{ns}	0,61 ⁿ	1,28 ⁿ	0,22 ⁿ

¹Valor transformado para \sqrt{x} . * e ** indicam valores de F significativos a $p < 0,005$ e $p < 0,001$ e ^{ns} indica valores não significativos pelo Teste F $p < 0,005$.

Tabela 2 – Médias de massa fresca (MF) e seca (MS) total e das diferentes partes de plantas adultas de *Jatropha curcas* L. após oito meses de cultivo sob a aplicação de doses crescentes de cobre. Ilha Solteira – SP, 2013.

Dose (mg Kg ⁻¹)	Massa Fresca				Massa seca			
	Folhas	Caul	Raízes	Total	Folhas	Caul	Raízes	Total
0	202,81	695,12	603,18	1428,06	65,49	218,07	187,35	470,91
17,5	193,80	708,93	569,54	1426,81	71,29	200,28	195,17	466,74
35,0	203,79	739,87	458,6	1317,65	67,71	212,28	124,09	404,08
60,0	201,41	631,8	474,98	1212,02	66,22	182,41	145,29	393,92
200,0	174,66	733,14	547,14	1429,2	69,52	232,98	170,07	472,58
400	92,53	461,13	390,36	922,75	34,64	129	126,04	289,68
CV (%)	26,37	23,84	22,83	22,43	22,11	27,71	22,27 ¹	23,94
Valor de F para dose	4,26**	2,24 ^{ns}	2,37 ^{ns}	2,38 ^{ns}	4,99**	2,31 ^{ns}	1,53 ^{ns}	2,56 ^{ns}
Regressão linear	19,71**	6,86*	5,29*	7,14*	18,25**	5,33*	2,36 ^{ns}	6,78*
Regressão quadrática	1,4 ^{ns}	2,40 ^{ns}	0,22 ^{ns}	1,61 ^{ns}	5,80*	3,3 ^{ns}	0,008 ^{ns}	1,81 ^{ns}

¹Valor transformado para \sqrt{x} . * e ** indicam valores de F significativos a $p < 0,005$ e $p < 0,001$ e ^{ns} indica valores não significativos pelo Teste F $p < 0,005$.

Observando-se os dados de crescimento na germinação (Figura 1), crescimento inicial (planta jovem) (Tabela 1) e fase adulta (Tabela 2), vê-se que o pinhão-manso é mais sensível à presença de cobre quanto mais jovens são os tecidos. Tecidos jovens e em pleno desenvolvimento vegetativo, apresentam maior eficiência de absorção e translocação do cobre

conforme observados através das comparações dos valores médios desses índices nas plantas jovens e adultas de pinhão-manso. Comparando-se os valores obtidos para a eficiência de absorção e para o índice de translocação na dose de 200 mg de Cu Kg⁻¹ tem-se 171,53 mg g⁻¹ e 39,85% nas plantas jovens, e apenas 35,95 mg g⁻¹ e 7,92 % nas plantas adultas (Figura 4). Dessa forma, os maiores teores de cobre encontrados na parte aérea, causam danos às membranas celulares, principalmente aos tecidos mais jovens, induzidos pelo aumento das espécies reativas de oxigênio (Sethy; Ghosh, 2013). De acordo com Singh (2005), os metais pesados exercem efeitos diferentes em fases distintas do desenvolvimento vegetal. Nas plantas jovens, devido ao maior investimento em crescimento vegetativo, há uma maior transferência de cobre no sistema solo-plantas, o que conseqüentemente acarretaria em níveis mais elevados do metal nas folhas causando toxidez e impedindo a expansão celular dos tecidos em desenvolvimento proporcionando atraso no desenvolvimento vegetal, e dependendo da dose, causando sua morte (Singh, 2005; Bouazizi et al., 2010), assim como constatado no presente trabalho.

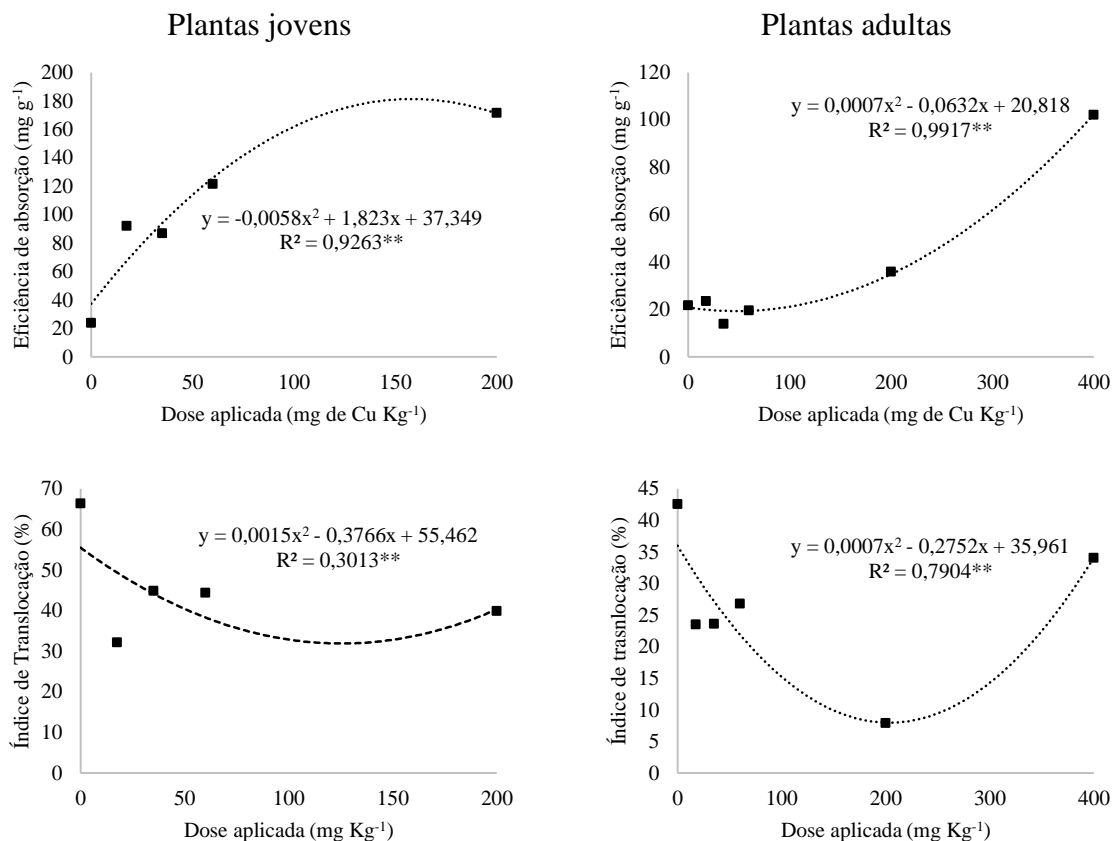


Figura 4 – Absorção e translocação de cobre em plantas jovens e adultas de *Jatropha curcas* L. em função da aplicação de cobre no solo. **indica equações de regressão significativas a $p \leq 0,01$.

Os teores de cobre encontrados nas folhas, caule e raízes de plantas jovens aumentaram em função das maiores doses de cobre aplicadas. Nas plantas adultas, a aplicação de cobre aumentou os teores no caule e nas raízes, mas não causou alteração nos teores foliares (Figura 5), devido à baixa translocação destas plantas. Tendências de aumento com mesmo comportamento nos teores nas diferentes partes na mesma espécie foram relatados também por Chaves et al. (2010), bem como em outras espécies como o cedro rosa (*Cedrella fissilis* Vell.) (Caires et al., 2011) e *Eucalyptus urophylla* e *Eucalyptus maculata* (Soares et al., 2000).

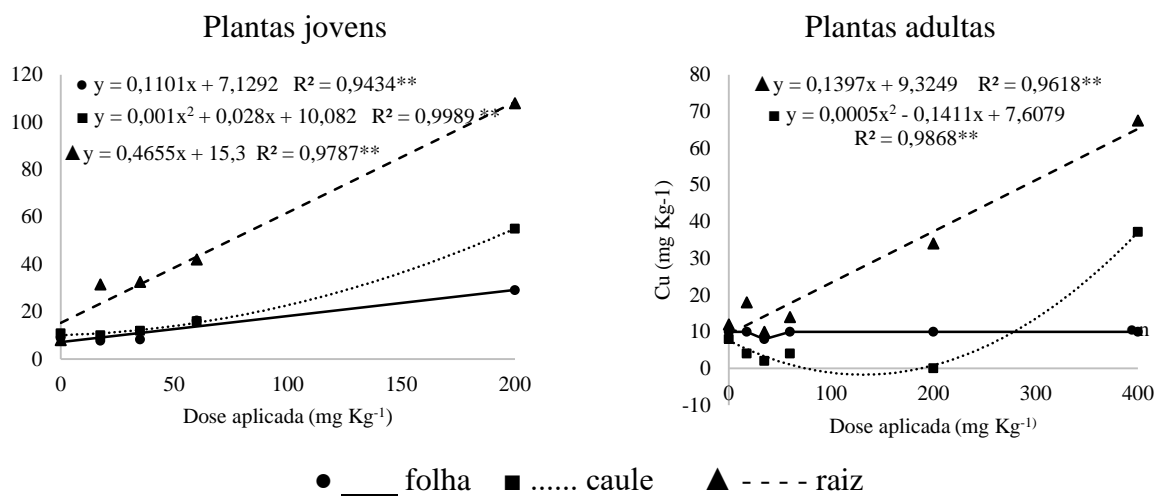


Figura 5 – Teor de cobre em plantas jovens e adultas de *Jatropha curcas* L. em função de doses de cobre aplicadas. **indica equações de regressão significativas a $p \leq 0,01$.

Somando-se os teores encontrados nas folhas e caule, em cada um dos tratamentos, tem-se os teores de 12,34; 14,58; 16,16; 26,18 e 44,16 mg de Cu Kg⁻¹ na parte aérea das plantas jovens e 18,00; 14,00; 10,00; 14,00; 10,00 e 47,50 mg de Cu Kg⁻¹ nas plantas adultas. Teores na matéria seca da parte aérea entre 20 e 100 mg de Cu Kg⁻¹ são considerados tóxicos para um grande número de espécies vegetais (Kabata-Pendias; Pendias, 1985) e confirmam os sintomas visuais de toxidez descritos no presente trabalho, demonstrando que o pinhão-mansão não é uma planta tolerante ao cobre.

Os maiores teores de cobre, bem como o maior acúmulo deste elemento deu-se nas raízes, seguido do caule e das folhas (Figura 6). Este resultado contrasta com a prioridade do órgão de acúmulo descrita por Chaves et al. (2010) que apesar de verificarem maiores teores de cobre nas raízes, registraram os acúmulos em relação aos órgãos com a seguinte ordem de prioridade: folha > raiz > caule. O maior acúmulo de cobre nas raízes, em detrimento às partes

aéreas é um mecanismo de tolerância desenvolvido pelas plantas para reduzir os efeitos de estresse causado pelos metais pesados (Yureki; Porgali, 2006). Além disso, Kabata-Pendias e Pendias (1992) ressaltam que o cobre não é um elemento prontamente móvel na planta, permanecendo fortemente ligado às paredes celulares das raízes. Essa forte ligação nas raízes, reduz a mobilidade desse elemento, mesmo com um nível alto de cobre no solo, e assim como no presente estudo, comportamento de translocação semelhante foi verificado na mesma espécie por Chaves et al. (2010).

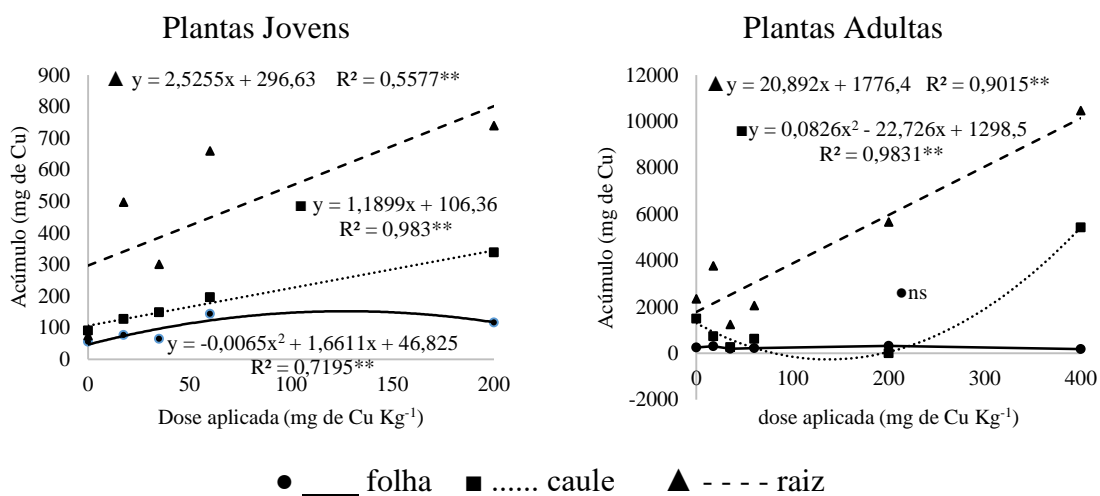


Figura 6 – Acúmulo total de cobre em folhas, caule e raízes de plantas jovens e adultas de *Jatropha curcas* L., após oito meses de cultivo em Latossolo contaminado por cobre. ******indica equações de regressão significativas a $p \leq 0,01$.

A retenção de cobre no sistema radicular, e o aumento de sua concentração em função da aplicação de doses externas no sistema radicular, também foi relatado em outras espécies como feijoeiro (Bouazizi et al., 2010), couve-flor (Chatterjee; Chatterjee, 2000) e *Brassica pekinensis* (Xiong et al., 2006). A retenção do elemento tóxico nas raízes, agregado ao rápido desenvolvimento vegetativo, e aumento nos teores em função das maiores concentrações no solo são características desejáveis a uma espécie fitoestabilizadora (Caires et al., 2011) e foram observadas no presente trabalho em plantas jovens e adultas de pinhão-manso. Todavia, os teores máximos encontrados nas raízes foram 107,88 e 67,50 mg Kg⁻¹, em plantas jovens e adultas, respectivamente, valores esses até 15 vezes inferior aos relatados em cedro-rosa (Caires et al., 2011), e cerca de três vezes inferior aos relatados em timbaúva (*Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong) e pata-de-vaca (*Bauhinia forficata* Link) (Silva et al., 2015)

as quais são espécies com potencial para fins de fitoestabilização. Nesse sentido, e considerando-se os sintomas de toxidez observados, o pinhão-manso, não é uma espécie indicada para revegetar áreas com alta concentração de cobre no solo.

CONCLUSÃO

O pinhão-manso é mais sensível ao cobre quanto mais jovens são os tecidos devido à maior absorção e translocação do cobre para a parte aérea. Doses a partir de 17,5 mg de Cu Kg⁻¹ reduzem a germinação, 100 mg de Cu Kg⁻¹ apresentam sintomas foliares de toxidez em folhas jovens e a partir de 200 mg de Cu Kg⁻¹ os sintomas são observados em plantas adultas. O cobre é acumulado prioritariamente nas raízes, seguido do caule e das folhas, e a adição externa de cobre reduz o índice de translocação deste elemento. Devido aos baixos teores acumulados nos tecidos, o pinhão-manso não é uma espécie indicada para fins de fitorremediação em Latossolo Vermelho Distroférrico.

REFERÊNCIAS

- ABICHEQUER, A. D.; BOHNEN, H. Eficiência de absorção, translocação e utilização de fósforo por variedades de trigo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 22, n. 01, p. 21-26, 1998.
- ALAOU-SOSSÉ, B.; GENET, P.; VINIT-DUNAND, F.; TOUSSAINT, M.L.; EPRON, D.; BADOT, P.M. Effect of copper on growth in cucumber plants (*Cucumis sativus*) and its relationships with carbohydrate accumulation and changes in ion contents, **Plant Sci.**, v. 166, p. 1213–1218, 2004.
- BOUAZIZI, H.; JOUILI, H.; GEITMANN, A.; EL FERJANI, E. Copper toxicity in expanding leaves of *Phaseolus vulgaris* L.: antioxidant enzyme response and nutrient element uptake. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, n. 6, p. 1304-1308, sep. 2010.
- CAIRES, S. M.; FONTES, M. P. F.; FERNANDES, R. B. A.; NEVES, J. C. L.; FONTES, R. L. F. Development of cedro-rosa seedlings in soil contaminated by copper: tolerance and the potential for soil phytostabilization proposal. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v. 35, n. 6, p. 1181-1188, 2011.
- CHARTTERJEE, J.; CHARTTERJEE, C. Phytotoxicity of cobalt, chromium and copper in cauliflower. **Environmental Pollution**, v.109, n. 1, p. 69-74, jul. 2000.
- CHAVES, L. H. G.; MESQUITA, E. F.; ARAUJO, D. L.; FRANÇA, C. P. Growth, distribution and content of copper and zinc in *Jatropha curcas* L. plants. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 41, n. 2, p. 167-176, apr.-jun., 2010.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia (UFPA)**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

- GHAVRI, S.V.; SINGH, R.P. Phytotranslocation of Fe by biodiesel plant *Jatropha curcas* L. grown on iron rich wasteland soil. **Braz. J. Plant Physiol.**, v.22, n.4, p.235-243, 2010.
- KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. Boca Raton: cRc Press, 1985. 315p.
- KUMAR, G.P.; YADAV, S.K.; THAWALE, P.R.; SINGH, S.K.; JUWARKAR, A.A. Growth of *Jatropha curcas* on heavy metal contaminated soil amended with industrial wastes and Azotobacter – A greenhouse study. **Bioresource Technology**, n.99, p.2078–2082, 2008.
- MAGUIRE, J.D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.2, p.176-77, 1962.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. de. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2 ed. Piracicaba: Potafos, 1997. 319 p.
- MANGKOEDIHARDJO, S.; SURAHMAIDA. *Jatropha curcas* L. for phytoremediation of lead and cadmium polluted soil. **World Appl. Sci. J.**, n.4, v.4, p.519-522, 2008.
- MOCCIFORA, S.; BELLANI, L. M. Effects of copper on germination and reserve mobilization in *Vicia sativa* L. seeds. **Environmental Pollution**, v. 179, p. 68-74, aug. 2013.
- PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. Piracicaba, USP, 2000, 477 p.
- RAIJ, B.V.; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H. QUAGGIO, J.A. (Ed.). **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2001, 285 p.
- SÃO PAULO (Estado) – Companhia ambiental do Estado de São Paulo. Decisão de diretoria n 045/2014/E/C/I, de 20 de fevereiro de 2014. Disponível em:<
<http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/solo/valores-orientadores-2014.pdf>>. Acesso em: 01 mar. 2015.
- SETHY, S.K.; GHOSH, S. Effect of heavy metals on germination of seeds. **J. Nat. Sci. Biol. Med.**, v. 4, n. 2, p. 272-275, jul.-dec., 2013.
- SILVA, R. F.; ROS, C. O.; SHCEID, D. L.; GROLLI, A. L.; MARCO, R.; MISSIO, E. L. Copper translocation and tolerance in seedlings of tree species grown in contaminated soil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 19, n. 11, p. 1093-1099, 2015.
- SINGH, V. P. Metal toxicity and tolerance in plant and animals. New Delhi: Sarup ; Sons, 2005, 328 p.
- SOARES, C. R. F. S.; SIQUEIRA, J. O.; CARVALHO, J. G.; MOREIRA, F. M. S.; GRAZZIOTTI, P. H. Growth and mineral nutrition of *Eucalyptus maculata* and *Eucalyptus urophylla* in nutrient solution with increasing concentration of copper. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, n. 3, p. 213-225, 2000.
- SWIADER, J.M.; CHYAN, Y. ; FREIJI, F.G. Genotypic differences in nitrate uptake and utilization efficiency in pumpkin hybrids. **J. Plant Nutr.**, v. 17, p.1687-1699, 1994.
- WEIS, J. S.; WEIS, P. Metal uptake, transport and release by wetland plants: implications for phytoremediation and restoration. **Environment International**, v. 30, n. 5, p. 685-700, 2004.
- XIONG, Z.-T.; LI, Y.-H.; XU, B. Nutrition influence on copper accumulation by *Brassica pekinensis* Rupr. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 53, p. 200-205, 2002.

XU, J. YANG, L.; WANG, Z.; DONG, G.; HUANG, J.; WANG, Y. Toxicity of copper on rice growth and accumulation of copper in rice grain copper contaminated soil. **Chemosphere**, v. 62, p. 602-607, 2006.

YUREKI, F.; PORGALI, Z. B. The effects of excessive exposure to copper in bean plants. **Acta Biol. Cracov. Bot.**, v. 48, n. 2, p. 7-13, 2006.

CAPÍTULO 5: NUTRIÇÃO MINERAL DE PINHÃO-MANSO EM LATOSSOLO CONTAMINADO POR COBRE

Resumo - Metais pesados tal como o cobre interferem na absorção e transporte de nutrientes essenciais causando deficiências ou toxidez na composição mineral de plantas. O pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) é uma espécie com potencial para ser cultivada em áreas contaminadas por esse metal, entretanto, as interações do cobre com outros macro e micronutrientes essenciais nesta espécie ainda precisam ser estudadas. Nesse sentido, foram realizados dois experimentos adicionando-se as doses 0; 17,5; 35,0; 60,0; 200,0 e 400,0 mg de Cu Kg⁻¹ de solo, a fim de verificar os efeitos do cobre sobre a absorção e translocação de N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn e Zn em duas fases distintas do desenvolvimento da planta. *J. curcas* apresenta maior tolerância ao cobre na fase adulta devido à menor translocação do cobre para a parte aérea. A presença em excesso de Cu reduz a absorção de K. A aplicação de Cu em doses superiores a 110 mg de Cu Kg⁻¹ reduz a absorção de P e Fe, e acima de 250 mg de Cu Kg⁻¹ a diminui a translocação de N. Os teores de S, Zn e Mn foliar sofrem aumento em função da aplicação de Cu.

Palavras- chave: *Jatropha curcas* L. Interação entre nutrientes. Metal pesado.

MINERAL NUTRITION OF PHYSIC NUT IN OXISOIL CONTAMINATED BY COPPER

Abstract:

Heavy metal by copper change the absorption and translocation of essential nutrients causing deficiency or toxicity in the plant mineral composition. Physic nut (*Jatropha curcas* L.) is a specie with potential for cultivation in contaminated areas by this metal, however, the copper interactions with others macro or microelements can be studied. In this sense, two experiments were conducted adding the doses 0; 17,5; 35; 60; 200 e 400 mg Cu Kg⁻¹ of soil, in order to verify the effects of copper on the absorption and translocation of N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn and Zn in two distinct phases plant development. *J. curcas* showed more tolerance by copper in the adult phase, because lower copper translocation by shoot. The excessive presence of Cu decrease the absorption of K. The Cu application in doses greater 110 mg Kg⁻¹ decrease the P and Fe absorption, and above 250 mg Kg⁻¹ decrease the translocation of N. Foliar levels of S, Zn e Mn increased by applying Cu.

Key words: *Jatropha curcas* L. Nutrients interaction. Heavy metal.

INTRODUÇÃO

Nas plantas o cobre é um micronutriente essencial que desempenha um importante papel nos processos fisiológicos redox (Kirkby; Römheld, 2007), mas em quantidades elevadas torna-se um problema para a agricultura e para o meio ambiente, acumulando-se no sistema radicular e causando problemas de fitotoxidez para o vegetal (Yan et al., 2006).

Devido à ampla utilização do cobre na formulação de pesticidas e da aplicação de lodo de esgoto e águas residuárias na agricultura, níveis de cobre acima dos ideais têm sido relatados em áreas de solo agricultável (Xu et al., 2006). A presença em altas concentrações desse metal pode alterar a absorção de outros macro e micronutrientes essenciais ao desenvolvimento vegetal, devido às interações entre os íons presentes na solução do solo (McBride, 1989). Tais alterações, podem reduzir a produtividade, além de serem danosas à saúde humana, caso os metais pesados presentes sejam absorvidos e acumulados em culturas de uso alimentar provocando problemas hepáticos em humanos (Cetesb, 2012) e em animais (Vásquez et al., 2001). Por isso, espécies com potencial fitorremediador devem ser estudadas a fim de analisar as quantidades máximas toleradas e as inter-relações com outros minerais, em diferentes fases de seu desenvolvimento e tipo de solo.

O pinhão-mansão (*Jatropha curcas* L.) é uma espécie da família Euphorbiaceae, utilizada comercialmente para extração de óleo para produção de biodiesel, e que tem sido relatado em vários trabalhos como uma espécie com grande capacidade de crescimento em solos pobres e com alta concentração de metais (Kumar et al., 2008; Ghavri; Singh, 2010; Mangkoedihardjo; Surahmaida, 2008). Devido a essa característica, o pinhão-mansão é considerada uma espécie promissora em trabalhos cuja finalidade é o tratamento de áreas contaminados por cobre, uma vez que o metal absorvido não entraria na cadeia alimentar humana. Todavia, estudos básicos sobre fitotoxicidade desse metal, sobre essa espécie, e as interações deste metal com outros elementos essenciais, ainda precisam ser realizados, a fim de conhecer melhor os padrões de absorção, translocação e acúmulo de íons metálicos e sintomas de fitotoxidez causados pelo próprio elemento (Ahmad et al., 2011), bem como as relações de antagonismo ou sinergismo existentes entre este elemento e outros macro e micronutrientes essenciais ao desenvolvimento da espécie.

Com base no exposto, objetivou-se através deste trabalho verificar os efeitos que doses excessivas de cobre causam na absorção e translocação de macro e micronutrientes essenciais em *J. curcas*, em duas fases distintas de seu desenvolvimento.

MATERIAL E MÉTODOS

Tratamentos e delineamento experimental

Foram realizados dois experimentos simultâneos utilizando plantas jovens, 30 dias após a germinação, e adultas, com dois anos de idade, de *Jatropha curcas* L. Os dois experimentos foram realizados simultaneamente, no ano de 2013, na UNESP/ Câmpus de Ilha Solteira (20° 25' 9,4" S e 51° 20' 23" W), 380 metros de altitude, em casa de vegetação tipo pad fan com 100 m², e 5 m de altura, produzida em aço galvanizado e revestida por placas de policarbonato com espessura de 1,2 cm. As temperaturas mínimas e máximas variaram entre 15 e 30 °C durante o período experimental.

Utilizou-se um Latossolo Vermelho Distroférico, de textura franco-argilosa, coletado na camada de 0 – 20 cm de profundidade com as seguintes características químicas: P-resina 92,7 mg dm⁻³; matéria orgânica 6,5 g dm⁻³; pH (CaCl₂) 5,2; K 0,38 mmol_cdm⁻³; Ca 40,8 mmol_cdm⁻³; Mg 4,8 mmol_cdm⁻³; H+Al 18,54 mmol_cdm⁻³; Al 0,47 mmol_cdm⁻³; Cu 0,7 mg dm⁻³; Fe 12,5 mg dm⁻³; Mn 10,5 mg dm⁻³; Zn 1,7mg dm⁻³ e Ni 0,01 mg dm⁻³, ao qual foi adicionado 295,5 g m⁻³ de calcário dolomítico PRNT 90%, e após 30 dias de incubação, foi adicionado 830 g m⁻³ de super fosfato simples, e 650 g m⁻³ de cloreto de potássio.

Na implantação do primeiro experimento, mudas da espécie *J. curcas*, com 30 dias após a germinação, inicialmente semeadas em vermiculita, medindo cerca de 10 cm de altura e contendo de 2 a 3 folhas verdadeiras completamente expandidas, foram transplantadas para sacos plásticos, com capacidade para 4Kg de solo. Vinte dias após o transplante, foram iniciados os tratamentos, por meio da aplicação líquida de sulfato de cobre ao solo nas doses totais de 0; 17,5; 35; 60; 200 e 400 mg de Cu Kg⁻¹ de solo. A aplicação foi realizada em três parcelamentos mensais de maio à julho de 2013 e as plantas foram mantidas até o mês de dezembro neste solo, totalizando oito meses de tratamento. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com 10 repetições de duas plantas cada.

No segundo experimento, plantas adultas de *J. curcas* com dois anos de idade as quais estavam em vasos contendo vermiculita, foram podadas, deixando-se apenas dois ramos

principais com 60 cm de altura, e transplantadas para vasos com capacidade para 20 Kg de solo. Trinta dias após o transplante, iniciou-se a aplicação dos tratamentos nas doses totais 0; 0; 17,5; 35; 60; 200 e 400 mg de Cu Kg⁻¹ de solo. Os tratamentos foram aplicados na forma de solução de sulfato de cobre, em três parcelamentos mensais, com intervalos de 30 dias entre cada aplicação, no período de maio à julho de 2013, e as plantas foram mantidas até o mês de dezembro neste solo. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições de duas plantas cada.

Análise química dos tecidos vegetais

Ao final do período experimental, as folhas, caule e raízes das plantas jovens e adultas de *J. curcas* foram coletadas separadamente, lavadas com água destilada e secas em estufa com circulação forçada de ar a 70°C. O material seco foi então triturado em moinho tipo Wiley, passado por peneira com malha de 20 mesh.

Para digestão dos tecidos vegetais 250 mg do material vegetal triturado e finamente moído foi misturado à 6 mL de ácido nítrico-perclórico na proporção de 2:1 (v/v) e digerido em bloco digestor aberto, a 210°C, por cerca de duas horas até que o material se tornasse incolor. Após resfriamento, o volume foi completado com água deionizada para 25 mL. Esse material digerido foi utilizado para as análises de fósforo (P), enxofre (S), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn) (Malavolta et al., 1997).

A análise do P foi realizada através do ensaio colorimétrico com amarelo de vanadato. Para preparo da reação, 1 mL do extrato da digestão nítrico-perclórica foi homogeneizado a 4 mL de água destilada e 2 mL do reativo composto por parte iguais de solução de molibdato de amônio a 5% e metavanato de amônio a 0,25%. Procedeu-se então leitura em espectrofotômetro (Biospectro, modelo SP22) a 420 nm. A concentração de P nas plantas foi correlacionada com uma curva analítica padrão de dihidrogenofosfato (Malavolta et al., 1997).

A quantificação do S foi realizada pelo método de turbidimetria em espectrofotômetro (Biospectro, modelo SP22). Para a reação, 5 mL do extrato da digestão nítrico-perclórica foi misturado a 1 mL de HCl 6N e a 500 mg de cloreto de bário, homogeneizados e lido em 420 nm. Para cálculo dos teores finais, os valores obtidos foram comparados a uma curva analítica padrão (Malavolta et al., 1997).

Para análise do nitrogênio (N) 100 mg do material vegetal triturado foi misturado à 2 g de uma mistura catalisadora composta por duas partes de sulfato de sódio anidro e uma de

sulfato de sobre pentahidratado, seguida da adição de 4 mL de ácido sulfúrico (HCl) concentrado. Esta reação foi mantida a 25°C por 12 horas em capela com exaustão de gases para a primeira etapa de digestão fria e então foi finalizada sob aquecimento, em bloco digestor aberto, partindo-se da temperatura ambiente (25°C) com rampa de aquecimento de 50°C cada 30 minutos até alcançar a temperatura de 350°C. O material foi mantido sob aquecimento por cerca de 50 minutos, quando adquiriu a coloração verde clara. Após resfriamento, ao material digerido foi adicionado 15 mL de hidróxido de sódio 40% (m/v) e levado ao equipamento de destilação de nitrogênio para arraste do vapor e coleta da amônia desprendida em 15 mL de uma solução receptora indicadora até que o volume alcançado fosse de 50 mL. A solução receptora indicadora foi preparada através da mistura de 1000 mL de solução de ácido bórico 2%, 6 mL de solução etanólica de vermelho de metila (C₁₅H₁₅N₃O₂) a 0,1% e 15 mL de solução etanólica de verde de bromocresol (C₂₁H₁₄Br₄O₅S) a 0,1%. O material coletado na solução indicadora foi titulado com ácido clorídrico 0,01 mol L⁻¹ até o ponto de viragem do indicador para a cor rósea. A quantidade de N total (NT) foi calculada através da equação: $NT = [(Va - Vb) \times F \times 0,1 \times 0,014 \times 100]/P$. Onde: NT – teor de nitrogênio total na amostra, em percentagem; Va – volume da solução de ácido clorídrico gasto na titulação da amostra, em mililitros; Vb – volume da solução de ácido clorídrico gasto na titulação do branco, em mililitros; F – fator de correção para o ácido clorídrico 0,01 mol L⁻¹; P1 – massa da amostra (em gramas) (Aoac, 2000).

Os elementos K, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn e Zn foram analisados por espectrometria de absorção atômica, em equipamento um espectrômetro de absorção atômica (Varian modelo 55B), com base em uma curva analítica para cada um dos elementos (Malavolta et al., 1997).

Análise estatística dos dados

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância pelo teste F em nível de 5% de probabilidade e os resultados significativos foram analisados por meio de regressão linear e quadrática também em nível de 5% de probabilidade utilizando-se o programa de análises estatísticas Sisvar versão 5.3 (Ferreira, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As plantas jovens apresentaram maior sensibilidade à presença do cobre no solo quando comparadas às plantas adultas. No experimento com plantas jovens, houve um índice de mortalidade de 90%, uma semana após a aplicação do segundo parcelamento, na dose de 400 mg de Cu Kg⁻¹, impedindo assim, a coleta e a análise dos tecidos vegetais nesse tratamento. Dessa forma, a análise de regressão na fase jovem do desenvolvimento foi efetuada com os dados coletados até a dose de 200 mg de Cu Kg⁻¹. De acordo com Singh (2005) os metais pesados exercem efeitos diferentes em fases distintas do desenvolvimento vegetal. Nas plantas jovens, devido ao maior investimento em crescimento vegetativo, há uma maior transferência de cobre no sistema solo-planta, o que conseqüentemente acarretaria em níveis mais elevados do metal nas folhas causando toxidez e impedindo a expansão celular dos tecidos em desenvolvimento proporcionando atraso no desenvolvimento vegetal, e dependendo da dose, causando sua morte (Singh, 2005; Bouazizi et al., 2010).

Os teores de N não foram alterados em nenhum dos órgãos das plantas jovens, enquanto nas plantas adultas foi detectada alteração no teor desse elemento em todos os órgãos. O teor foliar de N ajustou-se ao modelo de regressão quadrático obtendo o teor máximo em 252,0 mg de Cu Kg⁻¹ e reduzindo a partir desta dose. O teor de N no caule ajustou-se a um modelo de regressão quadrático, com característica inversa ao ajuste obtido para o teor de N foliar. No caule, o menor teor de N foi obtido em 250,0 mg de Cu Kg⁻¹, aumentando ligeiramente após essa dose (Figura 1). Estes resultados demonstram que a partir de 250,0 mg de Cu Kg⁻¹ passa a ocorrer menor translocação de nitrogênio para as folhas, por conta da toxidez induzida pelo cobre. Uma vez que doses maiores que essas não puderam ser analisadas em plantas jovens, tais resultados não puderam ser evidenciados nesta fase de desenvolvimento. O cobre é um elemento essencial às plantas, porém em excesso, altera o metabolismo do nitrogênio reduzindo as atividades de enzimas como a redutase do nitrato (Xiong et al., 2006) glutamina e glutamato sintase (Llorens et al., 2000). Além de reduzir a atividade de enzimas importantes ao metabolismo do nitrogênio, doses excessivas de cobre também afetam o metabolismo fotossintético através da redução da síntese de clorofila (Xiong et al., 2006). Nas raízes, o teor de N aumentou linearmente em função da aplicação de Cu. Este resultado contrasta com as observações feitas em *Vitis vinifera*, na qual o aumento das doses de cobre causaram redução do teor radicular de N, sem contudo afetar os teores foliares (Llorens et al., 2000). É provável que, apesar de uma parte do N absorvido ter sido translocado para as folhas e lá metabolizado,

122,33 mg de Cu Kg⁻¹ e diminuindo os teores em doses acima dessas (Figura 1). O teor máximo de P foliar encontrado no presente experimento foi 2,3 vezes superior ao relatado por Laviola e Dias (2008) para a espécie. Nas raízes de plantas jovens, os teores de P adequaram-se à modelos de regressão quadráticos obtendo os teores mínimos deste elemento ao redor de 110,0 mg de Cu Kg⁻¹. O mesmo comportamento foi verificado no caule das plantas jovens (Figura 1). Em populações de *Rumex japonicus* Houtt, foi observado que concentrações de cobre entre 25 e 100 µM na solução nutritiva, reduzem os teores de P foliar e radicular em até cinco vezes quando comparadas ao tratamento controle (Ke et al., 2007), porém concentrações até 0,5 µM de Cu aumentam os teores em folhas, caule e raízes de couve-flor (*Brassica oleracea* L. var. Botrytis cv. Maghi) (Chatterjee; Chatterjee, 2000). Os resultados obtidos por esses autores demonstram que o teor de P em diferentes tecidos pode variar conforme a espécie, bem como da dose aplicada. Xiong et al. (2001) e Ke et al. (2007) enaltecem o papel do fósforo como redutor dos efeitos fitotóxicos causados por quantidades excessivas de metais pesados. De acordo com esses autores, o fósforo presente nas raízes age adsorvendo o íons metálicos e controlando sua translocação, impedindo que os mesmos sejam levados para órgãos mais metabolicamente ativos como as folhas. Esse importante papel do fósforo explicaria o aumento dos teores deste elemento nas raízes, à medida que as doses de Cu aplicadas foram aumentadas.

Nas raízes de plantas jovens e adultas os teores de K ajustaram-se à modelos de regressão quadráticos obtendo os menores teores em 120,0 e 210,0 mg Kg⁻¹, respectivamente. Nas folhas de plantas jovens, o ajuste de regressão quadrático demonstrou que o menor teor de K foi obtido na dose 110 mg de Cu Kg⁻¹ e mantendo-se estável após esta dose (Figura 1). Comportamento semelhante foi descrito em folhas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) (Bouazizi et al., 2010). No capim de Rhodes (*Chloris gayana* Knuth) foi verificado que a aplicação de Cu em solução nutritiva até 2,5µM causou decréscimo no teor de K da parte aérea, resultando em valores até dez vezes inferiores aos considerados ideais para a cultura (Sheldon; Menzies, 2005). No presente trabalho, todos os teores foliares encontrados estão de acordo com os relatados por Laviola e Dias (2008) para a cultura do pinhão-manso. É possível que o comportamento inicial de redução dos teores de K nas raízes seja decorrente de um efluxo do nutriente como mecanismo de tolerância inicial ao Cu, evitando sua absorção, entretanto em concentrações mais elevadas no solo, este mecanismo passa a ser ineficiente e deixa de ser realizado pela planta (Bouazizi et al., 2010).

Os teores de Ca nas raízes de plantas jovens aumentaram linearmente em função da aplicação de Cu, demonstrando um efeito sinérgico da aplicação de cobre e absorção de Ca. Nas folhas e caules os teores não foram modificados, assim como não foi detectada alteração

para este elemento nas plantas adultas (Figura 2). Esses resultados contrastam com os observados na parte aérea do capim Rhodes (Sheldon; Menzies, 2005), do feijoeiro (Bouazizi et al., 2010) e do sistema radicular de *Rumex japonicus* (Ke et al., 2007) no qual foram relatados decréscimos no teor de Ca em função do aumento das doses de cobre.

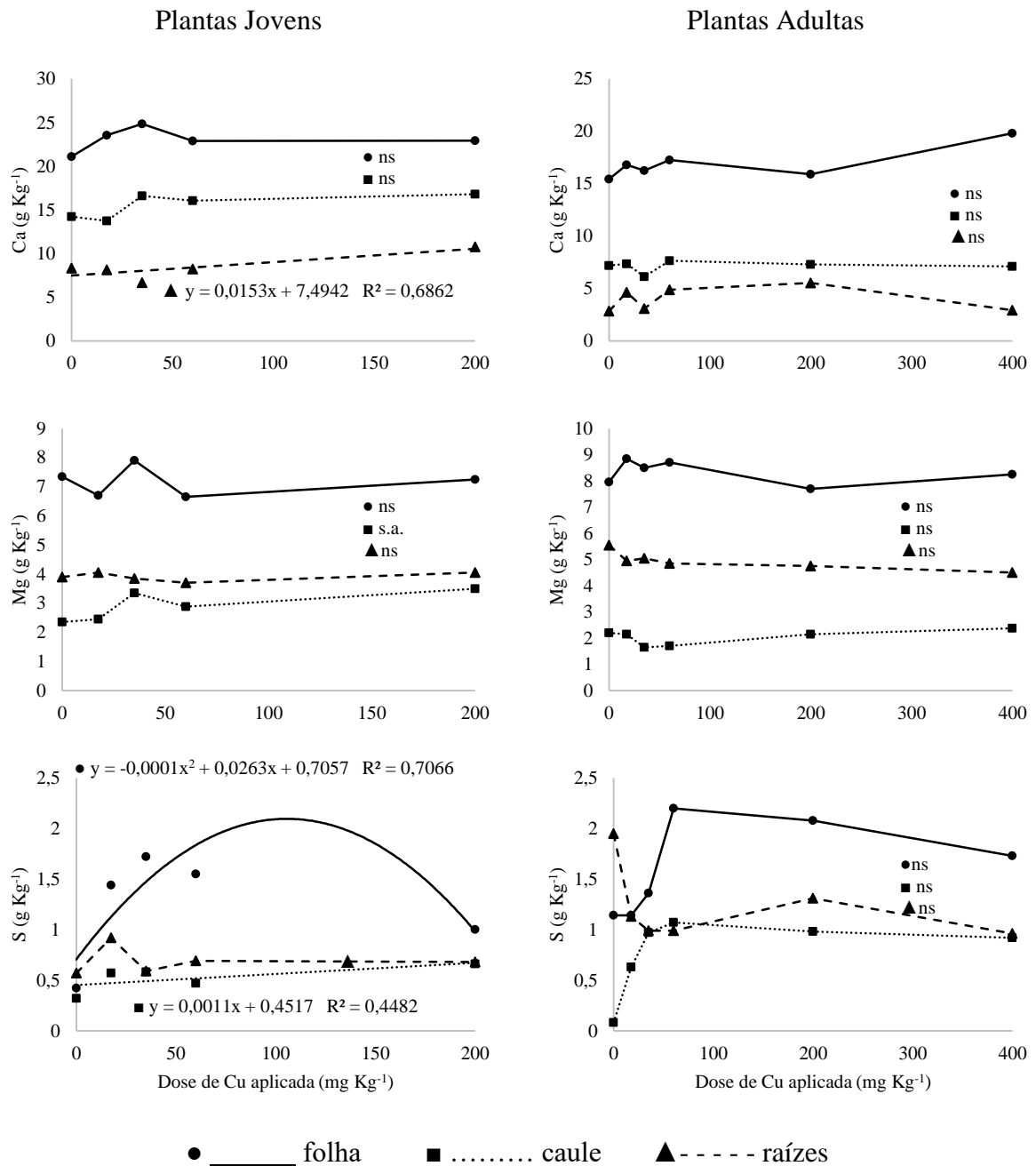


Figura 2 – Teores de Ca, Mg e S na matéria seca de folhas, caule e raízes em plantas jovens e adultas de pinhão-mansão (*Jatropha curcas* L) em resposta à aplicação de Ni. (ns: não significativo pelo teste F $p \leq 0,05$; s.a.: sem ajuste polinomial).

O teor caulinar de Mg nas plantas jovens foi alterado em função da aplicação de cobre, entretanto, nenhum dos ajustes de regressão propostos foi significativo para explicar os dados. Nas plantas adultas, as doses de Cu não interferiram no teor de Mg em nenhum dos órgãos analisados (Figura 2). Ke et al. (2007) relataram que em populações de *Rumex japonicus* tolerantes ao cobre, não houve diferença no teor de Mg da parte aérea, em relação tratamento controle, enquanto em populações não tolerantes, ocorreu uma diminuição no teor desse elemento na parte aérea, bem como no sistema radicular. De acordo com esses autores, alguns estudos mostram que alguns minerais tal como o Ca e o Mg podem ser pouco ou não afetados em espécies tolerantes, por serem mais resistentes aos danos à membrana plasmática causados pela presença excessiva do metal pesado. Considerando que *J. curcas* é uma espécie tolerante ao cobre, os resultados obtidos para os teores de Ca e Mg, são condizentes com a explicação dada por esses autores.

O teor de S caulinar nas plantas jovens aumentou linearmente em função da aplicação de cobre, enquanto o teor foliar ajustou-se ao modelo de regressão quadrático, obtendo o teor máximo em 131,5 mg de Cu Kg⁻¹. Nas plantas adultas o teor de S não foi alterado em nenhum dos órgãos analisados. Em couve-flor, o aumento da concentração de cobre na solução nutritiva causou redução no teor de S em todos os órgãos da planta (Chatterjee; Chatterjee, 2000) contrastando com os resultados obtidos no presente trabalho. Sabe-se que plantas submetidas à estresse por metais pesados aumentam a produção de fitoquelatinas (Hirata et al., 2005) compostos estes ricos em grupamentos -SH. É possível que o aumento na produção desses compostos explique o aumento dos teores de S no caule e também nas folhas até a dose citada em *J. curcas*.

O teor de Cu no sistema radicular de plantas jovens e adultas aumentaram linearmente em função da aplicação de cobre, mas, apesar do mesmo comportamento de absorção, é possível verificar que as plantas adultas são capazes de reter teores de cobre até 1,5 vezes maiores, neste órgão, quando comparadas às plantas jovens (Figura 3). A retenção de cobre no sistema radicular, assim como o aumento de sua concentração em função da aplicação de doses externas no sistema radicular, também foi relatado em outras espécies como feijoeiro (Bouazizi et al., 2010), couve-flor (Chatterjee; Chatterjee, 2000) e *Brassica pekinensis* Rupr. (Xiong et al., 2006). O maior acúmulo de cobre nas raízes, em detrimento às partes aéreas é um mecanismo de tolerância desenvolvido pelas plantas para reduzir os efeitos de estresse causado pelos metais pesados (Yureki; Porgali, 2006). No caule, o teor de Cu ajustou-se ao modelo de regressão quadrático em plantas jovens e adultas aumentando gradualmente o teor, em função da quantidade de cobre aplicada, o que demonstra certa translocação do cobre a parte aérea,

apesar da maior parte ser retida no sistema radicular. Os teores de cobre presentes nas folhas de pinhão-manso apresentaram comportamentos diferentes em plantas jovens e em plantas adultas. Enquanto nas plantas jovens os teores de cobre aumentaram linearmente em função dos tratamentos, alcançando o máximo de $29,02 \text{ mg Kg}^{-1}$, no tratamento de $200 \text{ mg de Cu Kg}^{-1}$, nas plantas adultas não foram detectadas alterações decorrentes da aplicação externa de cobre (Figura 3). O teor de cobre nas folhas jovens no tratamento de $200 \text{ mg de Cu Kg}^{-1}$ foi três vezes superior ao teor médio encontrado nas folhas adultas, e devido à maior translocação para as folhas naquela fase de desenvolvimento, as plantas jovens tornam-se mais susceptíveis à toxidez por cobre, causando sua morte, uma vez que de acordo com Laviola e Dias (2008) o teor adequado para a o teor foliar de Cu na cultura é de 10 mg Kg^{-1} , valor semelhante ao encontrado nas folhas das plantas adultas, no presente estudo.

O teor de Fe foi alterado em todos os órgãos analisados nas plantas jovens, enquanto nas plantas adultas somente redução linear do teor radicular de Fe foi observada. Nas folhas, o teor de Fe aumentou gradualmente, obtendo o teor máximo na dose de $200 \text{ mg de Cu Kg}^{-1}$. No caule, o teor de Fe ajustou-se ao modelo de regressão quadrático, decrescendo com o aumento da aplicação de Cu. Nas raízes das plantas jovens o teor de Fe ajustou-se ao modelo de regressão quadrático, obtendo o teor máximo na dose $121,87 \text{ mg de Cu Kg}^{-1}$ e reduzindo a partir desta dose (Figura 3). Em couve-flor (Charterjee; Charterjee, 2000) e em feijoeiro (Bouazizi et al., 2010) foi relatado que concentrações a partir de $0,5$ e $50 \text{ } \mu\text{M}$ de Cu, respectivamente, em solução nutritiva causaram redução na translocação do Fe para a parte aérea, mas, de acordo com Charterjee; Charterjee, 2000, a absorção pelas raízes não foi comprometida. Ke et al. (2007) verificaram que o aumento de cobre no solo reduz a absorção e o transporte de Fe pelas raízes em *Rumex japonicus*. De acordo com os dados obtidos no presente trabalho, percebe-se que a absorção e translocação de ferro nas plantas jovens e adultas difere principalmente em função da quantidade de cobre armazenada nas raízes, nas diferentes fases do desenvolvimento. Uma vez que na fase adulta, uma maior concentração de cobre é retida nas raízes, o cobre acumulado neste órgão apresenta antagonismo com o ferro, impedindo-o de ser absorvido, por outro lado, na fase jovem, uma maior parte do Cu é translocado para a parte aérea, e a concentração de cobre na raiz também é menor, assim, a planta ainda é capaz de absorver ferro até uma dose ótima, sem contudo reduzir a translocação do elemento para as folhas.

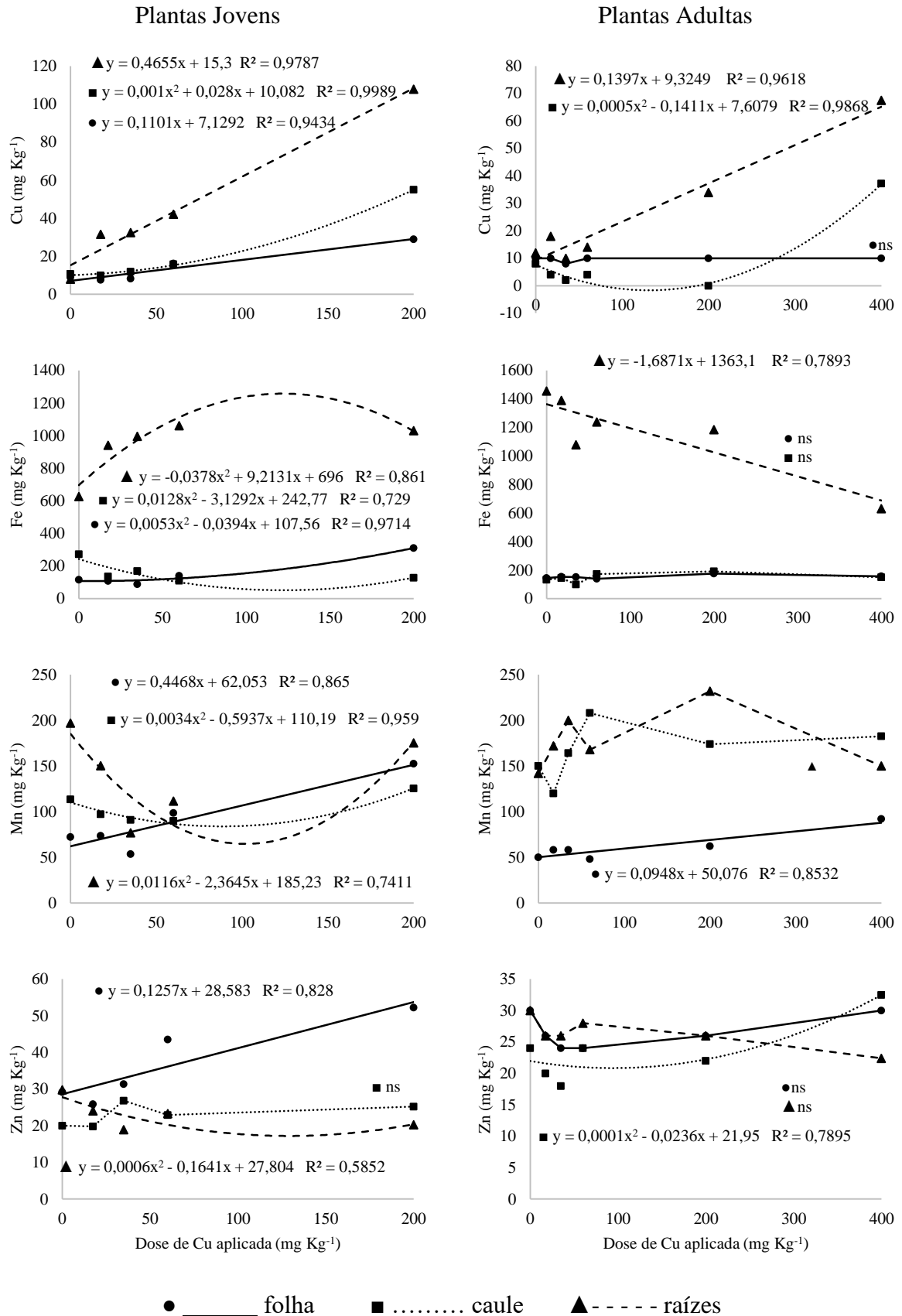


Figura 3 – Teores de Cu, Fe, Mn e Zn na matéria seca de folhas, caule e raízes em plantas jovens e adultas de pinhão-mansó (*Jatropha curcas* L) em resposta à aplicação de Ni. (ns: não significativo pelo teste F $p \leq 0,05$; s.a.: sem ajuste polinomial).

Os teores foliares de Mn e Zn nas plantas jovens aumentaram linearmente em função da aplicação de Cu. O mesmo comportamento de aumento linear também foi observado no teor foliar de Mn das plantas adultas, mas nenhuma alteração no teor foliar de Zn foi detectada nesta fase de desenvolvimento. No caule e raízes de plantas jovens o teor de Mn ajustou-se à modelos de regressão quadráticos diminuindo os teores até a dose de 100 mg Kg⁻¹ e aumentando gradulamente a partir desta dose. Nas raízes o teor de Zn ajustou-se ao modelo de regressão quadrático havendo um ligeiro decréscimo no teor de Zn em função das doses de cobre aplicadas. No caule das plantas adultas, o teor de Zn ajustou-se ao modelo de regressão quadrático, aumentando gradualmente em função da aplicação de Cu (Figura 3).

Manganês e zinco são elementos conhecidos da literatura por apresentarem uma relação de antagonismo com a absorção de cobre, uma vez que competem pelos mesmos transportadores de membrana (Xiong et al., 2001). Todavia, de acordo com os resultados dos teores foliares encontrados no presente trabalho, tal antagonismo não foi observado, contrastando inclusive com os comportamento de absorção relatado em outras espécies como *Brassica pekinensis*, em tomateiro (Xiong et al., 2001) e em feijoeiro (Bouazizi et al., 2010), nas quais houve redução dos teores foliares de Mn e Zn em função do aumento da aplicação de cobre. A resposta de tecidos maduros e tolerantes ao excesso de cobre inclui mudanças metabólicas que indicam a ativação de um mecanismo de defesa contra as espécies reativas de oxigênio liberadas pela presença excessiva de metais pesados. A enzima superóxido dismuase (SOD) pode apresentar-se em três diferentes isoformas, CuZn-SOD, Mn-SOD e Fe-SOD (Bouazizi et al., 2010), a possibilidade da maior atividade dessas enzimas poderia explicar a elevação dos teores de Mn e Zn encontrados no tecido foliar do presente trabalho.

CONCLUSÃO

A presença excessiva de cobre no latossolo de cultivo do pinhão-mansinho causa efeitos diferenciados na absorção ou transporte de N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn e Zn, elementos essenciais ao desenvolvimento da espécie. Na fase jovem, o cobre é translocado com maior facilidade para a parte aérea, causando sintomas de fitotoxidez e morte das plantas em uma dose equivalente à metade daquela tolerada pela planta quando na fase adulta. Devido à maior sensibilidade nessa fase, as plantas jovens apresentaram alteração em todos os elementos analisados à exceção do N o qual a translocação começa a ser diminuída em doses acima de

250 mg de Cu Kg⁻¹. Na fase adulta somente os elementos K, Cu, Fe, Mn e N tiveram seus teores influenciados pela aplicação de cobre. Os elementos Ca, Zn, Mn e S tiveram os teores foliares aumentados em função da aplicação de Cu, enquanto o K teve redução dos teores. A absorção de Fe está correlacionada negativamente com o acúmulo de cobre pelas raízes, e sua translocação é aumentada em folhas jovens proporcionalmente à maior translocação de cobre que ocorre na planta jovem.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, M.S.; ASHRAF, M. HUSSAIN, M. Phytotoxic effects of nickel on yield and concentration of macro- and micro-nutrients in sunflower (*Helianthus annuus* L.) achenes. **Journal of Harzadous Materials**, v. 185, n. 2-3, p. 1295-1303, jan. 2011.
- Association of Official Analytical Chemists - AOAC. **Official methods of analysis of AOAC international**. 17 ed. Gaithersburg: AOAC International, 2000.
- BOUAZIZI, H.; JOULI, H.; GEITMANN, A.; EL FERJANI, E. Copper toxicity in expanding leaves of *Phaseolus vulgaris* L.: antioxidant enzyme response and nutrient element uptake. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, n. 6, p. 1304-1308, sep. 2010.
- CHARTTERJEE, J.; CHARTTERJEE, C. Phytotoxicity of cobalt, chromium and copper in cauliflower. **Environmental Pollution**, v.109, n. 1, p. 69-74, jul. 2000.
- Companhia de tecnologia de saneamento ambiental - CETESB, 2012 a. Divisão de toxicologia, genotoxicidade e microbiologia ambiental. Ficha de informação toxicológica – Cobre. 2012. Disponível em:<
<http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/laboratorios/fit/cobre.pdf>>. Acesso em: 01 mai. 2015.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e agrotecnologia (UFLA)**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- GHAVRI, S.V.; SINGH, R.P. Phytotranslocation of Fe by biodiesel plant *Jatropha curcas* L. grown on iron rich waste land soil. **Braz. J. Plant Physiol.**, v. 22, n. 4, p.235-243, 2010.
- HIRATA, K.; TSULI, N.; MIYAMOTO, K. Biosynthetic regulation of phytochelatins, heavy metal-binding peptides. **J. Biosci. Bioenerg.**, v. 100, n. 6, p. 593-599, dec. 2006.
- KE, W.; XIONG, Z.-T.; CHEN, S.; CHEN, J. Effects of copper and mineral nutrition on growth, copper accumulation and mineral element uptake in two *Rumex japonicus* populations from a copper mine and an uncontaminated field sites. **Environmental and Experimental Botany**, v. 59, n. 7, p. 59-67, jan. 2007.
- KIRKBY, E.A.; RÖMHELD, V. Micronutrientes na fisiologia de plantas: funções, absorção e mobilidade. **Encarte do informações agronômicas**, n. 118, p. 1-24, jun., 2007.
- KUMAR, G.P.; YADAV, S.K.; THAWALE, P.R.; SINGH, S.K.; JUWARKAR, A.A. Growth of *Jatropha curcas* on heavy metal contaminated soil amended with industrial wastes and Azotobacter – A greenhouse study. **Bioresource Technology**, n. 99, p. 2078–2082, 2008.
- LAVIOLA, B.G.; DIAS, L.A.S. Teor e acúmulo de nutrientes em folhas e frutos de pinhão manso. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 5, p. 1969-1975, 2008.

- LLORENS, N.; AROLA, L.; BLADÉ, C.; MAS, A. Effects of copper exposure upon nitrogen metabolism in tissue cultured *Vitis vinifera*. **Plant Science**, v.160, n. 1, p. 159-163, dc. 2000.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. de. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2 ed. Piracicaba: Potafos, 1997. 319 p.
- MANGKOEDIHARDJO, S.; SURAHMAIDA. *Jatropha curcas* L. for phytoremediation of lead and cadmium polluted soil. **World Appl. Sci. J.**, n. 4, v. 4, p. 519-522, 2008.
- MCBRIDE, M.B. Reactions controlling heavy metal solubility in soils. In: STEWART, B. A. **Advances in soil science**. v. 10. New York: Springer New York, p. 1-56.
- SINGH, V. P. Metal toxicity and tolerance in plant and animals. New Delhi: Sarup & Sons, 2005, 328 p.
- VÁSQUEZ, E.F.A.; HERRERA, A.P.N.; SANTIAGO, G.S. Copper, molybdenum and sulphur interaction in ruminant nutrition. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 6, dec., 2001.
- XIONG, Z.-T.; LIU, C.; GENG, B. Phytotoxic effects of copper on nitrogen metabolism and plant growth in *Brassica pekinensis* Rupr. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 64, p. 273-280, 2006.
- XIONG, Z.-T.; LI, Y.-H.; XU, B. Nutrition influence on copper accumulation by *Brassica pekinensis* Rupr. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 53, p. 200-205, 2002.
- XU, J. YANG, L.; WANG, Z.; DONG, G.; HUANG, J.; WANG, Y. Toxicity of copper on rice growth and accumulation of copper in rice grain copper contaminated soil. **Chemosphere**, v. 62, p. 602-607, 2006.
- YAN, Y.; HE, J.; ZHU, C.; CHEN, C.; PAN, X.; SUM, Z. Accumulation of copper in brown rice and effect of copper on rice growth and grain yield in different rice cultivars. **Chemosphere**, v. 65, n. 10, p. 1690-1696, dec. 2006.
- YUREKI, F.; PORGALI, Z. B. The effects of excessive exposure to copper in bean plants. **Acta Biol. Cracov. Bot.**, v. 48, n. 2, p. 7-13, 2006.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) não é uma planta fitoextratora, nem hiperacumuladora para os metais níquel e cobre, não sendo indicada para uso em programas de fitorremediação de cobre, mas poderia ser utilizada para revegetar áreas em processo final de descontaminação por níquel. Quanto mais jovens os tecidos em desenvolvimento maiores são os efeitos da toxidez causados pelo cobre. A presença de níquel até 100 mg Kg^{-1} não causou sintomas de fitotoxidez na planta, mas reduziu a absorção de alguns nutrientes como o Mg, Cu e Z. A redução dos teores normais destes elementos poderia afetar o florescimento, frutificação e produção de óleo. Uma vez que estas fases do desenvolvimento não foram analisadas no presente estudo, recomenda-se que trabalhos com maior duração para analisar os efeitos do níquel por períodos mais longos sejam realizados.