



**MATEUS MOREIRA ENGELHARDT**

**FITOTOXICIDADE DO NITRATO DE COBRE EM CULTURAS  
AGRÍCOLAS CULTIVADAS EM LATOSSOLOS**

**LAVRAS-MG**

**2018**

**MATEUS MOREIRA ENGELHARDT**

**FITOTOXIDEZ DO NITRATO DE COBRE EM CULTURAS AGRÍCOLAS  
CULTIVADAS EM LATOSSOLOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, área de concentração em Recursos Ambientais e Uso da Terra, para obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. João José Granate de Sá e Melo Marques  
Orientador

**LAVRAS-MG  
2018**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Engelhardt, Mateus Moreira.

Fitotoxidez do nitrato de cobre em culturas agrícolas cultivadas  
em latossolos / Mateus Moreira Engelhardt. - 2018.

58 p.

Orientador(a): João José Granate de Sá e Melo Marques.

.  
Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de  
Lavras, 2018.

Bibliografia.

1. cobre. 2. contaminação. 3. fitotoxicidade. I. Marques, João  
José Granate de Sá e Melo. . II. Título.

**MATEUS MOREIRA ENGELHARDT**

**PHYTOTOXICITY OF COPPER NITRATE IN AGRICULTURAL CROPS  
CULTIVATED IN OXISOLS**

**FITOTOXIDEZ DO NITRATO DE COBRE EM CULTURAS AGRÍCOLAS  
CULTIVADAS EM LATOSSOLOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, área de concentração em Recursos Ambientais e Uso da Terra, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 30 de Abril de 2018.

Dr. Guilherme Lopes UFLA

Dra. Mari Lúcia Campos UDESC

Prof. Dr. João José Granate de Sá e Melo Marques  
Orientador

**LAVRAS – MG**

## 2018 AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e força para superar os momentos de desânimo e, acima de tudo, a liberdade de poder sonhar.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) pelo apoio e suporte para a realização do trabalho e, principalmente, pela oportunidade de estudo.

Ao Prof. Dr. João José Granate de Sá e Melo Marques do Departamento de Ciência do Solo (UFLA) pela orientação, conselhos e grandioso trabalho em suas pesquisas. Muito obrigado!

Aos amigos do departamento pela ajuda, conselhos e pela amizade sincera e verdadeira. Obrigado!

Aos professores de Pós-Graduação, em Ciência do Solo (UFLA), pelos ensinamentos transmitidos.

Aos amigos responsáveis pelo funcionamento dos laboratórios de Geoquímica e Pedologia Ambiental, pela ajuda e paciência aplicada a todos os trabalhos.

Aos meus pais e familiares, que me apoiaram nesta conquista e me ensinaram a ser honesto e ter humildade em minhas tarefas.

À minha namorada, pela atenção, incentivo, compreensão, paciência, ajuda e companheirismo estabelecido em todos os momentos de minha vida em que estivemos juntos.

À CAPES, CNPq e FAPEMIG pelo auxílio financeiro.

A todos, minha gratidão.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas graças a Deus, não sou o que era antes”.

Marthin Luther King Jr.

## RESUMO

O Cu é um micronutriente para todos os seres vivos. Porém em altas concentrações pode causar efeitos negativos nas diversas formas de vida. A avaliação da toxicidade causada por um composto químico no ambiente, deve basear-se em parâmetros biológicos sensíveis ao contaminante. Os valores de EC50, EC20 e EC10 são indicados para mostrar a sensibilidade das espécies com o aumento da concentração do contaminante. O objetivo deste estudo foi avaliar o comportamento de diferentes espécies mediante a diferentes concentrações cobre no solo. Foram utilizadas as espécies *Triticum aestivum* (trigo), *Zea mays* (milho), *Oryza sativa* (arroz), *Phaseolus vulgaris* (feijão), *Glycine max* (soja) e *Raphanus sativus* (rabanete) cultivadas em Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico típico (LVAd) e Latossolo Vermelho distroférico típico (LVdf). As espécies foram cultivadas em vasos contendo os solos e casa de vegetação. As concentrações de cobre foram de 0, 75, 150, 300, 600, 800, 1000, 1200 mg/kg de solo seco. O experimento foi em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Foram realizadas mensurações de variáveis biológicas, como matéria seca da parte aérea, altura da planta, diâmetro do coleto e número de folhas, além de ter sido determinado o teor de cobre na parte aérea. O LVAd apresentou maiores valores de EC50 em relação ao LVdf, as espécies *T. aestivum*, *Z. mays*, *O. sativa* foram mais sensíveis do que as espécies *P. vulgaris*, *G. max* e *R. sativus*.

**Palavras-chave:** Cobre.Contaminação.Fitotoxicidade.

## ABSTRACT

Copper is a micronutrient for organisms, but in high concentrations may cause negative effects on various forms of life. The assessment of toxicity caused by chemical compound in the environment shall be based on biological parameters sensitive to the contaminant. The values of EC50, EC20, and EC10 are indicated to show the sensitivity of the species with the increase of contaminant concentration. The objective of this study is to evaluate the behavior of different species through different concentrations of Cu nitrate in the soil. The species *Triticum aestivum* (wheat), *Zea mays* (maize), *Oryza sativa* (rice), *Phaseolus vulgaris* (common beans), *Glycine max* (soybeans), and *Raphanus sativus* (radish) cultivated in the soils typic dystrophic Red-Yellow Latosol (LVAd) and typic dystroferric Red Latosol (LVdf) were used. The species were cultivated in pots in a greenhouse. Copper concentrations were 0, 75, 150, 300, 600, 800, 1000, 1200 mg/kg dry soil. The experiment was in a randomized complete design with four replications. Measurements of biological variables, such as shoot dry matter, plant height, stem diameter, and number of leaves were carried out, in addition to determining Cu content in the leaves. The LVAd showed higher sensitivity than the LVdf when considering EC50 values. The species *T. aestivum*, *Z. mays*, and *O. sativa* were more sensitive than *P. vulgaris*, *G. max* and *R. sativus*.

**Keywords:** Copper.Contamination.Phytotoxicity.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Emergência das espécies de arroz, milho e trigo cultivadas no Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVAd) e Latossolo-Vermelho distroférico (LVdf) com concentrações crescentes de Cu .....	33
FIGURA 2 - Emergência das espécies feijão, rabanete e soja cultivadas no Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVAd) e Latossolo-Vermelho distroférico (LVdf) com concentrações crescentes de Cu. ....	34
FIGURA 3 - Matéria seca da parte aérea das espécies arroz, milho e trigo cultivadas no Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVAd) e Latossolo-Vermelho distroférico (LVdf) com concentrações crescentes de Cu.....	35
FIGURA 4 - Matéria seca da parte aérea das espécies feijão, rabanete e soja cultivadas no Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVAd) e Latossolo-Vermelho distroférico (LVdf) com concentrações crescentes de Cu.....	36
FIGURA 5 - Altura das espécies feijão, rabanete e soja cultivadas no Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVAd) e Latossolo-Vermelho distroférico (LVdf) com concentrações crescentes de Cu.....	37
FIGURA 6 - Altura das espécies arroz, milho e trigo cultivadas no latossolo vermelho-amarelo distrófico (LVAd) e latossolo-vermelho distroférico (LVdf) com concentrações crescentes de Cu. ....	38
FIGURA 7 - número de folhas das espécies feijão, rabanete e soja cultivadas no Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVAd) e Latossolo-Vermelho distroférico (LVdf) com concentrações crescentes de de Cu.....	39
FIGURA 8 - Número de folhas das espécies arroz, milho e trigo cultivadas no Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVAd) e Latossolo-Vermelho distroférico (LVdf) com concentrações crescentes de Cu.....	40
FIGURA 9 - Diâmetro do coleto das espécies feijão, rabanete e soja cultivadas no Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVAd) e Latossolo-Vermelho distroférico (LVdf) com concentrações crescentes de Cu.....	41
FIGURA 10 - Diâmetro do coleto das espécies arroz, milho e trigo cultivadas no Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVAd) e Latossolo-Vermelho distroférico (LVdf) com concentrações crescentes de Cu. ....	42
FIGURA 11 - Teor de Cu na parte aérea das espécies trigo, milho e arroz cultivadas no Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVAd) e Latossolo-Vermelho distroférico (LVdf) com concentrações crescentes de Cu.....	43
FIGURA 12 - Teor de Cu na parte aérea das espécies rabanete, feijão e soja cultivadas no Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVAd) e Latossolo-Vermelho distroférico (LVdf) com concentrações crescentes de Cu.....	44
FIGURA 13 - Distribuição da sensibilidade de espécies gerada a partir de EC50 de massa seca da parte aérea e para os solos LVAd e LVdf .....	50

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores orientadores para Cu ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), em solos do Brasil, Minas Gerais (MG) e São Paulo (SP). .....	19
Tabela 2 - Propriedades físicas e químicas do latossolo vermelho-amarelo distrófico típico (lvad) e latossolo vermelho distroférico típico (LVdf), coletado no município de Lavras-MG.....	29
Tabela 3 - Resultados dos ec50, ec20, ec10 (concentração efetiva que reduz em 50 %, 20 % e 10 % os efeitos das variáveis analisadas) gerados a partir de testes fitotoxicológicos em plantas de milho, arroz, trigo, soja, rabanete e feijão cultivadas no latossolo vermelho-amarelo distrófico (LVAd) e latossolo vermelho distroférico (LVdf) com concentrações crescentes de Cu.....	47
Tabela 4 - Resultados dos noec e loec gerados a partir de testes fitotoxicológicos em plantas de milho, arroz, trigo, soja, rabanete e feijão cultivadas no no latossolo vermelho-amarelo distrófico (LVAd) e latossolo vermelho distroférico (LVdf) com concentrações crescentes de Cu.....	49
Tabela 5 - Valores de hc5, para LVdf, LVAd e a média entre os dois solos em relação aos resultados de ec50, 20 e 10. ....	52

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	<b>11</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>12</b>
<b>2.1 Cobre</b> .....	<b>12</b>
<b>2.1.1 Contaminação de cobre no solo</b> .....	<b>13</b>
<b>2.1.2 Aspectos toxicológicos do cobre</b> .....	<b>13</b>
<b>2.1.3 Dinâmica do cobre no solo</b> .....	<b>14</b>
<b>2.1.4 Efeitos bioquímicos e fisiológicos do cobre nas plantas</b> .....	<b>15</b>
<b>2.2 Ecotoxicologia</b> .....	<b>17</b>
<b>2.2.1 Valores orientadores para solos contaminados</b> .....	<b>17</b>
<b>2.2.2 Determinação dos valores de prevenção</b> .....	<b>19</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>21</b>
<b>CAPÍTULO 2 FITOTOXIDEZ DO COBRE EM CULTURAS AGRÍCOLAS CULTIVADAS EM SOLOS TROPICAIS</b> .....	<b>26</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>26</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>27</b>
<b>2.1 Condução do experimento</b> .....	<b>27</b>
<b>2.2 Análises estatísticas</b> .....	<b>30</b>
<b>3 RESULTADO E DISCUSSÃO</b> .....	<b>31</b>
<b>3.1 Avaliação das espécies e variáveis</b> .....	<b>31</b>
<b>3.2 Quantificação do cobre na parte aérea</b> .....	<b>42</b>
<b>3.3 Determinação do EC<sub>x</sub></b> .....	<b>44</b>
<b>3.4 Determinação do HC<sub>5</sub></b> .....	<b>52</b>
<b>4 CONCLUSÕES</b> .....	<b>53</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>54</b>

## CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL

### 1 INTRODUÇÃO

O uso de metais para suprir as mais diversas necessidades humanas tem levado à contaminação nos diferentes compartimentos do meio ambiente, em particular, no solo (MACKIE; MULLER; KANDELER, 2012). As atividades agrícolas contribuem para essa contaminação, por meio de fertilizantes, defensivos agrícolas e corretivos que possuem elementos-traço em sua composição (PERIS et al., 2008) e, dependendo da concentração, podem ter caráter nocivo, quando presentes em concentrações que alterem as relações ecológicas (McBRATNEY; FIELD; KOCH, 2014).

O CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente), em âmbito nacional e a FEAM (FUNDAÇÃO ESTADUAL DE MEIO AMBIENTE), em âmbito estadual, são os órgãos competentes que gerenciam os possíveis riscos à saúde humana e ao meio ambiente que metais e compostos químicos podem causar. Esses órgãos, mediante um conjunto de medidas, visam assegurar tanto o conhecimento das características e dos impactos causados pelos contaminantes, quanto a criação e aplicação de instrumentos necessários à tomada de decisão e às formas de intervenção mais adequadas (FUNDAÇÃO ESTADUAL DE MEIO AMBIENTE - FEAM, 2016).

Visando à proteção ambiental e à saúde humana, os primeiros regulamentos de limites máximos, para substâncias em solos brasileiros, foram estabelecidos no Estado de São Paulo, por meio da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL - CETESB, 2016), os quais foram atualizados em 2016, pela Decisão de Diretoria Nº 256/2016 em nível estadual e em nível nacional em 2009, por meio do Ministério do Meio Ambiente com o CONAMA, resolução Nº 420 (CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA, 2009).

A resolução do CONAMA (2009) define três valores orientadores que são divididos em Valor de Referência de Qualidade (VRQ), Valor de Prevenção (VP) e Valor de Investigação (VI), que fornecem orientações sobre a qualidade e as alterações do solo e da água subterrânea. Os VPs existentes na Resolução CONAMA 420/2009 foram adaptados da CETESB (Decisão de diretoria nº 195-2005-E de 2005). Em sua primeira versão, os valores de prevenção foram apresentados no “Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no estado de São Paulo” (CASARINI et al., 2001). Nesse relatório,

os VP, chamados anteriormente de valores de alerta, foram considerados, dentre outros aspectos, como sendo a menor concentração do contaminante em questão que causasse fitotoxicidade (CASARINI et al., 2001), sendo adotada, para o Cu, a concentração de 60 mg kg<sup>-1</sup>, valor atualmente vigente. Contudo, decorrente de variações pedológicas, geológicas, climáticas, entre outras, nos diferentes estados brasileiros, torna-se necessário que cada estado da federação determine seus VPs (CONAMA, 2009).

A proposta do presente estudo é a avaliar a fitotoxicidade do cobre para seis culturas agrícolas cultivadas em Latossolos. Além disso, este trabalho visa contribuir como banco de dados sobre VPs em solos do Estado de Minas Gerais.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Cobre

O cobre (Cu) é um elemento químico cujo nome em latim é *cuprum*, possui número atômico 29, massa atômica 63,54 g mol<sup>-1</sup>, encontra-se na fase sólida à temperatura ambiente; é de coloração avermelhada, dúctil, maleável e bom condutor de eletricidade; é classificado como elemento-traço de transição, pertencente ao grupo 1B da tabela periódica e densidade de 8,96 g cm<sup>-3</sup>, superior a 5 g cm<sup>-3</sup>, caracterizando-se como um metal pesado (KING, 1996; RAIJ, 1991; SPARKS, 2003). O Cu tem sido utilizado pelo homem há mais de 6.000 anos e sua utilização está fortemente associada ao desenvolvimento da civilização (KABATA-PENDIAS; SZTEKE, 2015). Sua ocorrência normal, na crosta terrestre, varia entre 25 e 75 mg/kg (KABATA-PENDIAS; SZTEKE, 2015), sendo mais concentrado em rochas ígneas, máficas e sedimentos argilosos. Sua principal ocorrência em minerais se dá na presença de enxofre (S), por alta afinidade de ligação a esse elemento, sendo os principais minerais: calcopirita (CuFeS<sub>2</sub>), bornita (Cu<sub>5</sub>FeS<sub>4</sub>), calcocita (Cu<sub>2</sub>S) e covelita (CuS). Durante o intemperismo, principalmente em meio ácido, o Cu é dissociado do S, ocorrendo a liberação de íons de Cu<sup>2+</sup> (RAIJ, 1991) que é incorporado a minerais de argila, óxidos e minerais carbonatos (KABATA-PENDIAS; SZTEKE, 2015). O teor natural de Cu nos solos é muito variável e depende, principalmente, da composição do material de origem do solo e da intensidade dos processos de formação do solo sobre o material de origem (KING, 1996).

As principais formas de ocorrência de Cu no solo são em solos ácidos, como complexos orgânicos e íons livre Cu<sup>2+</sup> e, em solos alcalinos, como carbonatos, boratos e complexos orgânicos (SPOSITO, 1989). Além de ser encontrado, quase exclusivamente na

forma de  $\text{Cu}^{2+}$ , as formas reduzidas monovalente e metálica ocorrem, em solos sob condições de redução, especialmente, na presença de íons de enxofre halogênicos (SODRÉ; LENZI; COSTA, 2001).

### **2.1.1 Contaminação de cobre no solo**

As fontes antropogênicas de Cu no solo são dadas, a partir da mineração e beneficiamento de seus produtos, queima de combustíveis fósseis, aplicação de defensivos, corretivos e fertilizantes agrícolas, lodos de esgotos urbanos ou industriais, águas residuais e resíduos industriais. Se essas fontes de resíduos são utilizadas sem monitoramento da qualidade, para fins agrícolas, pode ocorrer acúmulo e posterior contaminação desse elemento no solo (MARTINS, 2005). Na agricultura, o uso prolongado de alguns defensivos, tais como fungicidas, inseticidas e herbicidas à base de sulfato de Cu, hidróxido de Cu, oxicloreto de Cu, tem se mostrado com uma das principais causas do acúmulo desse elemento no solo. Tal fato, além de reduzir a produção das culturas agrícolas, tende a contaminar a cadeia trófica (SANTOS et al., 2004).

### **2.1.2 Aspectos toxicológicos do cobre**

O Cu é um elemento essencial a todos os seres vivos. Nos seres humanos, atua como cofator de várias metaloenzimas que participam da síntese da hemoglobina e no metabolismo de carboidratos, xenobióticos e mecanismos de antioxidação celular (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY - ATSDR, 2004) e sua recomendação diária de ingestão é de 0,9 mg de Cu para adultos. O Cu é rapidamente absorvido no estômago e no intestino, sendo sua concentração controlada pelo mecanismo de homeostase que envolve a indução e síntese de metalotioneínas. A exposição em níveis excessivos pode resultar em danos ao fígado e rins, anemia, imunotoxicidade e desenvolvimento da toxicidade. Esses efeitos estão relacionados com a função do Cu na oxidação das membranas ou de macromoléculas, bem como na ligação do grupo sulfidrílica de algumas enzimas envolvidas na proteção celular aos radicais livres. O sintoma mais comum relacionado à exposição a altas concentrações de Cu é a disfunção intestinal, ocorrendo, em seguida, náusea, vômito e dor abdominal. A exposição ao Cu, também, irrita o sistema respiratório, tendo como consequência tosse, espirro, fibrose pulmonar e aumento da vascularidade da mucosa nasal (SARGENTELLI; MAURO; MASSABNI, 1996). Em casos de alta exposição ao Cu e de

outros elementos com características parecidas, tem sido constatado risco elevado de câncer do pulmão e do estômago (ATSDR, 2004).

### 2.1.3 Dinâmica do cobre no solo

As principais formas do Cu no solo são descritas a seguir (ALLOWAY; AYRES, 1997; MARTINS, 2005):

- íons livres ou complexados na solução do solo;
- íons trocáveis no material orgânico ou inorgânico de troca ativa;
- íons mais fortemente retidos aos complexos de troca;
- íonsquelatos em complexos orgânicos ou organominerais;
- íons adsorvidos em óxidos precipitados como sais insolúveis;
- incorporados nos microorganismos e nos seus resíduos biológicos; e
- retidos nas estruturas dos minerais primários ou secundários.

Suas formas são controladas, principalmente, pelos seguintes atributos do solo: pH, potencial redox, CTC, quantidade e qualidade da MO, presença de outros metais pesados, temperatura do solo, conteúdo de água e atividade microbiana, textura e composição mineral (teor e tipo de argila) (ADRIANO, 2001).

O átomo de Cu tem, em sua camada eletrônica mais externa, um elétron desemparelhado e, na camada inferior, possui 18 elétrons. Esta característica proporciona grande capacidade em compartilhar elétrons com grupos funcionais com insuficiência eletrônica (CANELLAS; SANTOS; AMARAL, 1999). Ocorrendo, principalmente, nos grupos funcionais carboxila e OH fenólicos de substâncias húmicas e, nos grupos funcionais OH das superfícies minerais, essa ligação pode ser do tipo covalente, de alta energia, caracterizando-se como complexos estáveis de esfera interna (ARAÚJO et al., 2002).

As principais formas de retenção do Cu no solo são por meio de adsorção nas superfícies das partículas minerais, complexação por substâncias húmicas e reações de precipitação (KHAN; SCULLION, 2000). O processo de adsorção influencia fortemente a química desse elemento-traço no solo. Esse processo pode ser definido como o acúmulo de elemento na interface entre a partícula sólida e a solução do solo (SPOSITO, 1989). A adsorção pode ser de duas formas: (i) não específica, que ocorre, quando os íons são retidos por forças de van der Waals, isto é, quando a interação entre íons e superfície da partícula é de caráter eletrostático, caracterizada por ser de baixa energia de ligação, estes íons estão em

equilíbrio com o sistema aquoso e podem se tornar disponíveis para as plantas (SPOSITO, 1989); e (ii) adsorção específica, sendo os íons adsorvidos por ligações covalentes ou iônicas, ficando fortemente retidos, caracterizada por ser de alta energia de ligação. Esse tipo de ligação ocorre, quando o Cu forma complexos com radicais hidroxila, formando ( $\text{CuOH}^+$ ), ocorrendo em superfícies minerais que contêm grupos com hidroxilas, como óxidos de Fe e Al (ALLOWAY; AYRES, 1997).

A matéria orgânica do solo (MO) possui grande superfície específica, carga líquida negativa dependente do pH do meio e capacidade de formar complexos orgânicos. Por essa última característica, em solos em que os teores de Cu são altos, o Cu é complexado por meio de ácidos húmicos e fúlvicos, formando complexos estáveis, principalmente, de esfera interna. Essa característica da MO formar complexos estáveis com íons metálicos, no caso o Cu, é atribuída, principalmente, à sua estrutura, que possui grupos funcionais que contêm oxigênio, como grupos carboxílicos, hidroxílicos, fenólicos e alcoólicos, que possuem alta CTC (STEVENSON, 1995).

A força de ligação do Cu com os ácidos húmicos diminui com o aumento da concentração de Cu no solo (SILVEIRA et al., 1999), com o aumento de grau de humificação da MO (STEVENSON; FITCH, 1981) e com a diminuição do pH do meio (YONEBAYASHI et al., 1994). O Cu pode ser encontrado na forma de precipitado como ânions de sulfato, carbonato ou hidróxido, ou ainda co-precipitado com componentes pouco solúveis de Mg, Fe e Al (ADRIANO, 2001).

A fração de Cu absorvida pela planta é denominada disponível, ou seja, está na forma de cátion livre ( $\text{Cu}^{2+}$ ). A concentração de Cu nessa forma na solução do solo é muito baixa, em razão do valor do pH do solo e da afinidade do elemento pela MO. A disponibilidade do Cu é fortemente influenciada pelo pH, já que sua solubilidade pode ser diminuída cerca de cem vezes, a cada unidade de pH elevada, o inverso dessa relação também é verdadeiro (MELO; ALLEONI, 2009). Portanto o pH e MO são os principais fatores do meio que controlam a disponibilidade de Cu na forma de  $\text{Cu}^{2+}$  no solo (RODRIGUEZ-RUBIO et al., 2003).

#### **2.1.4 Efeitos bioquímicos e fisiológicos do cobre nas plantas**

O Cu é um elemento essencial para o desenvolvimento das plantas, tem funções na síntese de proteínas, no metabolismo de carboidratos e na fixação simbiótica de  $\text{N}_2$  (MARSCHNER, 2012), no metabolismo da parede celular e na sinalização hormonal

(RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2001). É absorvido pelas plantas como  $\text{Cu}^{2+}$  ou Cu-quelato, associado a compostos orgânicos de baixo peso molecular (FERNANDES; HENRIQUES, 1991).

A toxidez do Cu é observada, principalmente, em plantas cultivadas em solos ácidos, com baixa CTC e baixo teor de MO (BRUNET al., 1998). Os sintomas de toxidez do Cu variam entre as espécies vegetais. No geral, observa-se uma redução no crescimento das raízes em plantas cultivadas em solos com alto teor de formas disponíveis de Cu. A maior tolerância das plantas ao excesso de Cu está associada ao seu acúmulo nas raízes e menor transporte para a parte aérea (BRUN et al., 2001; MICHAUD et al., 2007).

As plantas podem alterar a mobilidade química e, conseqüentemente, a disponibilidade do Cu na rizosfera (MARSCHNER, 2012; McLAUGHLIN; SMOLDERS; MERCKX, 1998). A extrusão de prótons pela raiz pode diminuir o pH rizosférico em até duas unidades, o que propicia a solubilização de compostos com Cu e o aumento de sua disponibilidade. Além do mais, raízes de algumas espécies de plantas podem liberar compostos orgânicos na rizosfera capazes de complexar o Cu, diminuindo ou impedindo sua absorção, diminuindo a toxidez às plantas (MENCHET al., 1988). A tolerância à toxidez de diversas plantas ao Cu é muito variável. A avaliação da fitotoxicidade deste elemento é difícil, por se acumular, na maioria das espécies, nas raízes, causando danos primeiro nessa região da planta, que não é diretamente visível (McBRIDE, 2001).

Na parte aérea, há uma redução da biomassa e sintomas de clorose. O excesso de Cu induz à redução da concentração de Fe na parte aérea, conseqüentemente, com clorose internerval (MICHAUD et al., 2007). O excesso de Cu nas células da parte aérea afeta processos importantes, como o transporte de elétrons na fotossíntese (YRUELA, 2005), redução do conteúdo de clorofila, alterações na estrutura dos cloroplastos e na composição das membranas dos tilacoides (QUARTACCI et al., 2000).

Os sintomas de toxidez causados pelo excesso de Cu são em razão de uma série de interações em nível celular e molecular (KABALA; SINGH, 2001). A toxidez de Cu causa um estresse oxidativo na planta, podendo ser determinado pela geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), como o ânion radical superóxido ( $\text{O}_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e o radical hidroxil (OH). As EROs interagem de forma não específica com muitos componentes celulares, desencadeando reações peroxidativas e causando danos significativos às membranas, pigmentos fotossintéticos, proteínas, ácidos nucleicos e lipídios (FOYER; LELANDAIS; KUNERT, 1994). Nessa condição de estresse oxidativo causado pelo Cu, a planta ativa alguns mecanismos de defesa, como aumento da atividade de enzimas

antioxidantes, principalmente, a catalase e a superóxido dismutase, que reduzem ou eliminam a atividade das EROs, aumentando assim a tolerância da planta ao estresse (SALISBURY; ROSS, 1992).

## **2.2 Ecotoxicologia**

A ecotoxicologia é definida por Ramade (1977) como sendo a ciência que visa avaliar a contaminação do ambiente por poluentes naturais ou sintéticos, bem como entender sua funcionalidade, mecanismos de ação e seus efeitos sobre os organismos que compõem a biosfera. Testes ecotoxicológicos são uma das metodologias mais comuns para avaliação da contaminação no ambiente.

Os testes ecotoxicológicos são utilizados para avaliação da contaminação do solo, sendo reconhecidos como uma ferramenta complementar à análise química (CROUAU; MOIA, 2006). Por meio dos testes, a ecotoxicologia busca entender as possíveis consequências da liberação de substâncias químicas no ambiente, sobre os organismos nele existente (CHASIN; PEDROZO, 2004). Além disso, auxiliam na compreensão dos limites nocivos aos organismos e dos locais de manifestação dos efeitos de toxicidade (KNIE; LOPES, 2004). Para isso, são verificados os efeitos morfológicos, comportamentais, fisiológicos, citogenéticos, bioquímicos e letais nos organismos expostos aos poluentes (NEUHAUSER et al., 1985).

Para os organismos aquáticos e de solos, encontram-se protocolos descritos pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), Fundação Estadual de Engenharia do Meio Ambiente (FEEMA-RJ) e Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB), além da existência do Manual de Testes para Avaliação da Ecotoxicidade de Agentes Químicos, idealizado pelo Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) (SISINNO et al., 2004) e diversos protocolos internacionalmente reconhecidos, como Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), International Organization for Standardization (ISO), United States Environmental Protection Agency (USEPA) e Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

### **2.2.1 Valores orientadores para solos contaminados**

No processo de avaliação e diagnóstico da qualidade de solos e águas subterrâneas no Brasil, os órgãos ambientais fazem o uso de valores orientadores, que podem ser definidos

como concentrações limites de substâncias químicas no solo ou água, fornecendo assim orientação sobre a qualidade e as alterações dos recursos ambientais (CONAMA, 2009). Os valores orientadores abrangem os teores dos compostos que ocorrem no ambiente, naturalmente, até aqueles teores relacionados a riscos à saúde humana (FERNANDES, 2011).

A legislação brasileira, por meio do CONAMA, estabelece três valores orientadores distintos: Valores de Referência de Qualidade, Valores de Prevenção e Valores de Investigação. Estes valores são baseados em solos sob condição natural e sob interferência antrópica, sendo definidos como:

1) Valor Orientador de Referência de Qualidade (VRQ): também conhecido como *background geoquímico* tem como fundamento a avaliação dos teores naturais dos elementos-traço nos solos, sem influência antrópica. É determinado com base em interpretação estatística de análises químicas de amostras de diversos solos. Valores menores ou iguais ao VRQ indicam que o solo não está contaminado, já valores superiores ao VRQ e inferiores ao VP indicam contaminação, porém sendo de baixo risco aos receptores ecológicos e aos seres humanos.

2) Valor de Prevenção (VP): valor intermediário entre o VRQ e o VI, sendo definido como valor limite de um elemento-traço no solo que ainda é capaz de sustentar as suas funções principais, como: diversidade biológica, ciclos biogeoquímicos, meio para produção de alimentos e matéria-prima, tampão ambiental, além de meio para ocupação populacional. Sua determinação tem como base experimentos e análises de risco ecológico, considerando a menor concentração que cause toxidez aos receptores ecológicos.

3) Valor de Investigação (VI): valor determinado que, quando ultrapassado, haverá risco à saúde humana e ao desenvolvimento normal dos demais organismos. Seu valor tem por base a análise de risco sobre a saúde humana.

O Estado de São Paulo é o único ente da federação brasileira que já adequou os três valores orientadores, estabelecidos pela CETESB (2001). O Ministério do Meio Ambiente adotou, provisoriamente, na Resolução do CONAMA 420/2009, para todo o Brasil, os valores orientadores VP e VI estabelecidos, para o Estado de São Paulo, até que os demais estados adotem seus próprios valores orientadores.

No Estado de Minas Gerais, o VRQ foi estabelecido pela Deliberação Normativa COPAM 166/2011, por iniciativa da Fundação Estadual de Meio Ambiente (FEAM), em parceria com instituições de ensino superior e pesquisa de Minas Gerais, no âmbito do Programa Solos de Minas. Os valores orientadores utilizados pela Deliberação Normativa

COPAM N° 166/2011 (CETESB, 2016; CONAMA, 2009), para o Cu, são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1 - Valores orientadores para Cu ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) em solos do Brasil, Minas Gerais (MG) e São Paulo (SP).

Valor de Referência de Qualidade (VRQ)	Valor de Prevenção (VP)	Valores de Investigação <sup>(1,2)</sup> / Intervenção <sup>(3)</sup> (VI)		
		Agrícola	Residencial	Industrial
Brasil <sup>(1)</sup>	60	200	400	600
MG <sup>(2)</sup> 49	60	200	400	600
SP <sup>(3)</sup> 35	60	760	2100	10000

Legenda: <sup>(1)</sup>CONAMA(2009); <sup>(2)</sup>Deliberação normativa COPAM n° 166 de 2011, Minas Gerais e <sup>(3)</sup>CETESB (2016),São Paulo.

### 2.2.2 Determinação dos valores de prevenção

Os VPs são determinados por meio de testes ecotoxicológicos e/ou fitotoxicológicos, nos quais são avaliados os efeitos de doses de um elemento-traço sobre as variáveis biológicas de uma determinada espécie ou grupo de espécies de plantas ou animais, sendo utilizados, principalmente, organismos da fauna edáfica (testes ecotoxicológicos) ou plantas (testes fitotoxicológicos). Esses testes podem ser agudos, crônicos, ou subcrônicos, de acordo com sua duração e efeito observado. Os resultados podem ser trabalhados em índices de ecotoxicidade, que variam de acordo com a intensidade da concentração e são calculados estatisticamente.

Os índices de ecotoxicidade mais utilizados são a concentração efetiva que não causa efeitos observáveis (NOEC), a concentração efetiva mínima que causa efeitos observáveis (LOEC) e a concentração de efeito x (ECx), que indica a concentração do elemento que causa x por cento de redução na variável resposta aos organismos-teste. Os valores de x mais utilizados são 10, 20, 25 e 50 %, isto é, a concentração do elemento que reduz em 10, 20, 25 e 50%, respectivamente, o valor de uma variável biológica relacionada ao desenvolvimento do organismo.

Os índices de toxicidade podem ser expressos, graficamente, em uma curva de distribuição de sensibilidade das espécies (DSE), em que o eixo da abscissa é a concentração do elemento, expressa pelo logaritmo da concentração de efeito, e o eixo da ordenada é a variável biológica estudada, plotada em ordem crescente de concentração de efeito observado.

Para os testes fitotoxicológicos, utiliza-se o protocolo 208 da Organization for Economic Cooperation and Development (OECD, 2006) que prevê a realização de testes com

duração de 14 a 21 dias, após a germinação de 50 % das plântulas do grupo controle. É recomendado o uso de pelo menos duas espécies vegetais diferentes que sejam sensíveis ao elemento contaminante e, no mínimo, cinco concentrações da substância, para que seja possível uma análise de regressão. Ao fim do teste, são avaliados a emergência, crescimento inicial, sintomas de fitotoxicidade e biomassa produzida. Os resultados são expressos em EC50, EC20 e EC10. Essas recomendações também constam em outras referências internacionais reconhecidas, como a (U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - USEPA, 1998) e na normativa ISO 11.269-2 (INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION - ISO, 2013). Os testes fitotoxicológicos e ecotoxicológicos para elementos-traço têm alta aplicabilidade para a determinação de VPs para solos. Esses testes foram aplicados com sucesso em alguns países europeus (VERBRUGGEN; POSTHUMUS; VAN WEZEL, 2001).

O Estado de Minas Gerais já determinou seus VRQs e vem trabalhando também para a determinação dos VPs. Alguns trabalhos já foram realizados, nas instituições participantes do Programa Solos de Minas, contribuindo para a determinação de VP para Pb, Cd e Cr (ALEXANDRINO, 2014; ALVARENGA, 2014; CÂNDIDO, 2017; MARQUES et al., 2016; SANTOS, 2015; TEODORO, 2016).

## REFERÊNCIAS

- ADRIANO, D. C. **Trace elements in terrestrial environments: biogeochemistry, bioaccessibility and the risk of metals.** New York: New York Springs, 2001. 866 p.
- AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY - ATSDR. **Toxicological profile for copper.** New York: ATSDR, 2004. 314 p.
- ALEXANDRINO, R. C. S. **Determinação do valor de prevenção para solos contaminados por chumbo no Estado de Minas Gerais.** 2014. 147 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.
- ALLOWAY, B. J.; AYRES, D. C. **Chemical principles of environmental pollution.** London: Chapman & Hall, 1997. 395 p.
- ALVARENGA, I. F. S. **Fisiologia e ecotoxicologia de espécies vegetais para a determinação do valor de prevenção de cádmio em solos.** 2014. 181 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.
- ARAÚJO, W. S. et al. Relação entre adsorção de metais pesados e atributos químicos e físicos de classes de solo do Brasil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 26, n. 1, p. 17-27, jan./mar. 2002.
- BRUN, L. A. et al. Evaluation of copper availability to plants in copper-contaminated vineyard soil. **Environmental Pollution**, Barking, v. 111, n. 2, p. 111-293, Feb. 2001.
- Relationships between extractable copper, soil properties and copper uptake by wild plants in vineyard soil. **Environmental Pollution**, Barking, v. 102, n. 2/3, p. 151-161, Aug. 1998.
- CÂNDIDO, G. de S. **Avaliação de plantas cultivadas em solos de Minas Gerais contaminados por chumbo e derivação de seu valor de prevenção.** 2017. 118 p. Dissertação (Mestrado Profissional em Tecnologias e Inovações Ambientais) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2017.
- CANELLAS, L. P.; SANTOS, G. A.; AMARAL, S. N. M. B. Reações da matéria orgânica. In: SANTOS, G. A.; CAMARGO, F. A. O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo, ecossistemas tropicais e subtropicais.** Porto Alegre: Genesis, 1999. p. 68-89.
- CASARINI, D. C. P. et al. **Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo.** São Paulo: CETESB, 2001. 73 p.
- CHASIN, A. A. M.; PEDROZO, M. F. M. **As bases toxicológicas da ecotoxicologia.** São Carlos: Rima, 2004. 340 p.
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL - CETESB. Decisão de diretoria nº 256/2016/e, de 22 de novembro de 2016. Dispõe sobre a aprovação dos “Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo – 2016” e dá outras providências. **Diário Oficial do Estado de São Paulo**, São Paulo, 24 nov. 2016. p. 55-56.

**Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo.** São Paulo: CETESB, 2001. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br>>. Acesso em: 10 fev. 2017.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA. Resolução nº 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**, Brasília, n. 249, p. 81-84, 30 dez. 2009.

CROUAU, Y.; MOIA, C. The relative sensitivity of growth and reproduction in the spring tail, *Folsomia candida*, exposed to xenobiotics in the laboratory: an indicator of soil toxicity. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Amsterdam, v. 64, n. 2, p. 115-121, June 2006.

FERNANDES, J. C.; HENRIQUES, F. C. Biochemical, physiological, and structural effects of excess copper in plants. **Botanical Review**, Bronx, v. 57, n. 3, p. 246-273, July 1991.

FERNANDES, P. R. M. **Determinação de valores orientadores de investigação para elementos-traço em solos do Estado de Minas Gerais.** 2011. 62 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

FOYER, C. H.; LELANDAIS, M.; KUNERT, K. Photo oxidative stress in plants. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 92, n. 4, p. 696-717, Dec. 1994.

FUNDAÇÃO ESTADUAL DO MEIO AMBIENTE - FEAM. **Inventário de áreas suspeita de contaminação e contaminadas do Estado de Minas Gerais.** Belo Horizonte: FEAM, 2016. Disponível em: <[http://www.feam.br/images/stories/declaracoes\\_ambientais/GESTAO\\_AREAS\\_CONTAMINADAS](http://www.feam.br/images/stories/declaracoes_ambientais/GESTAO_AREAS_CONTAMINADAS)>. Acesso em: 2 mar. 2017.

INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION - ISO. **ISO 11.269-2: determination of the effects of pollutants on soil flora, part 2: effects of chemicals on the emergence and growth of higher plants.** Geneve: ISO, 2013. 28 p.

KABALA, C.; SINGH, B. R. Fractionation and mobility of copper, lead and zinc in soil profiles in the vicinity of a copper smelter. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 30, n. 2, p. 485-492, Mar./Apr. 2001.

KABATA-PENDIAS, A.; SZTEKE, B. **Trace elements in abiotic and biotic environments.** New York: CRC Press, 2015. 458 p.

KHAN, M.; SCULLION, J. Effect of soil on microbial responses to metal contamination. **Environmental Pollution**, Barking, v. 110, n. 1, p. 115-125, Oct. 2000.

KING, L. D. Soil heavy metals. In: ALVAREZ, V. H.; FONTE, L. E. T.; FONTES, M. P. H. **O solo nos grandes domínios morfo climáticos do Brasil e o desenvolvimento sustentado.** Viçosa: SBCS, 1996. p. 823-836.

KNIE, J. K. W.; LOPES, E. W. B. **Testes toxicológicos: métodos, técnicas e aplicações.** Florianópolis: FATMA, 2004. 289 p.

MACKIE, K.; MULLER, T.; KANDELER, E. Remediation of copper in vineyards – a mini review. **Environmental Pollution**, Barking, v. 167, p. 16–26, 2012.

MARQUES, E. et al. Determinação do valor de prevenção para cromo em solos do Estado de Minas Gerais. **Holos**, Natal, v. 32, n. 4, p. 142-152, 2016.

MARSCHNER, P. **Mineral nutrition of higher plants**. 3. ed. New York: Elsevier, 2012. 652 p.

MARTINS, S. C. **Adsorção e dessorção de cobre em solos sob aplicação de lodo de esgoto e calda bordalesa**. 2005. 99 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

McBRATNEY, A.; FIELD, D. J.; KOCH, A. The dimensions of soil security. **Geoderma**, Amsterdam, v. 213, p. 203–213, Jan. 2014.

McBRIDE, M. B. Cupric ion activity in peat soil as a toxicity indicator for maize. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 30, n. 1, p. 78-84, Jan./Feb. 2001.

McLAUGHLIN, M. J.; SMOLDERS, E.; MERCKX, R. Soil-root interface: physicochemical processes. In: SOIL SCIENCE SOCIETY OF AMERICA. **Soil chemistry and ecosystem health**. Madison: Soil Science Society of America, 1998. p. 233-277.

MELO, V. F.; ALLEONI, L. R. F. (Ed.). **Química e mineralogia do solo: conceitos básicos**. Viçosa: SBCS, 2009. 695 p.

MENCH, M. et al. Metal binding with root exudates of low molecular weight. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 39, n. 4, p. 521-527, Dec. 1988.

MICHAUD, A. M. et al. Copper uptake and phytotoxicity as assessed in situ for durum wheat (*Triticum turgidum durum* L.) cultivated in Cu contaminated, former vineyard soils. **Plant and Soil**, The Hague, v. 298, n. 1/2, p. 99-111, Sept. 2007.

NEUHAUSER, E. F. et al. Toxicity of metals to the earthworms Eisenia fetida. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 1, n. 3, p. 149-152, Nov. 1985.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT - OECD. **Terrestrial plant test: seedling emergence and seedling growth test**. Paris: OECD, 2006. 21 p.

PERIS, M. et al. Increasing the knowledge of heavy metal contents and sources in agricultural soils of the European Mediterranean Region. **Water, Air, and Soil Pollution**, Netherlands, v. 192, n. 1/4, p. 25-37, July 2008.

QUARTACCI, M. F. et al. Growth in excess copper induces changes in the lipid composition and fluidity of PSII-enriched membranes in wheat. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 108, n. 1, p. 87-93, Jan. 2000.

RAIJ, B. V. **Fertilidade do solo e adubação**. São Paulo: Ceres, 1991. 343 p.

- RAMADE, F. **Ecotoxicologie**. Paris: Masson, 1977. 205 p.
- RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 905 p.
- RODRIGUEZ-RUBIO, P. et al. Retention of copper by calcareous soil and its textural fractions influence of amendment with two agroindustrial residues. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 54, n. 2, p. 401-409, June 2003.
- SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Plant physiology**. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1992. 682 p.
- SANTOS, H. P. et al. **Comportamento fisiológicos de plantas de aveia (Avena strigosa) em solos com excesso de cobre**. Bento Gonçalves: Embrapa, 2004. 11 p. (Comunicado Técnico, 49).
- SANTOS, J. L. **Valores de prevenção para fitotoxidez por cromo em solos de Minas Gerais**. 2015. 97 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.
- SARGENTELLI, V.; MAURO, A. E.; MASSABNI, A. C. Aspectos do metabolismo do cobre no homem. **Química Nova**, São Paulo, v. 19, n. 3, p. 290-293, 1996.
- SILVEIRA, M. L. A. et al. Energia livre da reação de adsorção de cobre em latossolosácricos. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 4, p. 1117-1122, 1999.
- SISINNO, C. et al. **Ensaio ecotoxicológicos como um instrumento de complementação da avaliação de áreas contaminadas: resultados preliminares em áreas contaminadas por hidrocarbonetos**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2004. 164 p.
- SODRÉ, F. F.; LENZI, E.; COSTA, A. C. S. Utilização de modelos físico-químicos de adsorção no estudo do comportamento do cobre em solos argilosos. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, n. 3, p. 324-330, maio/jun. 2001.
- SPARKS, D. L. **Environmental soil chemistry**. San Diego: Academic Press, 2003. 367 p.
- SPOSITO, G. **The chemistry of soils**. New York: Oxford University Press, 1989. 277 p.
- STEVENSON, F. J. **Humus chemistry: genesis, composition, reactions**. 2. ed. New York: John Wiley, 1995. 496 p.
- STEVENSON, F. J.; FITCH, A. Reactions with organic matter. In: LONERAGAN, J. F.; ROBSON, A. D.; GRAHAM, R. D. **Copper in soils in plants**. Sydney: Academic Press, 1981. p. 69-96.
- TEODORO, J. C. **Determinação do valor de prevenção para o chumbo em solos: teste fitotoxicológicos**. 2016. 94 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - USEPA. **Method 3051A**: microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils; test methods for evaluating solid waste, physical/chemical methods. Washington: USEPA, 1998. 20 p.

VERBRUGGEN, E. M. J.; POSTHUMUS, R.; VAN WEZEL, A. P. R. **Ecotoxicological serious risk concentrations for soil, sediment and (ground) water**: updated proposals for first series of compounds. Neatherlands: RIVM, 2001. 263 p.

YONEBAYASHI, K. et al. Distribution of heavy-metals among different bonding forms in tropical peat soils. **Soil Sciences and Plant Nutrition**, Nishigara, v. 40, n. 3, p. 425-434, 1994.

YRUELA, I. Copper in plants. **Brazilian Journal Plant Physiology**, Londrina, v. 17, n. 1, p. 145-146, jan./mar. 2005.

## CAPÍTULO 2 FITOTOXIDAZ DO COBRE EM CULTURAS AGRÍCOLAS CULTIVADAS EM SOLOS TROPICAIS

### 1 INTRODUÇÃO

A proteção do solo, da diversidade biológica e das funções do ecossistema tem sido objeto de estudo em todo o mundo (BONE et al., 2010). O processo de avaliação das possíveis consequências dos riscos ecológicos que um determinado contaminante pode vir a causar ao ambiente tem sido utilizado como ferramenta para o processo de tomada de decisão no manejo de locais contaminados ou com possíveis indícios de contaminação (USEPA, 1998a). A avaliação do risco ecotoxicológico é fundamentada em um processo complexo de coleta, organização e análise de dados ambientais, que tem por finalidade estimar efeitos adversos causados pela contaminação.

A tendência geral é que respostas biológicas a diferentes parâmetros de crescimento possam ser esperadas em áreas que sofreram algum tipo de contaminação. A relação entre fonte contaminante, exposição e efeitos aos organismos é complexa e frequentemente específica para um local particular, uma vez que as condições ambientais e o organismo receptor são específicos. Com isso, a avaliação de risco ecotoxicológico deve ser específica do local, para que a tomada de decisões e o gerenciamento da contaminação sejam eficazes (JENSEN; MESMAN, 2006).

As aplicações sucessivas de fertilizantes e defensivos agrícolas a base de Cu ao solo durante o ciclo das culturas, somado ao longo período de tempo de cultivo em certas áreas, podem ter como consequência grandes quantidades de Cu adicionados ao solo. O Cu é um micronutriente para as plantas atuando em diversos processos metabólicos, como integrante de diversas enzimas que catalisam o fluxo de elétrons e as reações de oxirredução nas células das plantas. Porém, em altas concentrações na solução do solo, pode acarretar distúrbios nas células vegetais, como indução do estresse oxidativo, podendo ser determinado pela geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) e redução na absorção de nutrientes como Ca, Mg, P e Fe, resultando em perdas consideráveis para o potencial produtivo das plantas (GIROTTO, 2010; MANTOVANI, 2009; SANTOS et al., 2004; TOSELLI et al., 2008).

Diversos autores confirmaram a contaminação por Cu em locais de agricultura intensiva por longo período. Girotto et al. (2016) observaram que solos cultivados com vinhedos na Serra Gaúcha, Brasil, por mais de 30 anos, apresentaram teores de Cu acima de 400 mg kg<sup>-1</sup>, afetando significativamente a fisiologia da *Avena strigosa* (aveia preta). A contaminação do

solo com agroquímicos à base de Cu utilizados em vinhedos para o controle de pragas tornou-se preocupante. Na tentativa de reduzir essa contaminação, foram feitos estudos para reduzir a disponibilidade do Cu no solo às plantas, em solos de região de vinhedos no Rio Grande do Sul, Ferreira et al. (2018) observaram que entre calcário ( $3 \text{ Mg ha}^{-1}$ ), silicato de cálcio ( $3 \text{ Mg ha}^{-1}$ ) e vermicomposto ( $30 \text{ g de C kg}^{-1}$ ), este último mostrou-se mais eficiente em diminuir a toxicidade do Cu às plantas.

Em cultivos de manga (*Mangifera indica*) por mais de 26 anos em Pernambuco, Brasil (SILVA et al., 2012) e melão (*Cucumis melo*) por dois anos na Chapada do Apodi, Brasil (MENDES et al., 2010) foram observados teores de Cu no solo acima do valores permitidos ( $60 \text{ mg kg}^{-1}$ ), ou seja, que as funções do solo são preservadas (CONAMA, 2009).

Características do solo, tais como textura, afetam a mobilidade do Cu no solo. Gharbiet al. (2005) observaram maior transferência de Cu do solo para a planta em solo franco argiloso arenoso do que em solo franco argiloso. Os autores verificaram que existe diferença na toxicidade do Cu entre as espécies *Lactuca sativa* (alface) e *Spinacia oleracea* (espinafre), sendo que o crescimento do espinafre foi o mais afetado com o aumento de Cu no solo. O acúmulo de Cu também diferiu entre os órgãos da planta. Para alface, 60 a 80 % do Cu total estava localizado nas raízes. No Brasil, a toxicidade do Cu em organismos do solo foi estudada por Ribeiro et al. (2012), onde a concentração de  $1000 \text{ mg kg}^{-1}$  foi letal para a espécie vermelha da califórnia (*Eisenia Andrei*).

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi verificar o efeito do Cu em seis culturas agrícolas, milho, arroz, trigo, soja, feijão e rabanete, cultivadas em duas classes de Latossolos. Com essa contribuição, órgãos ambientais poderão estabelecer parâmetros para avaliar a sensibilidade das espécies quando submetidas a altas concentrações do Cu no solo.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Condução do experimento

O ensaio de fitotoxicidade foi realizado de acordo com recomendação da ISO 11.269-2 (ISO, 2013). Seis espécies vegetais foram selecionadas a partir das listas presentes nestes protocolos experimentais. Para maior representatividade foram escolhidas três monocotiledôneas, sendo elas *Triticumaestivum* cv. BRS 264 (trigo), *Zea mays* cv. RB 9004 PRO 2 (milho) e *Oryza sativa* BRS Esmeralda (arroz) e três eudicotiledôneas, sendo

*Phaseolus vulgaris* L. cv. Madrepérola (feijão), *Glycinemax* BRS 284 (soja) e *Raphanus sativus* Crimson Gigante (rabanete).

Utilizaram-se amostras da camada superficial (0–0,2m) de um Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico típico (LVAd) localizado em 21°13'30" S e 44°57'38" W e um Latossolo Vermelho distroférico típico (LVdf) localizado em 21°09'18" S e 45°05'55" W, ambos no Município de Lavras-MG e coletados sob vegetação natural (floresta tropical subperenifólia). Os solos coletados apresentam, teor mediano a baixo de matéria orgânica, textura média a argilosa. As propriedades químicas e físicas desses solos são representativas do Estado de Minas Gerais(Tabela 2).

As amostras de solo foram destorroadas, secas ao ar e sucessivamente peneiradas em malhas de 5 e 2 mm de abertura. De posse da fração terra fina seca ao ar (TFSA) foi realizada a caracterização física e química. Para a caracterização física dos solos, foi realizada análise granulométrica pelo método da pipeta (ALMEIDA et al., 2012). A caracterização química dos solos foi realizada conforme Embrapa (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, 1997). As características físicas e químicas do solo estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 - Propriedades físicas e químicas do Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico típico (LVAd) e Latossolo Vermelho distroférico típico (LVdf), coletado no Município de Lavras-MG.

Propriedades	LVAd	LVdf
pH	4,90	4,40
K (mg dm <sup>-3</sup> )	98,0	56,0
P (mg dm <sup>-3</sup> )	3,20	1,70
Ca (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	1,50	0,30
Mg (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	0,50	0,20
Al (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	0,40	1,20
H + Al (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	3,87	11,1
SB (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	2,25	0,64
t (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	2,65	1,84
T(cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	6,12	11,7
V(%)	38	5
M(%)	15	65
M.O (dag kg <sup>-1</sup> )	2,11	3,99
P- rem (mg L <sup>-1</sup> )	25,8	4,72
Textura	média	argilosa
Argila (dag kg <sup>-1</sup> )	31,0	68,0
Silte (dag kg <sup>-1</sup> )	11,0	13,0
Areia (dag kg <sup>-1</sup> )	58,0	19,0
Capacidade de Retenção de água (%)	23,9	35,2

pH em água, relação 1:2,5; Ca- Mg-Al: extrator KCl 1 mol L<sup>-1</sup>; SB: soma de bases trocáveis; T: CTC – Capacidade de troca catiônica a pH 7,0; m: índice de saturação de alumínio; P-rem: fósforo remanescente; P- K: extrator Mehlich; H+Al: extrator SMP; t: CTC(t) capacidade de troca catiônica efetiva; V: índice de saturação de bases; M.O: matéria orgânica, oxidação dicromato de sódio + ácido sulfúrico.

Fonte: Dados do autor (2018)

Para dar condições ao crescimento das plantas foi realizada os níveis mínimos requeridos para adubação em vasos (MALAVOLTA, 1980). Posteriormente, adicionaram-se diferentes concentrações de Cu, utilizando-se a fonte nitrato de cobre (II) trihidratado. As soluções de nutrientes e Cu foram aplicadas diretamente sobre os solos, os quais estavam em sacos plásticos individuais para cada parcela. O volume de água aplicado foi calculado para que os solos atingissem 60 % do volume total de poros. Após 24 horas da adubação, foi

realizada a aplicação das concentrações de Cu e as amostras de solo foram mantidas em repouso por 24 horas antes do plantio.

As amostras de solo após a adubação e contaminação foram acondicionadas em potes com capacidade de 500 cm<sup>3</sup>, totalizando quatro potes por tratamento. Foi realizado o plantio de dez sementes por pote e após a emergência o número de plantas foi reduzido a cinco. Os tratamentos foram constituídos de oito concentrações de Cu (0, 75, 150, 300, 600, 800, 1000, 1200 mg de Cu kg<sup>-1</sup> de solo seco), respeitando a sugestão da ISO 11.269-2 (ISO, 2013). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC). O experimento teve duração de 21 dias após a emergência de 50 % do tratamento controle.

Foram realizadas contagens da emergência de plântulas e ao final do período experimental a avaliação das seguintes variáveis de crescimento vegetativo: altura da parte aérea (determinada por régua graduada), diâmetro do coleto (mensurados com paquímetro digital), número de folhas e matéria seca da parte aérea (MSPA) (determinada por pesagem da parte aérea após secagem a 70°C em estufa de circulação forçada de ar).

A concentração semitotal de Cu no material vegetal foi determinada conforme o método 3051A da USEPA (1998a), onde amostras de aproximadamente 0,5 g de material vegetal seco foi triturado em moinho do tipo Wiley, posteriormente foram adicionados 5mL de HNO<sub>3</sub> concentrado e 5 mL de água destilada, em frascos de Teflon hermeticamente fechados, aquecidos em forno de micro-ondas, por 10 minutos. O teor Cu foi determinado em espectrofotômetro de absorção atômica em chama de ar-acetileno.

Em cada bateria de análise, foi adicionada uma amostra referência com o teor de Cu conhecido e certificado (material vegetal: tomato leaves) e também uma amostra em branco para fins de controle de qualidade e cálculo do limite de detecção do método (LDM).

O LDM foi determinado pelo método proposto pela *American Public Health Association* (APHA, 2012).

$$LDM = (\bar{x} + t \times s) \times d$$

## 2.2 Análises estatísticas

As variáveis biológicas foram submetidas a análise de variância ( $p < 0,05$ ), seguindo-se a análise de regressão ( $p < 0,05$ ). Os valores de ECx foram calculados utilizando os modelos de regressão não lineares (modelos: exponencial, Gompertz, hormeses e logístico) que melhor se ajustaram aos dados (ROCHELEAU et al., 2010), os valores de NOEC e LOEC foram determinados, pelo teste de Dunnet ( $p < 0,05$ ).

### 3 RESULTADO E DISCUSSÃO

#### 3.1 Avaliação das espécies e variáveis

As espécies testadas foram sensíveis ao Cu, uma vez que houve redução das variáveis testadas em ambos os solos. Contudo, o grau de sensibilidade de cada espécie em resposta ao aumento das concentrações de Cu foi diferente. Isso é possivelmente devido a características morfofisiológicas intrínsecas a cada espécie, como espessura da parede celular, tipo de estrutura radicular e mecanismos de defesa enzimáticos de cada espécie (YRUELA, 2005). As variáveis MSPA e emergência demonstraram maior sensibilidade ao aumento da concentração de Cu no solo (Figuras 1, 2, 3 e 4).

Para a variável emergência, as monocotiledôneas, em sua maioria, apresentaram redução significativa a partir da concentração de 300 mg kg<sup>-1</sup> de Cu (Figura 1), em ambas as classes solos. Para as eudicotiledôneas, observou-se redução significativa a partir da concentração 600 mg kg<sup>-1</sup> de Cu (Figura 2) para ambos os solos. De acordo com Luchese et al. (2004), ocorre diminuição na emergência de plantas de milho à medida que se aumenta a concentração de Cu, quando aplicado via solução diretamente à semente. Segundo Singh, Nath e Sharma (2007), a redução da emergência, crescimento das plântulas podem ser devido a diminuição da atividade da enzima amilase ocasionada pelo excesso de Cu, responsável pela metabolização do amido de reserva presente na semente. Apesar do efeito do excesso de Cu ocasionar menor atividade da enzima amilase, espera-se que a emergência das eudicotiledôneas seja maior com foi verificado no presente estudo, visto que apresentam maior reserva de amido nas sementes

A variável MSPA mostrou-se sensível ao incremento de Cu em todas as espécies e em ambas as classes de solos. A partir da dose de 300 mg kg<sup>-1</sup> de Cu (Figura 3), pode-se observar uma redução significativa nessa variável para as monocotiledôneas cultivadas no LVAd. As plantas cultivadas no LVdf foram menos influenciadas. Esse comportamento também foi observado para as eudicotiledôneas nas duas classes de solos. Contudo, foram menos influenciadas que as monocotiledôneas nas maiores doses.

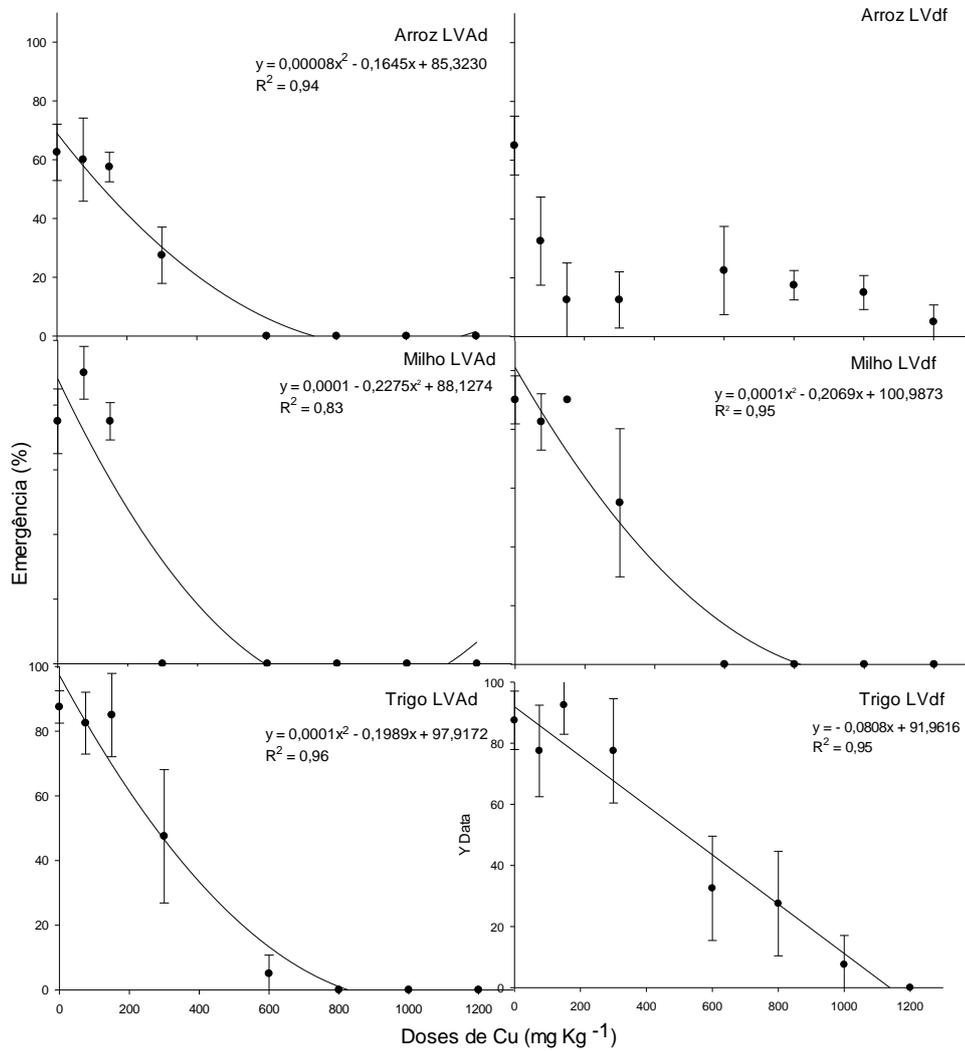
Resultados semelhantes foram encontrados por Silva et al. (2011), onde a concentração de 256 mg kg<sup>-1</sup> de Cu ocasionou redução significativa na MSPA em mudas de açoita-cavalo (*Luehea divaricata*) e aroeira-vermelha (*Schinusthere binthifolius*). Girotto et al. (2016) encontraram redução acentuada no desenvolvimento da aveia preta (*Avena strigosa*) em concentrações de Cu maiores que 1200 mg kg<sup>-1</sup>, o que também foi observado no presente

estudo para todas as culturas. O tempo de incubação do solo, não influenciou a disponibilidade e consequente toxicidade do Cu, logo o uso contínuo de pequenas dosagens de fontes de Cu por longo período como no estudo citado ou uma contaminação inicial alta por um curto período como foi feito nesse estudo, não afetou o resultado final do declínio das culturas na concentração de  $1200 \text{ mg kg}^{-1}$  de Cu, porém (ZENG et al., 2017), apresentaram disponibilidade de Cu diferentes de acordo com que se passou o tempo de incubação, o que não foi observado nesse estudo e de (GIROTTTO et al., 2016)

O aumento da concentração de Cu no solo pode causar alterações nos tecidos vegetais em nível bioquímico e fisiológico, as quais podem resultar em perdas consideráveis no potencial de crescimento e na produção das plantas. Plantas expostas ao excesso de Cu apresentam redução na produção de clorofila por causa da alteração na atividade de várias enzimas, como a nitrato redutase, que é responsável pela redução do nitrogênio na planta (LUNA; CASANO; TRIPPI, 1997).

Outras variáveis de crescimento vegetativo são recomendadas pela OECD-208 em caso de percepção visual dos efeitos prejudiciais causados pelo elemento-traço. Sendo assim, foi avaliada a altura da parte aérea das espécies que apresentaram redução à medida que as concentrações de Cu aumentaram em ambas as classes de solo. Nas concentrações mais baixas de Cu ( $75$  e  $150 \text{ mg kg}^{-1}$ ), as espécies feijão, milho e trigo cultivadas em LVAd e milho, soja e rabanete cultivadas em LVdf apresentaram maior comprimento da parte aérea, possivelmente ocasionado por um estímulo do Cu ao estiolamento dessas plantas (Figuras 4 e 5). Segundo Taiz e Zeiger (2012), esse crescimento nas menores doses, pode estar associado à tolerância da espécie ao contaminante, por meio de diferentes adaptações bioquímicas, que permitem tolerar as concentrações desse elemento. É provável que até a dose de  $150 \text{ mg kg}^{-1}$  utilizada nesse trabalho para essas culturas, o Cu na parte aérea não alcançou um nível crítico que seria limitante ao crescimento dessas plantas.

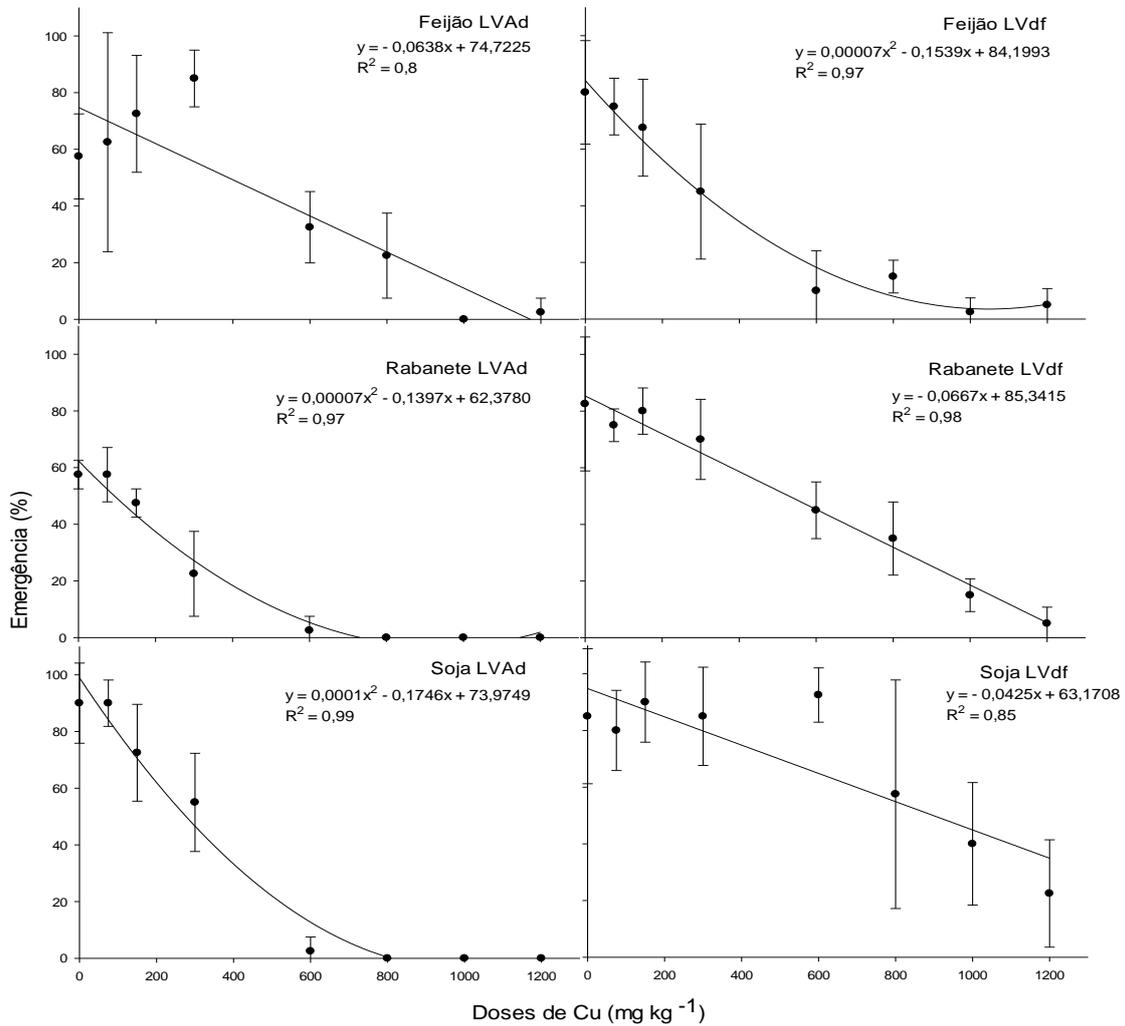
Figura 1 - Emergência das espécies de arroz, milho e trigo cultivadas no Latossolo Vermelho -Amarelo distrófico (LVAd) e Latossolo Vermelho distroférico (LVdf) com concentrações crescentes de Cu.



As barras representam o desvio padrão da média (n=4).

Fonte: Do autor (Laboratório de Pedologia e Geoquímica Ambiental da UFLA), 2018.

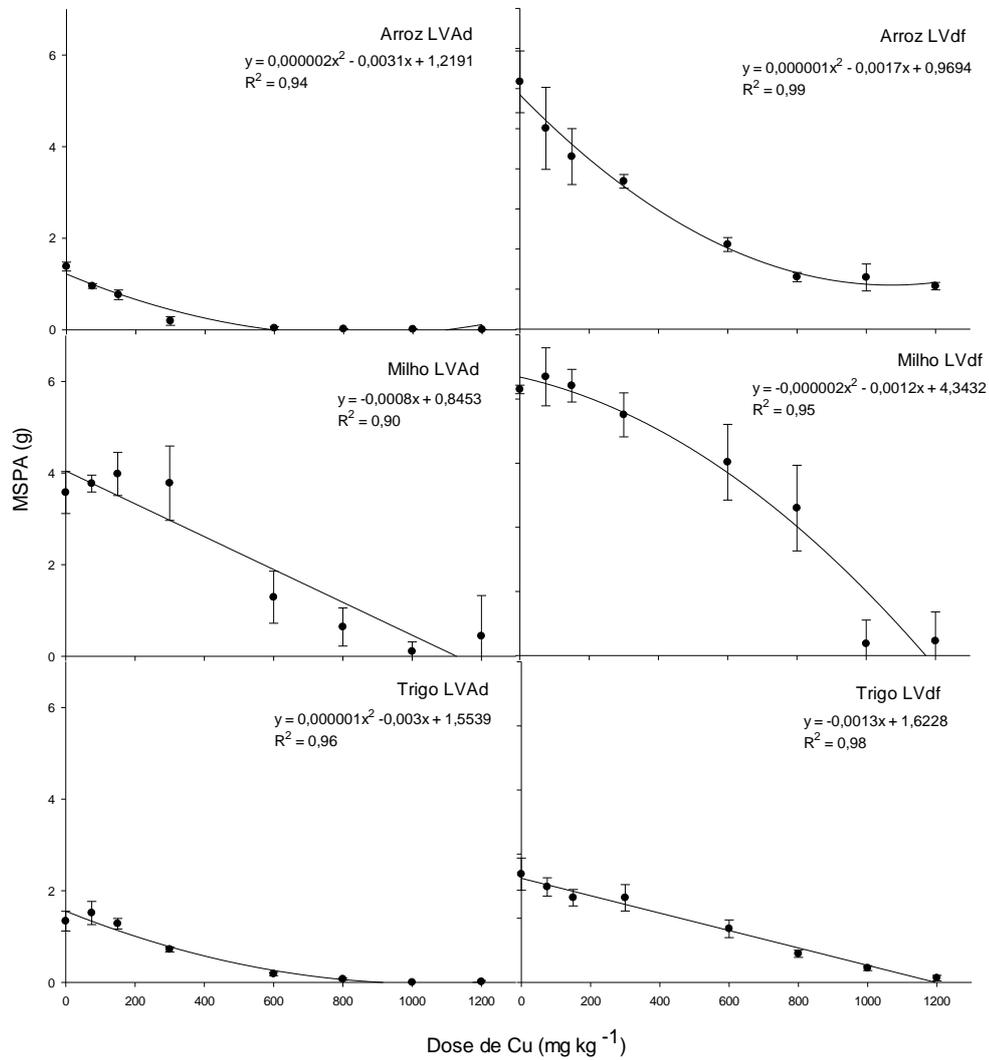
Figura 2 - Emergência das espécies feijão, rabanete e soja cultivadas no Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVAd) e Latossolo Vermelho distroférico (LVdf) com concentrações crescentes de Cu.



Legenda: As barras representam o desvio padrão da média (n=4).

Fonte: Do autor (Laboratório de Pedologia e Geoquímica Ambiental da UFLA), 2018.

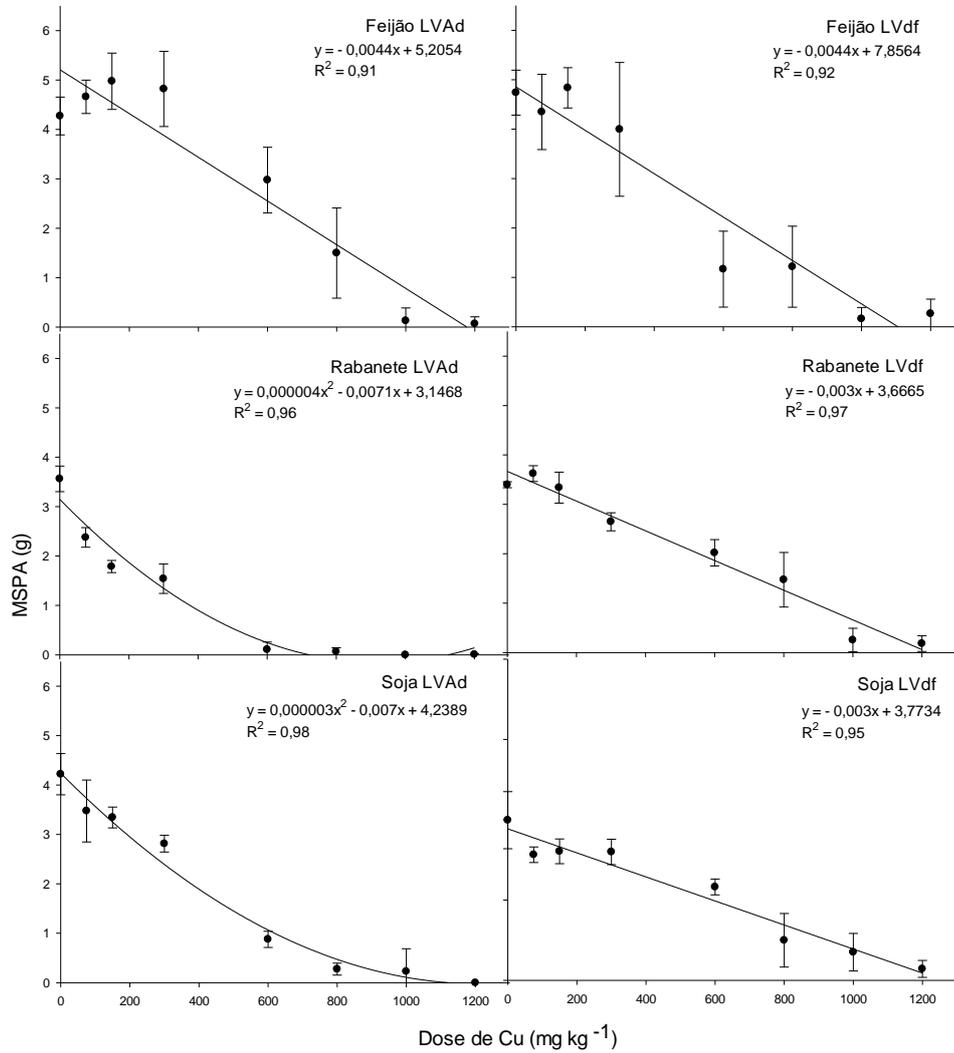
Figura 3 - Matéria seca da parte aérea das espécies arroz, milho e trigo cultivadas no Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVAd) e Latossolo Vermelho distroférico (LVdf) com concentrações crescentes de Cu.



Legenda: As barras representam o desvio padrão da média (n=4).

Fonte: Do autor (Laboratório de Pedologia e Geoquímica Ambiental da UFLA), 2018.

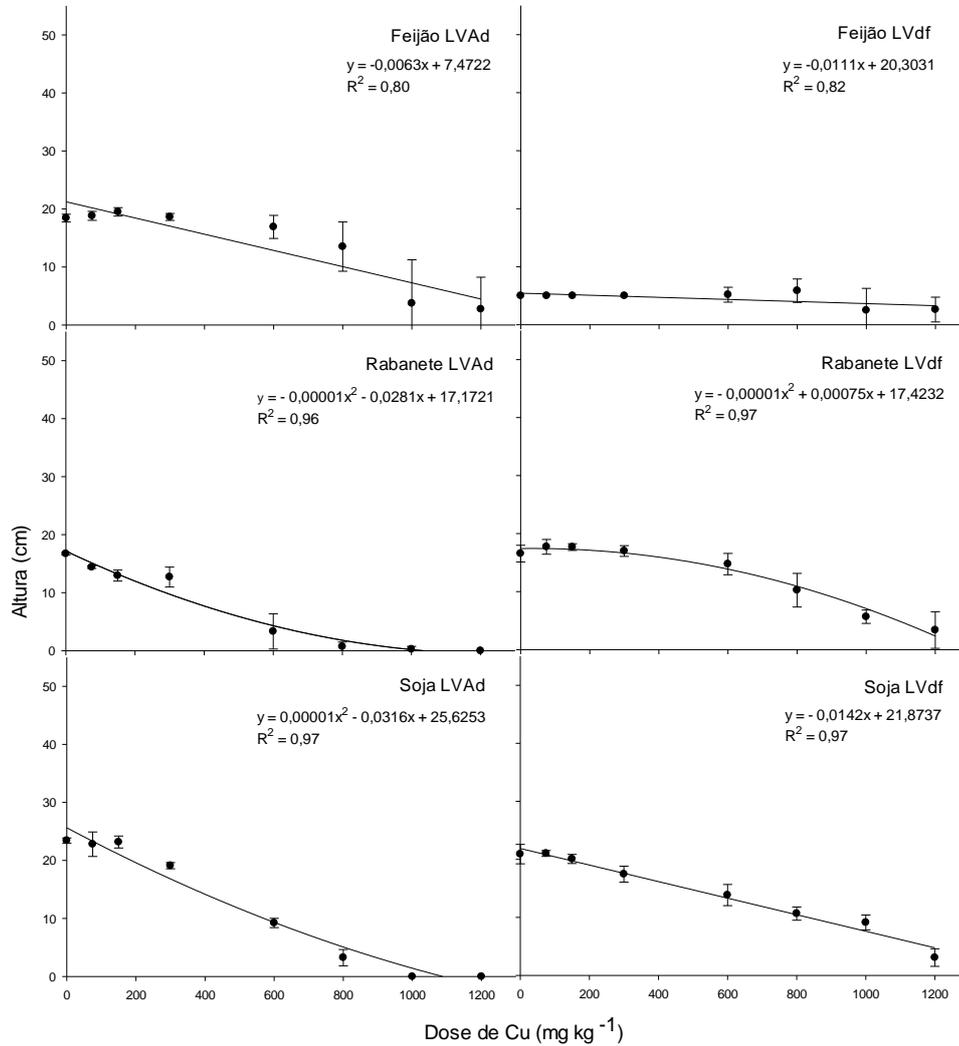
Figura 4 - Matéria seca da parte aérea das espécies feijão, rabanete e soja cultivadas no Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVAd) e Latossolo Vermelho distroférico (LVdf) com concentrações crescentes de Cu.



Legenda: As barras representam o desvio padrão da média (n=4).

Fonte: Do autor (Laboratório de Pedologia e Geoquímica Ambiental da UFLA), 2018.

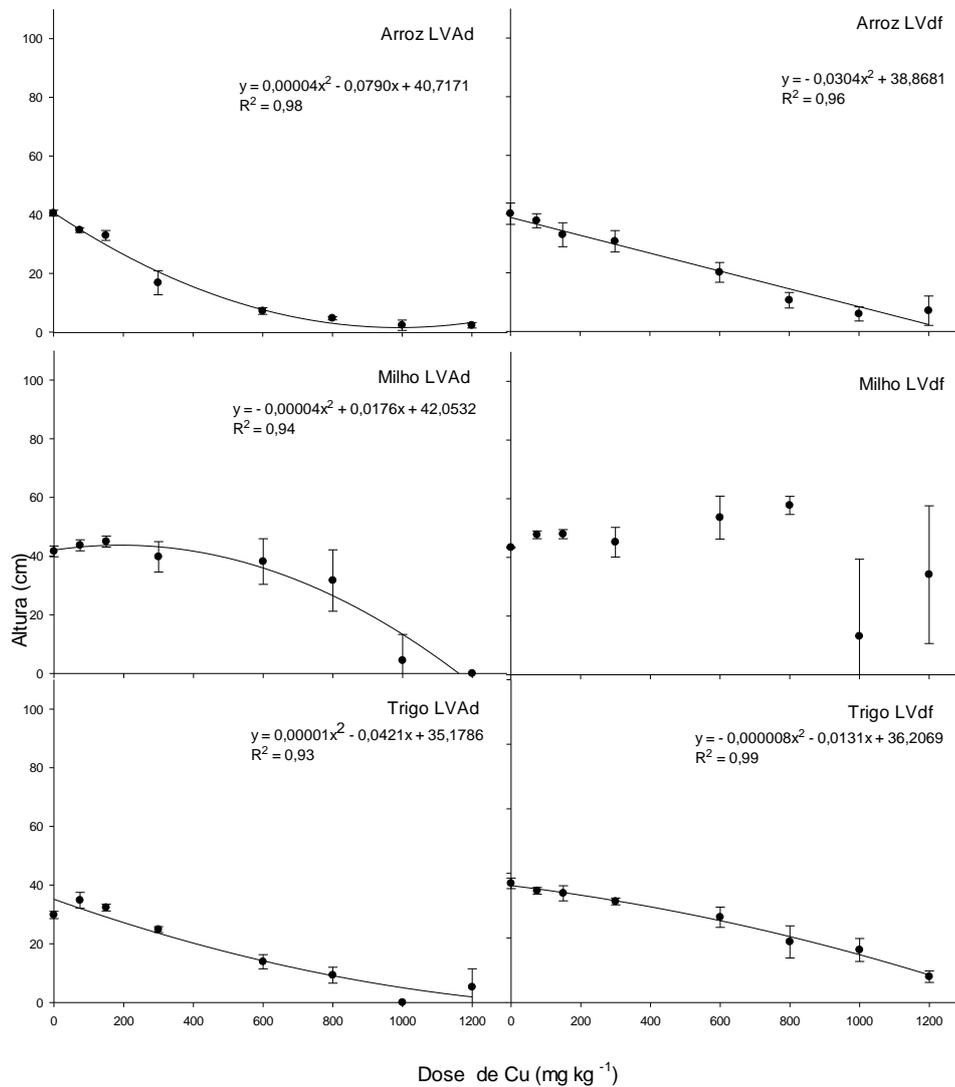
Figura 5 - Altura das espécies feijão, rabanete e soja cultivadas no Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVAd) e Latossolo Vermelho distroférico (LVdf) com concentrações crescentes de Cu.



Legenda: As barras representam o desvio padrão da média (n=4).

Fonte: Do autor (Laboratório de Pedologia e Geoquímica Ambiental da UFLA), 2018.

Figura 6 - Altura das espécies arroz, milho e trigo cultivadas no Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVAd) e Latossolo Vermelho distroférico (LVdf) com concentrações crescentes de Cu.

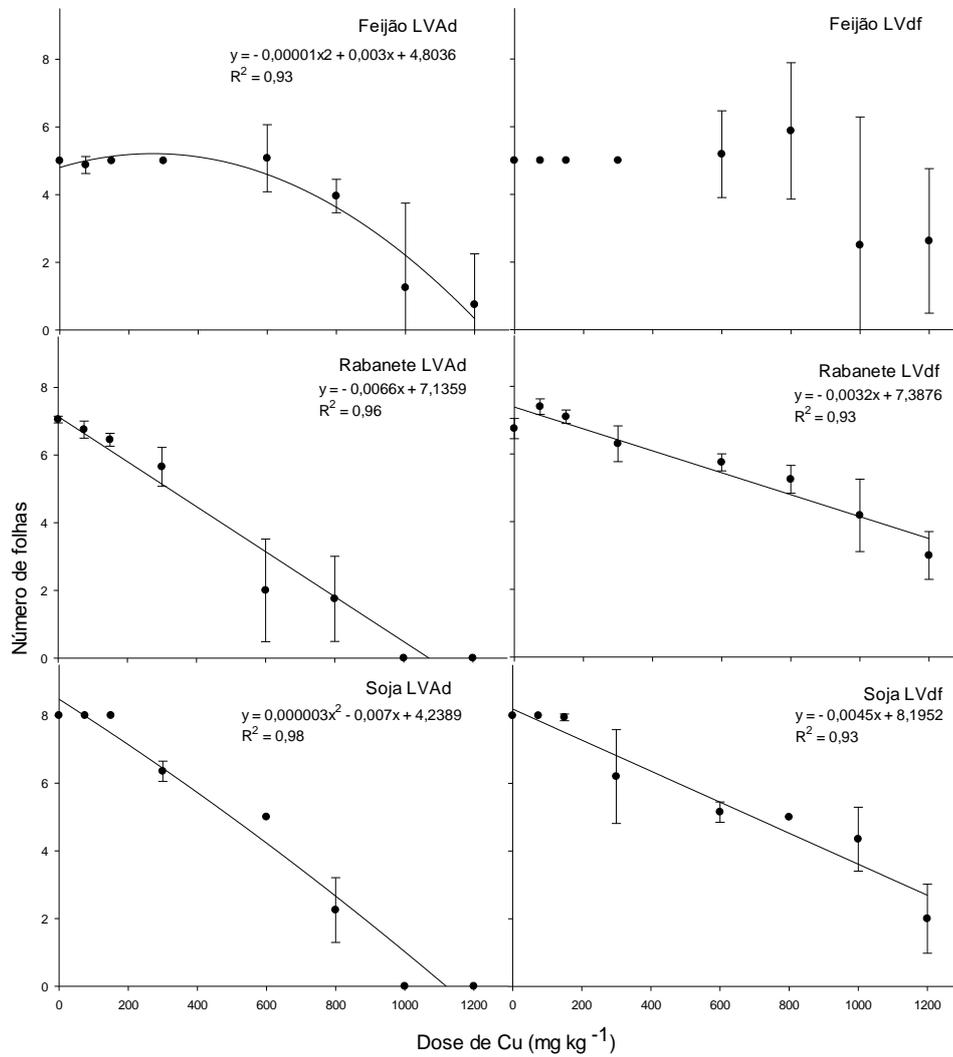


Legenda: As barras representam o desvio padrão da média (n=4).

Fonte: Do autor (Laboratório de Pedologia e Geoquímica Ambiental da UFLA), 2018.

O número de folhas apresentou decréscimo em algumas espécies com aumento das concentrações de Cu (Figuras 7 e 8). Porém, para milho, feijão e trigo cultivadas em LVdf, essa diminuição não foi tão acentuada nas maiores doses. Contudo, mesmo o número de folhas não tendo sido reduzido para essas três espécies, o tamanho da folha visualmente teve redução acentuada. O diâmetro do coleto também apresentou redução com o aumento das concentrações de Cu (Figura 9 e 10). Para a maioria das espécies, essa redução ocorreu a partir da concentração de 800 mg kg<sup>-1</sup>, indicando que essa variável não é afetada a baixas concentrações de Cu no solo.

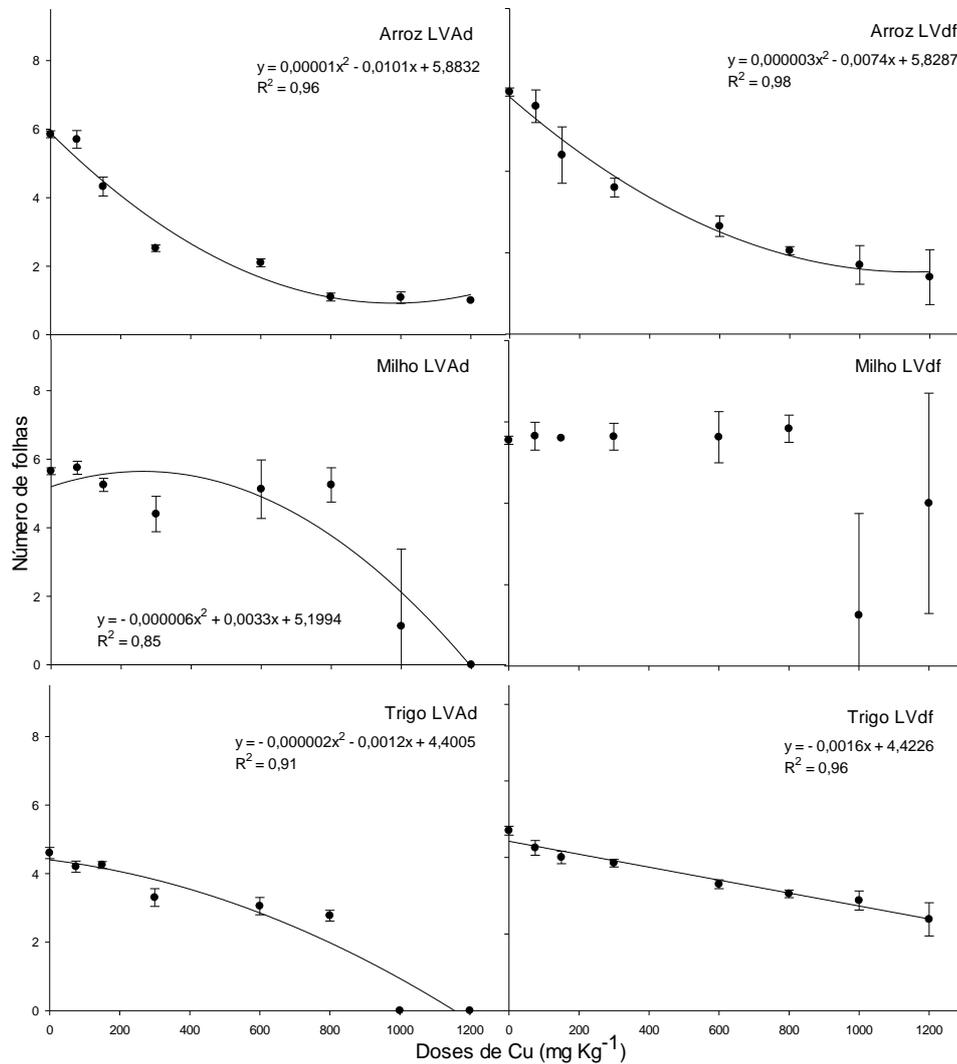
Figura 7 - Número de folhas das espécies feijão, rabanete e soja cultivadas no Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVAd) e Latossolo Vermelho distroférico (LVdf) com concentrações crescentes de Cu.



Legenda: As barras representam o desvio padrão da média (n=4).

Fonte: Do autor (Laboratório de Pedologia e Geoquímica Ambiental da UFLA), 2018.

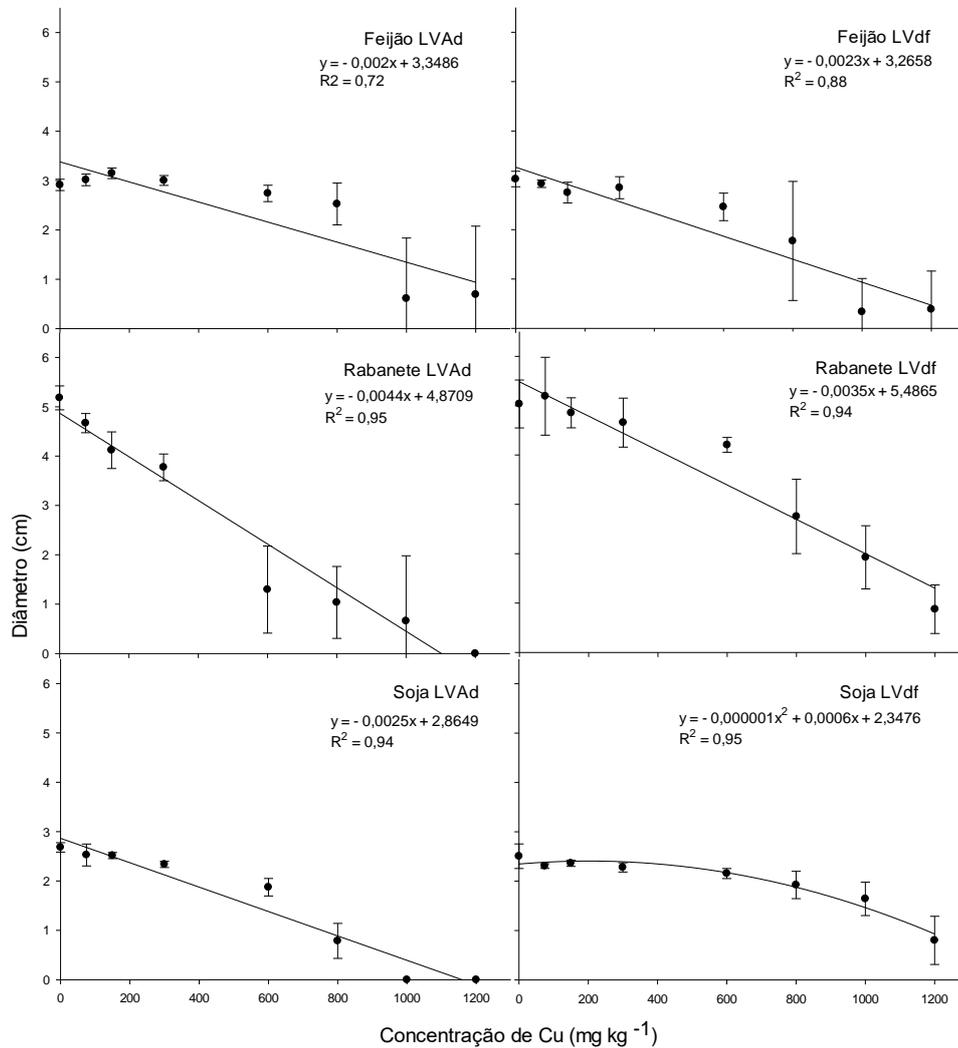
Figura 8 - Número de folhas das espécies arroz, milho e trigo cultivadas no Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVAd) e Latossolo Vermelho distroférico (LVdf) com concentrações crescentes de Cu.



Legenda: As barras representam o desvio padrão da média (n=4).

Fonte: Do autor (Laboratório de Pedologia e Geoquímica Ambiental da UFLA), 2018.

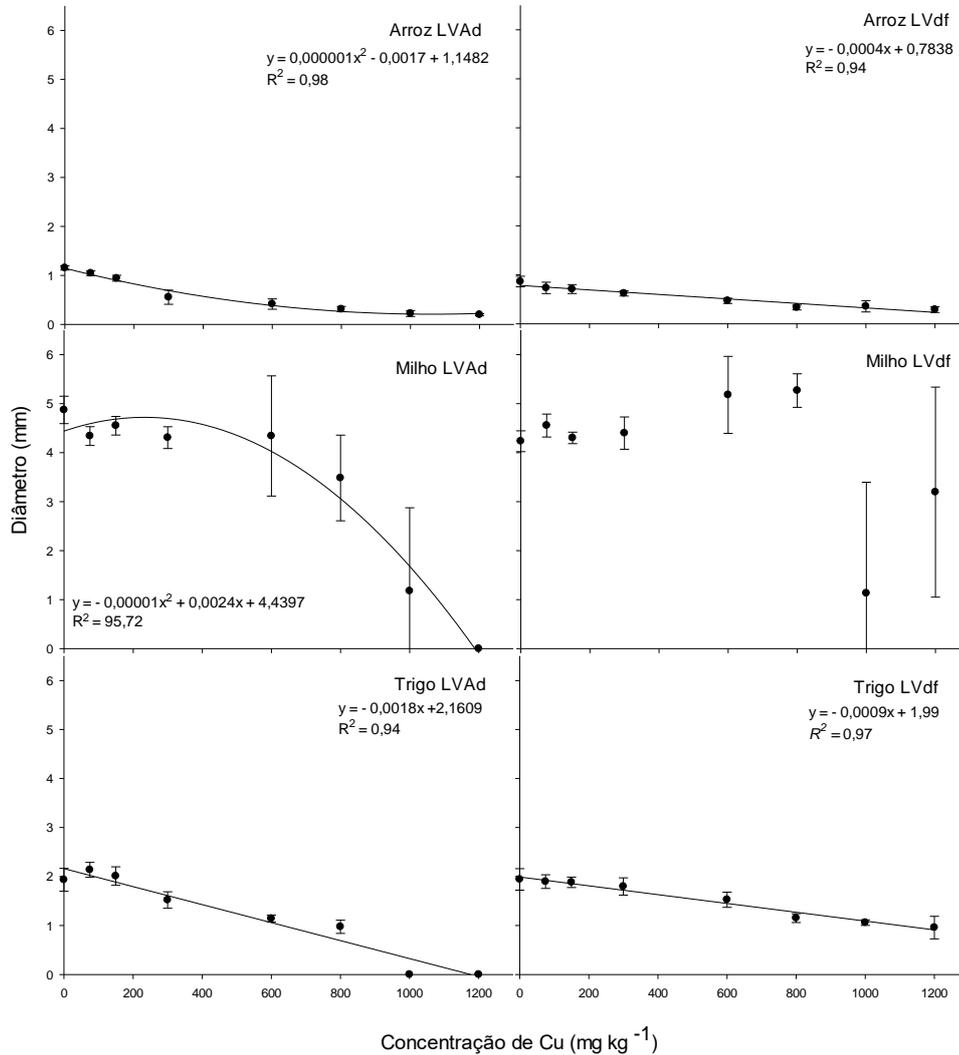
Figura 9 - Diâmetro do coleto das espécies feijão, rabanete e soja cultivadas no Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVAd) e Latossolo Vermelho distroférrico (LVdf) com concentrações crescentes de Cu.



Legenda: As barras representam o desvio padrão da média (n=4).

Fonte: Do autor (Laboratório de Pedologia e Geoquímica Ambiental da UFLA), 2018.

Figura 10 - Diâmetro do coeto das espécies arroz, milho e trigo cultivadas no Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVAd) e Latossolo Vermelho distroférico (LVdf) com concentrações crescentes de Cu.



Legenda: As barras representam o desvio padrão da média (n=4).

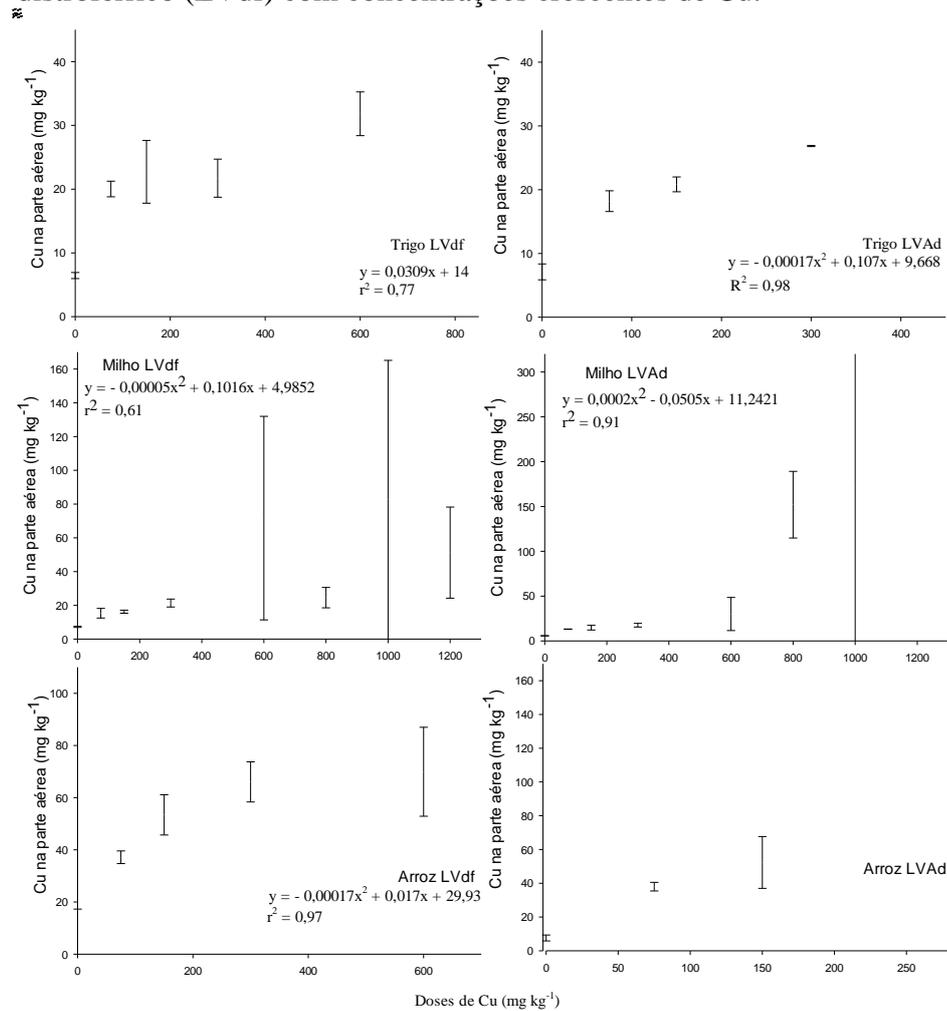
Fonte: Do autor (Laboratório de Pedologia e Geoquímica Ambiental da UFLA), 2018.

### 3.2 Quantificação do cobre na parte aérea

Em relação ao teor de Cu na parte aérea das espécies, a partir da concentração 300 mg kg<sup>-1</sup> observa-se maior teor de Cu na parte aérea, quando compara-se plantas cultivadas no LVAd em relação ao LVdf (Figura 11 e 12). Verifica-se que o teor de Cu na parte aérea para algumas espécies quase dobrou. Esse efeito provavelmente está ligado às características desse solo (LVAd) (Tabela 2), principalmente aos menores teores de argila e matéria orgânica presentes nesse solo, sendo esses os principais reguladores da CTC do solo, e consequentemente da capacidade tamponante do solo ao elemento-traço (NASCIMENTO; FONTES, 2004). Apesar de os teores ocorrerem acima da dose de 300 mg kg<sup>-1</sup>, a partir da

dose de  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  aproximadamente as plantas já sofrem efeitos negativos no crescimento, como pode ser confirmado por todas as variáveis avaliadas, segundo Kabata-Pendia e Szteke (2015) teores de 20 e  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  na MSPA já são considerado tóxico para algumas espécies (citros e leguminosas).

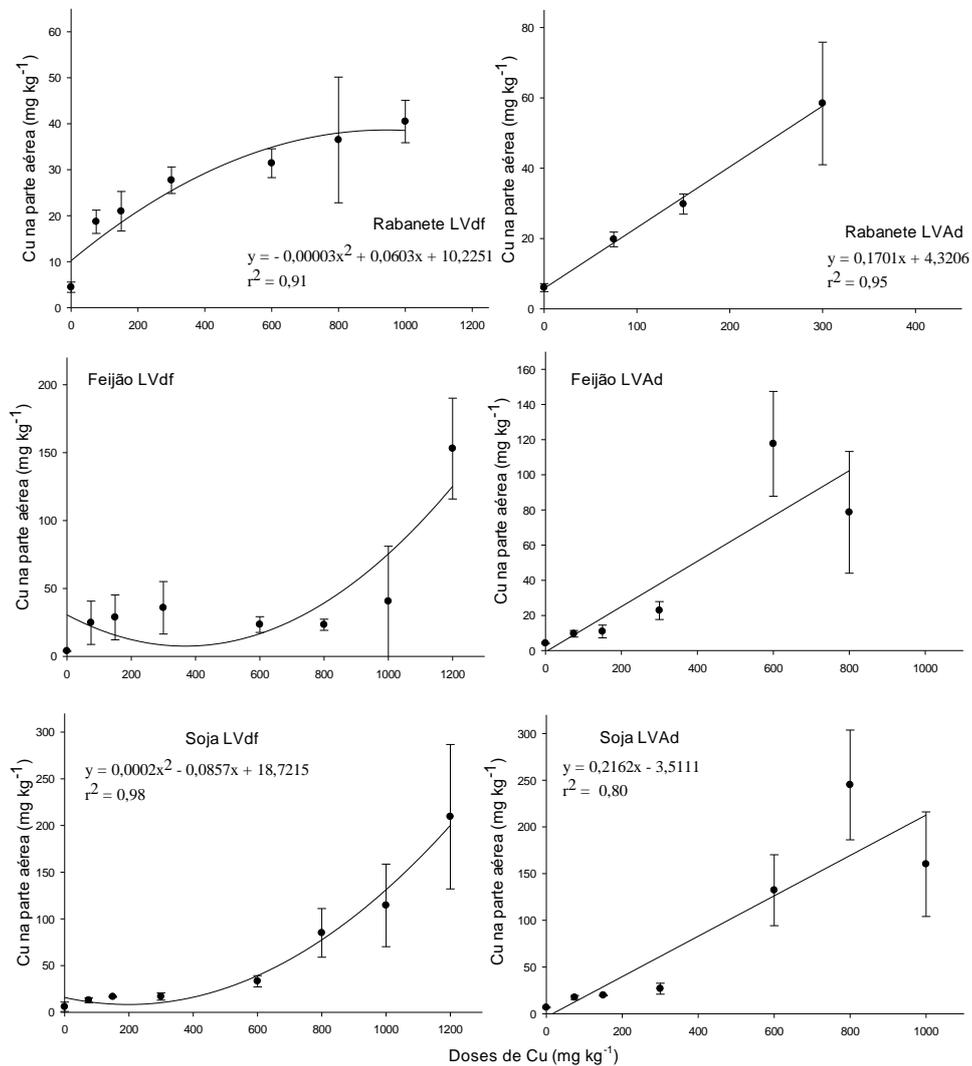
Figura 11 - Teor de Cu na parte aérea das espécies trigo, milho e arroz cultivadas no Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVAd) e Latossolo Vermelho distróférico (LVdf) com concentrações crescentes de Cu.



Legenda: As barras representam o desvio padrão da média (n=4).

Fonte: Do autor (Laboratório de Pedologia e Geoquímica Ambiental da UFLA), 2018.

Figura 12 - Teor de Cu na parte aérea das espécies rabanete, feijão e soja cultivadas no Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVAd) e Latossolo Vermelho distróférico (LVdf) com concentrações crescentes de Cu.



Legenda: As barras representam o desvio padrão da média (n=4).

Fonte: Do autor (Laboratório de Pedologia e Geoquímica Ambiental da UFLA), 2018.

### 3.3 Determinação do ECx

Os valores de ECx variaram amplamente entre os solos, culturas e variáveis analisado. Os valores de EC50 apresentaram-se entre 61 a 896 mg kg<sup>-1</sup> no LVAd entre 179 a 651 mg kg<sup>-1</sup> no LVdf, para emergência gerando uma amplitude de cerca de 15 e 4 vezes, respectivamente. Para o parâmetro MSPA, a variação foi de 270 a 635 mg kg<sup>-1</sup> no LVAd e 148 a 651 mg kg<sup>-1</sup> no LVdf, representando uma amplitude de 2 e 4 vezes, aproximadamente. Para EC20, a amplitude continuou alta para a emergência, cerca de 23 (LVdf) e 25 (LVAd) vezes. Para MSPA essa amplitude foi de 3 (LVdf) e 9 (LVAd) vezes. Para o EC10, a

amplitude na emergência foi cerca de 25 (LVdf) e 3 (LVAd) vezes e para MSPA foi de 3 (LVdf) e 19 (LVAd) vezes (Tabela 3).

Os dois parâmetros MSPA e emergência foram mais sensíveis à toxicidade do cobre. Porém a variável emergência, a variação foi muito elevada para as culturas, enquanto que para MSPA essa variação foi menor, indicando que o parâmetro MSPA além de sensível, tem uma menor variabilidade entre as espécies, e por conseguinte, pode acarretar em menor suposição que uma cultura é muito mais sensível que a outra, quando na verdade ao final do experimento, ambas apresentarem suscetibilidade a toxicidade do cobre em bastante próxima. Essa maior variação da variável emergência, pode estar relacionado com o vigor das sementes durante o processo de emergência, pois apesar de as sementes apresentarem uma alta porcentagem de emergência, no desenvolvimento inicial o vigor não é igual para todas as sementes, uma vez que é influenciado pelo mínimo que seja, no teor de reserva nutricional das diferentes sementes, o que ocasiona a alta variação nesse parâmetro. Esse efeito do vigor não persistirá até a produção final, uma vez que o potencial de absorção de nutrientes após a emergência até a colheita é próximo entre as plântulas (BEZERRA; MOMENTÉ; MEDEIROS FILHO, 2004; MARCOS FILHO; KIKUTI, 2006).

Menor variabilidade nos resultados de EC também foram observados para o solo LVdf. Tal resultado pode ser atribuído à maior CTC desse solo. De acordo com Rooney, Zhao e Mcgrath (2006) a CTC é uma das propriedades do solo que tem maior relação com toxicidade do Cu. Desse modo, para esse solo, o Cu ficou menos disponível às plantas e possivelmente foi o que ocasionou menor variabilidade nos resultados de EC.

As variáveis que apresentaram maior sensibilidade ao efeito do Cu, neste caso a MSPA e a emergência, são as variáveis sugeridas nos protocolos experimentais (ISO, 2013; OECD, 2006) para estudos fitotoxicológicos com substâncias tóxicas no solo. Os resultados das outras variáveis não se mostraram adequados, uma vez que são pouco sensíveis, o que pode superestimar os efeitos tóxicos do Cu às plantas.

Neste estudo, na obtenção dos valores de EC50, EC20 e EC10 (Tabela 2), foi observada menor sensibilidade das espécies monocotiledôneas (arroz, trigo e milho) em relação às eudicotiledôneas (feijão, soja e rabanete) ao excesso de Cu no solo.

Os dados de ecotoxicidade deste estudo atendem aos pressupostos quanto ao número mínimo de espécies necessárias para a construção de uma curva de distribuição de sensibilidade, alguns trabalhos consideram como sendo cinco (FRAMPTON et al., 2006) ou seis espécies (MALTBY et al., 2005). Foi determinada a distribuição de sensibilidade para a variável MSPA utilizando-se o valor de EC50. Vale ressaltar que quanto menor o valor do x

no ECx utilizado, menores serão as concentrações que ocasionam dano; Ou seja, os valores de EC20 e EC10 são mais restritivos que o valor de EC50 para um dado contaminante. Pode-se observar que a espécie mais afetada foi o arroz e as menos afetadas foram milho e feijão para as duas classes de solo (Figura 13).

Os valores de NOEC e LOEC são apresentados na (Tabela 5), seus valores são maiores do que aqueles calculados para EC50, indicando uma menor restrição do Cu em relação das variáveis avaliadas.



	Milho	635 (696 - 574)	254 (278 - 229)	127 (139 - 114)	0,93	534 (606 - 462)	412 (489 - 334)	373 (456 - 289)	0,95
	Arroz	270 (340 - 200)	92 (137 - 46)	45 (75 - 14)	0,96	148 (166 - 131)	61 (76 - 46)	34 (45 - 22)	0,98
MSPA	Trigo	597 (634 - 560)	239 (253 - 224)	119 (126 - 112)	0,97	303 (337 - 268)	129 (176 - 83)	112 (150 - 74)	0,98
	Soja	630 (688 - 571)	252 (275 - 228)	126 (137 - 114)	0,94	516 (557 - 475)	206 (222 - 190)	103 (111 - 95)	0,94
	Rabanete	610 (649 - 570)	244 (259 - 228)	122 (129 - 114)	0,96	188 (221 - 155)	54 (65 - 44)	21 (34 - 8,5)	0,97
	Feijão	335 (444 - 226)	150 (244 - 56)	88 (163 - 13)	0,92	651 (785 - 518)	478 (693 - 263)	390 (639 - 140)	0,84

---

Fonte: Dados do autor (2018)

Tabela 4 - Resultados dos NOEC e LOEC gerados a partir de testes fitotoxicológicos em plantas de milho, arroz, trigo, soja, rabanete e feijão cultivadas no Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVAd) e Latossolo Vermelho distroférico (LVdf) com concentrações crescentes de Cu.

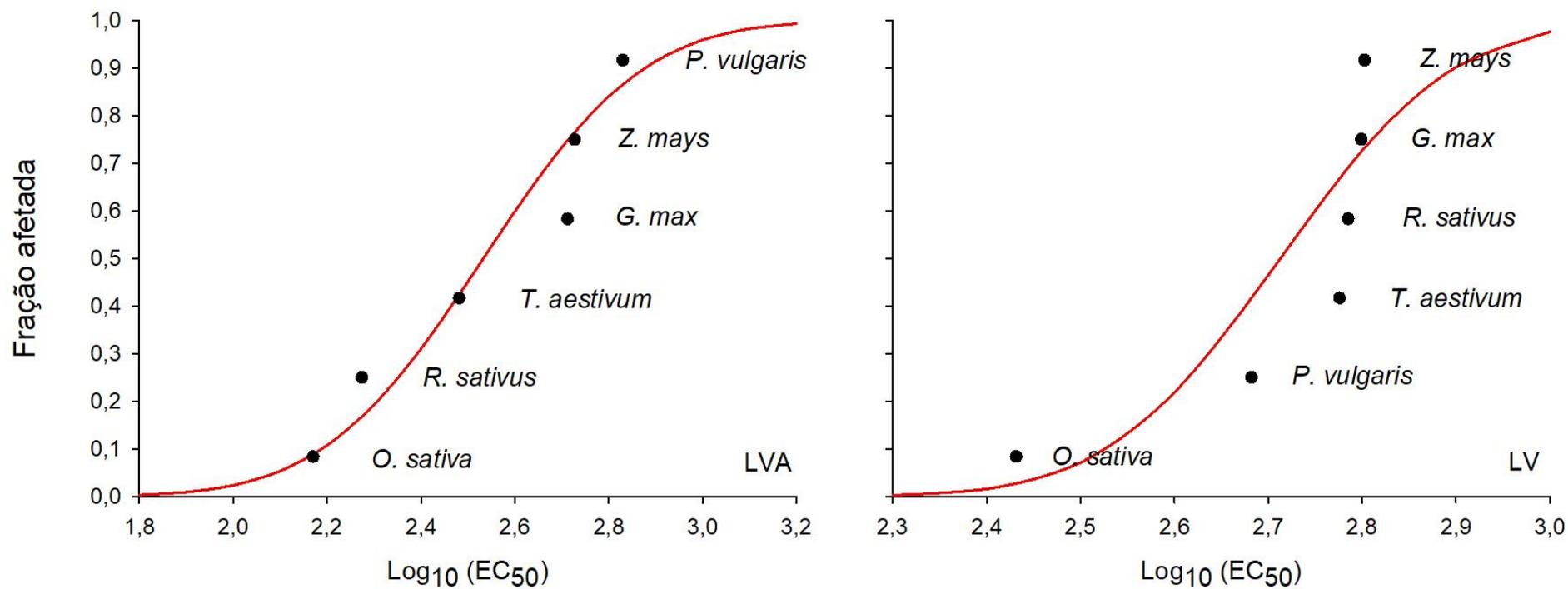
Solo	Espécie	I	MSPA	Altura	Folhas	Germinação	Diâmetro
LVdf	Milho	NOEC	300	-	-	150	-
		LOEC	600	-	-	300	-
	Arroz	NOEC	75	75	75	0	150
		LOEC	150	150	150	75	300
	Trigo	NOEC	150	150	0	300	300
		LOEC	300	300	75	600	600
	Soja	NOEC	300	150	150	600	-
		LOEC	600	300	300	800	-
	Rabanete	NOEC	150	600	300	300	600
		LOEC	300	800	600	600	800
LVAd	Feijão	NOEC	300	800	-	150	800
		LOEC	600	1000	-	300	1000
	Milho	NOEC	300	-	-	0	-
		LOEC	600	-	-	75	-
	Arroz	NOEC	-	0	75	150	75
		LOEC	-	75	150	300	150
	Trigo	NOEC	-	300	-	150	300
		LOEC	-	600	-	300	600
	Soja	NOEC	0	150	150	150	150
		LOEC	75	300	300	300	300
Rabanete	NOEC	-	-	-	150	-	
	LOEC	-	-	-	300	-	
Feijão	NOEC	300	800	-	800	800	

---

LOEC	600	1000	-	1000	1000
------	-----	------	---	------	------

Fonte: Dados do autor (2018)

Figura 13 - Distribuição da sensibilidade de espécies gerada a partir de EC50 de massa seca da parte aérea e para os solos LVAd e LVdf.



Fonte: Do autor (Laboratório de Pedologia e Geoquímica Ambiental da UFLA), 2018.

### 3.4 Determinação do HC5

Foram determinados os valores de HC5 para a variável MSPA (Tabela 4), por ser considerada a variável mais representativa a fitotoxidez do Cu. Os valores de HC5 mais que dobraram para o LVAd em relação ao LVdf, sendo assim, as características do solo tiveram um efeito significativo na magnitude dos valores de HC5 para as espécies.

Somente o valor de HC5 derivado a partir de EC10 para o LVAd (12,6 mg kg<sup>-1</sup>) (Tabela 6), quando somado ao VRQ do estado de Minas Gerais, mais próximo ao VP. Para os outros HC5 determinados, em ambas as classes de solo e para a média desses solos, o valor ficou mais acima do indicado pela legislação (CETESB, 2016; CONAMA, 2009; FUNDAÇÃO ESTADUAL DE MEIO AMBIENTE - FEAM, 2010). Isso indica que o valor em vigor de Cu no solo está sendo restritivo, não afetando a qualidade ambiental. Ao se fazer estudos em várias classes de solo, deve-se levar em consideração que solos com atributos mais restritivos a disponibilidade do elemento-traço, o VP pode ser mais permissivo, enquanto que para solo com atributos menos restritivos a disponibilidade do elemento-traço, o VP pode ser mais conservador.

Tabela 5 - Valores de HC5, para LVdf, LVAd e a média entre os dois solos em relação ao resultados de EC50, 20 e 10.

EC	HC5		
	LVdf	LVAd	LVdf + LVAd
	----- (mg kg <sup>-1</sup> ) -----		
EC50	250,5	116,6	183,6
EC20	93,3	31,6	62,5
EC10	48,2	12,6	30,4

Fonte: Dados do autor (2018)

#### 4 CONCLUSÕES

Com altas concentração de Cu no solo, verifica-se menor sensibilidade das espécies monocotiledôneas (arroz, trigo e milho) em relação às eudicotiledôneas (feijão, soja e rabanete), sendo que a espécie de arroz é a mais sensível e a de feijão a mais resistente.

Considerando o parâmetro EC50, EC20 e EC10 e os valores de HC5 para a concentração de Cu no LVAd e LVdf, pode-se observar alta influência dos atributos do solo sobre a disponibilidade de Cu nos diferentes solos. Todos os valores de HC5 quando somados ao VRQ, apresentaram valores acima do VP vigente para o estado de Minas Gerais.

## REFERÊNCIAS

- ALI, N. A.; BERNAL, M. P.; ATER, M. Tolerance and bio accumulation of copper in *Phragmites australis* and *Zea Mays*. **Plant and Soil**, The Hague, v. 239, n. 1, p. 103-111, 2002.
- ALLOWAY, B. J. **Heavy metals in soils: trace metals and metalloids in soils and their bioavailability**. Netherlands: Springer Netherlands, 2013. 614 p.
- ALMEIDA, B. G. et al. **Padronização de métodos para análise granulométrica no Brasil**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2012. 11 p. (Comunicado Técnico, 66).
- ALMEIDA, M. D. et al. Mercury loss from soils following conversion from forest to pasture in Rondônia, Western Amazon, Brazil. **Environmental Pollution**, Barking, v. 137, n. 2, p. 179-186, Sept. 2005.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 22. ed. Washington: APHA, 2012. 1496 p.
- ANDERSON, T. H.; DOMSCH, K. H. Application of eco-physiological quotients (qCO<sub>2</sub> and qD) on microbial biomasses from soils of different cropping histories. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v.22, n. 2, p. 251-255, 1990.
- BEZERRA, A. M. E.; MOMENTÉ, V. G.; MEDEIROS FILHO, S. Germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de moringa (*Moringaoleifera* Lam.) em função do peso da semente e do tipo de substrato. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 295-299, abr./jun. 2004.
- BONE, J. et al. Soil quality assessment under emerging regulatory requirements. **Environment International**, New York, v. 36, n. 6, p. 609-622, Aug. 2010.
- BRUN, L. A. et al. Relationships between extractable copper, soil properties and copper uptake by wild plants in vineyard soil. **Environmental Pollution**, Barking, v. 102, n. 2/3, p. 151-161, Aug. 1998.
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL - CETESB. Decisão de diretoria nº 256/2016/e, de 22 de novembro de 2016. Dispõe sobre a aprovação dos “Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo – 2016” e dá outras providências. **Diário Oficial do Estado de São Paulo**, São Paulo, 24 nov. 2016. p. 55-56.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. Acompanhamento da safra brasileira: safra 2015/2016. **Acompanhamento da Safra Brasileira**, Brasília, v. 3, n. 4, p. 1-77, 2016.
- Resolução nº 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**, Brasília, n. 249, p. 81-84, 30 dez. 2009.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. rev. e atual. Rio de Janeiro: Embrapa, 1997. 212 p.

ERNANI, P. R.; BARBIER, S. A. Composição da solução do solo e lixiviação de cátions afetados pela aplicação de cloreto e sulfato de cálcio em um solo ácido. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 10, p. 41-46, 1993.

FERREIRA, P. A. et al. Soil amendment as a strategy for the growth of young vines when replanting vineyards in soils with high copper content. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v. 126, p. 152-162, May 2018.

FOYER, C. H.; LELANDAIS, M.; KUNERT, K. Photooxidative stress in plants. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 92, n. 4, p. 696-717, Dec. 1994.

FRAMPTON, G. K. et al. Effects of pesticides on soil invertebrates in laboratory studies: a review and analysis using species sensitivity distributions. **Environmental Toxicology and Chemistry**. New York, v. 25, n. 9, p. 2480-2489, Sept. 2006.

FUNDAÇÃO ESTADUAL DE MEIO AMBIENTE - FEAM. **Mapa de solos do Estado de Minas Gerais**: legenda expandida. Belo Horizonte: FEAM, 2010. 49 p.

GHARBI, F. et al. Plant response to copper toxicity as affected by plant species and soil type. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 28, n. 3, p. 379-392, 2005.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 59, n. 2, p. 309-314, Feb. 1977.

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

GIROTTO, E. et al. Biochemical changes in black oat (*Avena strigosa* Schreb) cultivated in vineyard soils contaminated with copper. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v. 103, p. 199-207, June 2016.

Trigger end antioxidant defense mechanism in maize grown in soil with accumulation of Cu and Zn due to intensive application of pig slurry. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. Amsterdam, v. 93, p. 145-155, July 2013.

INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION. **ISO 11.269-2**: determination of the effects of pollutants on soil flora, part 2: effects of chemicals on the emergence and growth of higher plants. Geneve: ISO, 2013. 28 p.

JENSEN, J.; MESMAN, M. **Ecological risk assessment of contaminated land**: decision support for site specific investigations. New York: RIVM, 2006. 138 p.

KABATA-PENDIAS, A.; SZTEKE, B. **Trace elements in abiotic and biotic environments**. New York: CRC Press, 2015. 458 p.

LUCHESE, A. V. et al. Emergência e absorção de cobre por plantas de milho (*Zea mays*) em resposta ao tratamento de sementes com cobre. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 6, p. 1949-1952, nov./dez. 2004.

LUNA, C. M.; CASANO, I. M.; TRIPPI, V. S. Nitrate reductase is inhibited in leaves of *Tricuma esticum* treated with high levels of copper. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 101, n. 1, p. 103-108, Sept. 1997.

MALAVOLTA, E. **Manual de química agrícola: nutrição de plantas e fertilidade do solo**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. 528 p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. rev. e atual. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319 p.

MALTYBY, L. et al. Insecticide species sensitivity distributions: importance of test species selection and relevance to aquatic ecosystems. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 24, n. 2, p. 379-388, Feb. 2005.

MANTOVANI, A. **Composição química de solos contaminados por cobre: formas, sorção e efeito no desenvolvimento de espécies vegetais**. 2009. 165 p. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

MARCOS FILHO, J.; KIKUTI, A. L. P. Vigor de sementes de rabanete e desempenho de plantas em campo. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 28, n. 3, p. 44-51, dez. 2006.

MELO, V. F.; ALLEONI, L. R. F. (Ed.). **Química e mineralogia do solo: conceitos básicos**. Viçosa: SBCS, 2009. 695 p.

MENDES, A. M. S. et al. Acúmulo de metais pesados e alterações químicas em Cambissolo cultivado com meloeiro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 8, p. 791-796, 2010.

MINAS GERAIS. Conselho Estadual de Política Ambiental. Deliberação Normativa COPAM nº 116, de 27 de junho de 2008. Dispõe sobre a declaração de informações relativas à identificação de áreas suspeitas de contaminação e contaminadas por substâncias químicas no Estado de Minas Gerais. **Diário do Executivo**, Belo Horizonte, 28 jun. 2008.

Conselho Estadual de Política Ambiental. Deliberação Normativa COPAM nº 166, de 29 de junho de 2011. Altera o Anexo I da Deliberação Normativa Conjunta COPAM CERH nº 2 de 6 de setembro de 2010, estabelecendo os Valores de Referência de Qualidade dos Solos. **Diário do Executivo**, Belo Horizonte, 27 jul. 2011.

Conselho Estadual de Política Ambiental; Conselho Estadual de Recursos Hídricos. Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERHMG nº 02, de 08 de setembro de 2010. Institui o Programa Estadual de Gestão de Áreas Contaminadas, que estabelece as diretrizes e procedimentos para a proteção da qualidade do solo e gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por substâncias químicas. **Diário do Executivo**, Belo Horizonte, 29 dez. 2010.

MIRETZKY, P.; BISINOTI, M. C, JARDIM, W. F. Sorption of mercury (II) in Amazon soils from column studies. **Chemosphere**, Oxford v. 60, n. 11, p. 1583-1589, Sept. 2005.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v. 22, n. 5, p. 867-880, Aug. 1981.

NASCIMENTO, C. W. A.; FONTES, R. L. F. Correlação entre características de Latossolos e parâmetros de equações de adsorção de cobre e zinco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 28, n. 6, p. 965-971, nov./dez. 2004.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT - OECD. **Terrestrial plant test: seedling emergence and seedling growth test**. Paris: OECD, 2006. 21 p.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 905 p.

RIBEIRO, R. et al. A absorção de cobre por minhocas da espécie *Eisenia andrei* em solos e húmus contaminados. **Revista Destaques Acadêmicos**, Lajeado, v. 4, n. 4, p. 31-39, 2012.

ROCHELEAU, S. et al. Toxicity of 2, 4-dinitrotoluene to terrestrial plants in natural soils. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 408, n. 16, p. 3193-3199, July 2010.

ROONEY, C. P.; ZHAO, F. J.; McGRATH, S. P. Soil factors controlling the expression of copper toxicity to plants in a wide range of European soils. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 25, n. 3, p. 726-732, Mar. 2006.

SANTOS, H. P. et al. **Comportamento fisiológicos de plantas de aveia (*Avena strigosa*) em solos com excesso de cobre**. Bento Gonçalves: Embrapa, 2004. 11 p. (Comunicado Técnico, 49).

SILVA, J. P. S. et al. Heavy metals in soils and plants in mango orchards in Petrolina, Pernambuco, Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 36, n. 4, p. 1343-1354, jul./ago. 2012.

SILVA, R. F. et al. Comportamento de *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert, *Parapiptadenia rigida* (Benth) Brenan e *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong cultivadas em solo contaminado com cobre. **Revista Ciência Florestal**, v. 21, n. 1, p. 105-112, jan./mar. 2011.

Influência da contaminação do solo por cobre no crescimento e qualidade de mudas de açoite-cavalo (*Luehea divaricata* Mart. & Zucc.) e aroeira-vermelha (*Schinus molle* L. bin thifolius Raddi). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 21, n. 1, p. 111-118, jan./mar., 2011.

SINGH, D.; NATH, K.; SHARMA, Y. K. Response of wheat seed germination and seedling growth under copper stress. **Journal of Environmental Biology**, Muzaffarnagar, v. 28, Suppl. 2, p. 409-414, 2007.

SINGH, P.; KANWAR, R. S. Simulating NO<sub>3</sub>-N transport to subsurface drain flows as affected by tillage under continuous corn using modified RZWQM. **Agricultural and Biosystems Engineering**, Iowa, v. 38, n. 2, p. 499-506, 1995.

SPARLING, G. P. Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 30, n. 2, p. 195-207, 1992.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. São Paulo: Artmed, 2012. 954 p.

TOSELLI, M. et al. Response of potted grapevines to increasing soil copper concentration. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Adelaide, v. 15, n. 1, p. 85-92, Feb. 2008.

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - USEPA. **Method 3051A**: microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils; test methods for evaluating solid waste, physical/chemical methods. Washington: USEPA, 1998a. 20 p.

Guidelines for ecological risk assessment. **Risk Assessment Forum**, Washington, v. 63, n. 93, p. 26846-26924, May 1998b.

YRUELA, I. Copper in plants. **Brazilian Journal Plant Physiology**, Londrina, v. 17, n. 1, p. 145-146, jan./mar. 2005.

Copper in plants: acquisition, transport and interactions. **Functional Plant Biology**, Victoria, v. 36, n. 5, p. 409-430, May 2009.

ZENG, S. et al. A new model integrating short- and long-term aging of copper added to soils. **Plos One**, San Francisco, v. 12, n. 8, p. e0182944, Aug. 2017.