

MARTHA KATHARINNE SILVA SOUZA PAULINO

**DESEMPENHO DE *Atriplex nummularia* Lindl. NA FITOEXTRAÇÃO DE
METAIS PESADOS EM AMBIENTE SALINO**

RECIFE - PE

2024

MARTHA KATHARINNE SILVA SOUZA PAULINO

**DESEMPENHO DE *Atriplex nummularia* NA FITOEXTRAÇÃO DE METAIS
PESADOS EM AMBIENTE SALINO**

Tese apresentada a Universidade Federal Rural
de Pernambuco, como parte das exigências do
Programa de Pós - Graduação em Engenharia
Agrícola para obtenção do título de Doutorado
em Engenharia Agrícola.

Orientador:

Prof. Dr. Edivan Rodrigues de Souza

Co-Orientadores:

Dr^a. Cintia Maria Teixeira Lins

Prof. Dr. Clístenes Williams Araújo do Nascimento

RECIFE – PE

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

P328d Paulino, Martha Katharinne Silva Souza
Desempenho de *Atriplex nummularia* Lindl. na fitoextração de metais pesados em ambiente salino / Martha Katharinne Silva Souza Paulino. - 2024.
170 f. : il.

Orientador: Edivan Rodrigues de Souza.
Coorientador: Clistenes Williams Araujo do Nascimento.
Inclui referências e apêndice(s).

Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, , Recife, 2024.

1. fitorremediação. 2. erva sal. 3. salinidade. 4. chumbo. 5. cádmio. I. Souza, Edivan Rodrigues de, orient. II. Nascimento, Clistenes Williams Araujo do, coorient. III. Título

CDD

MARTHA KATHARINNE SILVA SOUZA PAULINO

**DESEMPENHO DE *Atriplex nummularia* NA FITOEXTRAÇÃO DE METAIS
PESADOS EM AMBIENTE SALINO**

Tese apresentada a Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte das exigências do Programa de Pós - Graduação em Engenharia Agrícola para obtenção do título de Doutorado em Engenharia Agrícola.

Banca Examinadora:

Orientador:

Prof. Dr. Edivan Rodrigues de Souza

Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

Examinadores:

Prof. Dr. Airon José da Silva

Universidade Federal de Sergipe – UFRPE

Profa Dra. Cláudia Ulisses de Carvalho Silva

Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

Prof. Dr. Ênio Farias de França e Silva

Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

Prof. Dr. Ygor Jacques Agra Bezerra Da Silva

Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

À minha amada filha Clarice Oliveira,
tudo mudou quando você chegou!
Ao meu porto seguro, minha família:
meu esposo: Filipe Cardoso; meus pais:
Geilza Paulino e Edimilson Paulino;
minhas irmãs: Martha Karolyne, Martha
Karinne e Martha Kamylla;
E a todos que contribuíram com este trabalho

DEDICO!

Agradecimentos

A Deus, pela sabedoria, sustento nos dias difíceis e por sua providência divina constante na minha vida. À nossa senhora das graças, por sempre ser luz guia e acolhimento.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), por ser casa ao longo desses onze anos e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola (PGEA). Gratidão a toda equipe docente, técnicos, por todo apoio e suporte a pesquisa desenvolvida.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) por apoiar e tornar possível a realização desta e de tantas outras pesquisas em todo país.

A minha filha amada Clarice Oliveira, por me mostrar o amor incondicional e me ensinar diariamente a grandeza das pequenas e simples coisas da vida. O mundo, definitivamente, está melhor desde que você chegou e se tornou o mundo pra mim!

Ao meu amado esposo Filipe Cardoso, que esteve comigo em todos os passos dessa caminhada, me dando forças quando eu mais precisava, sendo amigo, parceiro, incentivador, e um pai incrível, sem você na minha vida nada disso seria possível. Te amo!

A minha amada família: meus pais Geilza Paulino, Edimilson Paulino e minhas irmãs Martha Karolyne, Martha Karinne e Martha Kamylla por não medirem esforços em ser meu porto seguro, com amor, apoio incondicional e motivação. A vocês, sempre dedicarei tudo que sei, construí e quem eu sou.

A família que meu esposo me presenteou, meus sogros, Tereza Cristina e Fábio Cardoso por todo incentivo e apoio durante esta caminhada.

Ao meu amado amigo, Cícero Araújo – Nino, o presente mais especial que esse doutorado me deu, aquele que foi pilar essencial durante esses últimos anos, que chegou na minha vida para somar! Amigo, muito obrigada por tudo, pela amizade, pelo suporte físico e emocional, por tornar os dias mais especiais e leves, mesmo aqueles em que dávamos, literalmente, o sangue! Mas, obrigada principalmente, por me deixar fazer parte da sua vida! Você é incrível! Te amo!

Aos meus grandes amigos e irmãos do coração: Cintia Lins, Danilo Monteiro, Lucas Yago, Hidelblandi Melo e Pablo Dourado que me acompanharam em toda jornada acadêmica, sendo referências. Obrigada por mesmo longe, estarem sempre por perto, obrigada pelo amor, carinho, incentivo e auxílio de sempre! Eu amo vocês!

Ao meu orientador, Edivan Rodrigues de Souza, por me acompanhar em toda a minha trajetória acadêmica, pela disponibilidade, dedicação, incentivo, pela confiança e suporte durante todos esses anos, muito obrigada professor!

Ao Grupo de Pesquisa de Ecofisiologia de Plantas Cultivadas em Solos sob Estresses Abióticos, o qual faço parte: Francisco Ernesto, Alfredo Nunes, Fabiano Simplicio e Steffany Daiana pela amizade, conhecimentos compartilhados e todo apoio a pesquisa. E em especial, aos alunos de Iniciação Científica: Diana Honorato, Allef Rodrigues e Wellinton Gonçalves pela amizade, parceria e por todo auxílio para a realização dessa pesquisa, muito obrigada!

Aos meus coorientadores: Cintia Lins, pela irmandade, apoio, incentivo e por todo aprendizado durante minha trajetória acadêmica. Clístenes Nascimento por todo apoio a pesquisa, disponibilidade e a toda sua equipe Laboratório de Química Ambiental - DEPA/UFRPE: Simone Lins, Adriana Souza, Fernando Bruno, Venâncio Veloso e Luiz Henrique.

As amigas que o programa de Engenharia Agrícola me deu, que levarei sempre comigo: Brenna Veríssimo e Maria Catiana obrigada pela parceria e carinho de sempre. A Martiliana Freire, obrigada por todos esses anos ser amiga, parceira, ouvinte e compartilhadora de conhecimento, amo você!

A Profa. Claudia Ulisses, pelo suporte e disponibilidade de sempre, juntamente com toda sua equipe do Laboratório de Fisiologia de Plantas – DB/UFRPE, em especial: Larisse Pereira e Henarmmany de Oliveira.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo da UFRPE, pela parceria e todo apoio a esta pesquisa, em especial ao Laboratório de Física do Solo – DEPA/UFRPE, pelo acolhimento.

A Cínthia Carla, pela amizade, apoio e auxílio a pesquisa. A André Padilha pela presteza e auxílio.

Aos meus queridos amigos Ana Karolina Peres e Alexandre Santana por toda amizade, parceria e apoio ao longo desses anos, muito obrigada!

Aos meus amados amigos José Neto, Pedro Alves e Petrúcio Almeida pelo carinho, amizade e por se fazerem sempre presentes, amo vocês!

Biografia

Martha Katharinne Silva Souza Paulino, filha de Geilza Silva Souza Paulino e Edimilson Paulino da Silva, nasceu em Arcoverde - PE, em 05 de outubro de 1994. Cursou todo o ensino básico na sua cidade natal e ensino médio na então Escola SESC de Ensino Médio (ESEM) no Rio de Janeiro/RJ. Em 2013.2, ingressou no curso de Bacharelado em Engenharia Agrícola e Ambiental na Universidade Federal Rural de Pernambuco, Capus SEDE, na cidade de Recife/PE, no qual integrou o Grupo de Pesquisa Ecofisiologia de plantas cultivadas em solo sob estresses abióticos, participando do Programa de Iniciação Científica (PIC) (2015-2016) e Programa de Extensão (2016-2017). Fez parte da equipe multidisciplinar como estagiária na Empresa de Projetos Biodinâmicos-EMPROBIO (2017) e como auxiliar de apoio a gestão do Programa Água Doce (PAD) junto a Secretaria de Desenvolvimento Agrário de Pernambuco na Empresa Ambientalis Engenharia (2017-2018), concluindo o curso de bacharelado em 2017.2.

Em março de 2018.1 iniciou o Mestrado Acadêmico no Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola na Universidade Federal Rural de Pernambuco, Capus SEDE - Recife/PE, o qual foi concluído em 2020.1 com a defesa de dissertação intitulada: “Função dos tricomas vesiculares na tolerância à salinidade em *Atriplex nummularia*”, cujo produto desta foi publicada na revista *Plant Physiology and Biochemistry* ainda no ano de 2020 com artigo intitulado: *Influence of vesicular trichomes of Atriplex nummularia on photosynthesis, osmotic adjustment, cell wall elasticity and enzymatic activity*.

Em março de 2020 também iniciou o curso Doutorado Acadêmico no Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola na Universidade Federal Rural de Pernambuco, Capus SEDE - Recife/PE, o qual foi concluído em 2024.1. Durante o doutorado, continuou seus estudos com a espécie *Atriplex nummularia*, porém com um novo desafio ambiental, os metais pesados. Todas estas etapas culminaram na defesa da Tese, intitulada “Desempenho de *Atriplex nummularia* Lindl. na fitoextração de metais pesados em ambiente salino”, que ocorreu em junho de 2024.

PAULINO, MARTHA KATHARINNE SILVA SOUZA. (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal Rural de Pernambuco. Julho de 2024. **Desempenho de *Atriplex nummularia* na fitoextração de metais pesados em ambiente salino.**

Orientador: Prof. Dr. Edivan Rodrigues de Souza

Co-orientadores: Dr^a. Cintia Maria Teixeira Lins

Prof. Dr. Clístenes Williams Araújo do Nascimento

RESUMO GERAL

A indicação de halófitas em processos de recuperação de solos salinos contaminados por metais pesados tem sido frequente, uma vez que a presença de sais pode influenciar na mobilidade de metais e tolerância dessas espécies. Assim, esta pesquisa tem por objetivo avaliar o potencial da espécie *A. nummularia* Lindl. na fitoextração dos metais Cd e Pb na presença de salinidade, verificando também a influência do NaCl na tolerância e acúmulo destes metais. Para isso, foram realizados dois experimentos, para cada elemento avaliado. No experimento (EXP I) foi avaliada a performance da *A. nummularia* Lindl. quanto à tolerância e acumulação de Cd e Pb em seis concentrações distintas, sendo 0, 10, 20, 30, 40 e 50 mg kg⁻¹ para o Cd e 0, 100, 150, 200, 250 e 300 mg kg⁻¹ para o Pb. As plantas foram cultivadas em dois solos: Luvisso de caráter Salino (LS) e Luvisso de caráter Não Salino (LNS), em delineamento em blocos casualizados e esquema fatorial 6 x 2 com quatro repetições. O segundo experimento (EXP II) foi desenvolvido a partir dos resultados obtidos no EXP I, em que selecionou-se a maior dose do metal que apresentou maior Biomassa Seca da Parte Aérea (BMS_{PA}) no LS em relação ao LNS e, aliado a isto, foram acrescentados níveis de salinidade através da adição de NaCl via água de irrigação em cinco concentrações distintas (0, 50, 100, 150 e 200 mmol L⁻¹), para avaliar a influência das concentrações salinas na absorção e tolerância da espécie aos metais pesados. Foram adotadas, em ambos os experimentos, uma série de parâmetros fisiológicos para verificar o desempenho da espécie (tolerância e fitoextração), tais como: relações hídricas (potencial hídrico, osmótico, pressão, teor relativo de água, ajustamento osmótico), anatômicas (densidade de tricomas) avaliação fotossintética (fotossíntese líquida, condutância estomática, transpiração e eficiência do uso da água, fluorescência da clorofila) e teor de metais (Cd e Pb) e solutos inorgânicos nos tecidos foliares e nas vesículas (Na⁺, K⁺, Cl⁻). Os experimentos com o Cd revelaram que a espécie apresenta capacidade de acumular Cd, sendo uma potencial candidata para processos de fitoestabilização, e na presença de salinidade para processos de fitoextração. O estudo também indicou que os tricomas vesiculares acumulam Cd auxiliando no desenvolvimento da espécie em solo contaminado e a dose de 30 mg kg⁻¹ de Cd seria a dose limiar beneficiada pela presença de salinidade. A maior densidade de tricomas vesiculares foi observada em solo salino com Cd, acumulando simultaneamente os íons de Na⁺, Cl⁻ e Cd, indicando que essas estruturas não possuem uma rígida seletividade. Os experimentos com o Pb, mostraram que a *A. nummularia* Lindl. conseguiu sobreviver até o final dos experimentos e acumulou Pb em seus tecidos vegetais, apresentando acúmulo máximo (LNS = 52,32 kg⁻¹ e LS = 29,03 kg⁻¹) na dose de 300 mg kg⁻¹ de Pb aplicada ao ambiente de cultivo, tanto nas plantas cultivadas no LNS quanto do LS apresentando potencial para programas de fitoextração. Os tricomas vesiculares não foram capazes de excluir o Pb. As crescentes doses de NaCl combinadas com Pb estimularam o desenvolvimento de tricomas vesiculares, porém, reduziram a biomassa e as trocas gasosas, atribuindo esse resultado à possível toxidez causada pelo Pb.

Palavras-chave: halófitas; erva sal; fitorremediação; salinidade; cádmio; chumbo.

PAULINO, MARTHA KATHARINNE SILVA SOUZA. MSc. Rural Federal University of Pernambuco. 2024 June. **Performance of *Atriplex nummularia* in the phytoextraction of heavy metals in saline environment.**

Advisor: Prof. Dr. Edivan Rodrigues de Souza

Co-advisors: Dr^a. Cintia Maria Teixeira Lins

Prof. Dr. Clístenes Williams Araújo do Nascimento

GENERAL ABSTRACT

The use of halophytes in recovery processes for saline soils contaminated by heavy metals has been frequent because the presence of salts can influence the mobility of metals and tolerance. Therefore, this research aims to evaluate the potential of the species *A. nummularia* Lindl. Lindl. for phytoextraction of the metals Cd and Pb in the presence of salinity, also verifying the influence of NaCl on the tolerance and accumulation of these metals for this species. Two experiments were carried out for each of the elements evaluated. In a first experiment (EXP I), the performance of *A. nummularia* Lindl. Lindl was evaluated in terms of tolerance and accumulation of Cd and Pb in six different concentrations, for the Cd being 0, 10, 20, 30, 40 and 50 mg kg⁻¹, and for the Pb 0, 100, 150, 200, 250 and 300 mg kg⁻¹. The plants were grown in two soils: Saline Luvisols (SL) and Non-Saline Luvisols (NSL), in a randomized block design and a 6 x 2 factorial design with four replications. The second experiment (EXP II) was developed based on the results obtained in EXP I, in which the highest dose of the metal that presented the highest Dry Biomass of the Aerial Part (DBMAP) in the SL in relation to the NSL was selected and, combined with this, salinity levels were increased by adding NaCl via irrigation water in five different concentrations (0, 50, 100, 150 and 200 mmol L⁻¹), to evaluate the influence of saline concentrations on the species' absorption and tolerance to heavy metals. In both experiments, a series of physiological parameters were adopted to verify the performance of the species (tolerance and phytoextraction), such as: water relations (water potential, osmotic, pressure, relative water content, osmotic adjustment), anatomical (trichome density), metals (Cd and Pb) and inorganic solutes contents in leaf tissues and vesicles (Na⁺, K⁺, Cl⁻). Experiments with Cd revealed that the species has the capacity to accumulate it in its plant tissues, being a potential candidate for phytostabilization processes, and in the presence of salinity for phytoextraction processes. The study also indicated that a dose of 30 mg kg⁻¹ of Cd would be the threshold dose benefited by salinity and that vesicular trichomes accumulate Cd, helping in the development of the species in contaminated soil. The highest density of vesicular trichomes was observed in saline soils treated with Cd, simultaneously accumulating Na⁺, Cl⁻ and Cd ions, indicating that these structures do not have strict selectivity. The experiments with Pb showed that *A. nummularia* Lindl. accumulated Pb in its plant tissues, presenting a maximum level (NSL = 52,32 kg⁻¹ e SL = 29,03 kg⁻¹) at a dose of 300mg kg⁻¹ of Pb applied to the cultivation environment, both in plants cultivated in the NSL and SL, presenting potential for phytoextraction processes. Vesicular trichomes were not able to exclude Pb and increasing doses of NaCl combined with Pb stimulated the density of vesicular trichomes, but reduced biomass and gas exchange, attributing this result to potential toxicity caused by Pb.

Keywords: halophyte, saltbush, salinity, trichomes.

SUMÁRIO

REVISÃO DE LITERATURA

1. INTRODUÇÃO GERAL	16
RESUMO GERAL	1
GENERAL ABSTRACT	2
1. INTRODUÇÃO GERAL	16
2. REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 Estresses abiótico em plantas	18
2.1.1 Salinidade	18
2.1.2 Metais pesados	19
2.1.2.1. Cádmio	20
2.1.2.2. Chumbo	21
2.2 Contaminação simultânea (Salinidade + Metais Pesados) no solo.....	22
2.3. Plantas halófitas na fitorremediação de metais pesados na presença de salinidade	23
2.4 <i>Atriplex nummularia</i> Lindl.	26
3. HIPÓTESES.....	31
4. OBJETIVO GERAL.....	31
5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
6. REFERÊNCIAS	32

CAPÍTULO II

USO DE *Atriplex nummularia* NA FITORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS POR CÁDMIO NA PRESENÇA DE SALINIDADE

RESUMO	40
ABSTRACT	41
2. MATERIAL E MÉTODOS	44
2.1. Localização e caracterização do ambiente experimental.....	44
2.2. Caracterização dos solos e layout das unidades experimentais	44
2.3.1. Delineamento experimental e tratamentos	46
2.3.2. Análise de dados.....	46
2.4. Cultivo da <i>Atriplex nummularia</i>	47
2.6. Manejo da água	48

2.6. Avaliações biométricas (Determinação da biomassa fresca e Seca da parte aérea, raiz e área foliar)	49
2.7. Concentração de metais e solutos inorgânicos na planta.....	49
2.7.1. Remoção dos tricomas e medição das concentrações de Na^+ , K^+ e Cd	50
2.7.2. Concentração de metais nos tecidos do foliares	50
2.8.4. Microscopia de varredura eletrônica da superfície da folha e concentração de metais nos tricomas	51
2.9. Densidade de tricomas.....	52
2.10 Avaliações das relações hídricas.....	53
2.10.1 Potencial Hídrico (Ψ_w).....	53
2.10.2 Potencial Osmótico (Ψ_o)	53
2.10.3 Potencial de Pressão (Ψ_p).....	54
2.10.4 Construção da Curva Pressão-Volume (Curva PV)	54
2.10.4.1 Potencial osmótico a pleno turgor (Ψ_o^{100}) e Ajuste osmótico	55
2.10.4.2 Potencial osmótico a pleno turgor obtido por osmometria.....	55
2.10.4.3 Potencial osmótico a pleno turgor obtido por Curva PV	56
2.10.4.4 Cálculo do Ajuste Osmótico.....	56
2.10.5 Módulo de elasticidade.....	56
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57
3.1. Avaliações do Experimento I.....	57
3.1.1. Avaliações biométricas	57
3.1.1.1. Biomassa fresca (BMF_{PA}) e seca (BMS_{PA}) da parte aérea, Área foliar (AF) e Biomassa fresca (BMF_{R}) e seca (BMS_{R}) da raiz.....	57
3.1.1.2. Avaliações das Relações Hídricas	62
3.1.1.2.1. Potencial Hídrico Foliar (Ψ_w), Potencial Osmótico (Ψ_o) e Potencial de Pressão (Ψ_p).....	62
3.1.1.2.2. Parâmetros da Curva Pressão Volume (Curva PV).....	65
3.1.1.3. Avaliações dos Solutos Inorgânicos Experimento I.....	68
3.1.1.3.1. Teor de Sódio (Na^+_{PA}), Cloro (Cl^-_{PA}), Potássio (K^+_{PA}) e Cádmio (Cd_{PA}) na Parte Aérea, Teor de Cádmio (Cd_{R}) na Raiz e Fator de Translocação (FT) do Experimento I	68
3.1.1.3.2. Caracterização e Densidade de Tricomas (DT).....	74
3.1.1.3.3. Teor de Sódio (Na^+_{VES}), Cloro (Cl^-_{VES}), Potássio (K^+_{VES}) e Cádmio (Cd_{VES}) na Vesícula.....	80
3.2. Avaliações do Experimento II	83
3.2.1. Dose de Cd escolhida e Condutividade elétrica do extrato de saturação final	83
3.2.2. Avaliações Biométricas	84
3.2.2.1. Biomassa fresca (BMF_{PA}) e seca (BMS_{PA}) da parte aérea.....	84
3.2.3. Avaliações das Relações Hídricas	86

3.2.3.1. Potencial Hídrico Foliar (Ψ_w), Potencial Osmótico (Ψ_o) e Potencial de Pressão (Ψ_p).....	86
3.2.3.2. Parâmetros da Curva Pressão Volume (Curva PV).....	88
3.2.3.3. Ajuste Osmótico por osmometria ($AO_{osmometria}$) e Curva PV ($AO_{curva\ PV}$)	90
3.2.4. Densidade de tricomas, Teor de Sódio (Na^+_{PA}), Cloro (Cl^-_{PA}), Potássio (K^+_{PA}) e Cádmio (Cd_{PA}) na Parte Aérea e Teor de Sódio (Na^+_{VES}), Cloro (Cl^-_{VES}), Potássio (K^+_{VES}) e Cádmio (Cd_{VES}) na Vesícula do Experimento II	91
4. CONCLUSÃO.....	101
5. REFERÊNCIAS	102

CAPÍTULO III

FITORREMEDIAÇÃO DE CHUMBO POR *Atriplex nummularia* EM AMBIENTE SALINO

RESUMO	109
ABSTRACT	110
1. INTRODUÇÃO	111
2. MATERIAL E MÉTODOS	113
2.2. Caracterização dos solos e layout das unidades experimentais	113
2.3. Delineamento experimental e tratamentos	114
2.4. Cultivo da <i>Atriplex nummularia</i>	115
2.5. Manejo da água	115
2.6. Avaliações biométricas (Determinação da biomassa fresca e Seca da parte aérea, raiz e área foliar)	116
2.7. Concentração de metais e solutos inorgânicos na planta.....	116
2.7.1. Remoção dos tricomas e medição das concentrações de Na^+ , K^+ e Pb.....	117
2.7.2. Concentração de metais nos tecidos do foliares	117
2.8.4. Microscopia de varredura eletrônica da superfície da folha e concentração de metais nos tricomas	117
2.9. Densidade de tricomas.....	118
2.10 Avaliações das relações hídricas.....	118
2.10.1 Potencial Hídrico (Ψ_w).....	118
2.10.2 Potencial osmótico (Ψ_o)	119
2.10.3 Potencial de Pressão (Ψ_p).....	119
2.10.4 Construção da Curva Pressão-Volume (Curva PV).....	119
2.10.4.1 Potencial osmótico a pleno turgor (Ψ_o^{100}) e Ajuste osmótico	120
2.10.4.2 Potencial osmótico a pleno turgor obtido por osmometria	120
2.10.4.3 Potencial osmótico a pleno turgor obtido por Curva PV	120
2.10.4.4 Cálculo do Ajuste Osmótico	121

2.10.5 Módulo de elasticidade	121
2.10.6. Teor Relativo de Água (TRA)	121
2.11 Avaliações fotossintéticas.....	122
2.11.1 Trocas Gasosas foliares	122
2.11.2 Fluorescência da Clorofila <i>a</i>	122
2. 12. Análise de dados.....	122
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	124
3.1. Avaliações do Experimento I.....	124
3.1.2. Biomassa fresca (BMF _{PA}) e seca (BMS _{PA}) da parte aérea, Área foliar (AF) e Biomassa fresca (BMF _R) e seca (BMS _R) da raiz.....	124
3.1.3. Avaliações das Relações Hídricas	127
3.1.3.1. Potencial Hídrico Foliar (Ψ_w), Potencial Osmótico (Ψ_o) e Potencial de Pressão (Ψ_p).....	127
3.1.3.2. Parâmetros da Curva Pressão Volume (Curva PV).....	130
3.1.4. Avaliações fotossintéticas.....	132
3.1.5. Avaliações dos Solutos Inorgânicos	133
3.1.5.1. Teor de Sódio (Na ⁺ _{PA}), Cloro (Cl ⁻ _{PA}), Potássio (K ⁺ _{PA}) e Chumbo (Pb _{PA}) na Parte Aérea, Teor de Chumbo (Pb _R) na Raiz e Fator de Translocação (FT)	133
3.1.5.2. Caracterização e Densidade de Tricomas (DT).....	138
3.1.5.3. Teor de Sódio (Na ⁺ _{VES}), Cloro (Cl ⁻ _{VES}), Potássio (K ⁺ _{VES}) e Chumbo (Pb _{VES}) na Vesícula.....	141
3.2 Avaliações do Experimento II	143
3.2.1. Dose de Pb escolhida e Condutividade Elétrica do Extrato de Saturação Final	143
3.2.2. Biomassa fresca (BMF _{PA}) e seca (BMS _{PA}) da parte aérea, Área foliar (AF) e Biomassa fresca (BMF _R) e seca (BMS _R) da raiz.....	144
3.2.3. Avaliações das Relações Hídricas	146
3.2.3.1. Potencial Hídrico Foliar (Ψ_w), Potencial Osmótico (Ψ_o) e Potencial de Pressão (Ψ_p).....	146
3.2.3.2. Parâmetros da Curva Pressão Volume (Curva PV).....	147
3.2.4 Avaliações fotossintéticas.....	148
3.2.4.1 Trocas Gasosas foliares	148
3.2.5. Avaliações dos Solutos Inorgânicos	151
3.2.5.1. Teor de Sódio (Na ⁺ _{PA}), Cloro (Cl ⁻ _{PA}), Potássio (K ⁺ _{PA}) e Cádmio (Cd _{PA}) na Parte Aérea, Teor de Cádmio (Cd _R) na Raiz e Fator de Translocação (FT)	151
3.2.6. Caracterização e Densidade de Tricomas (DT).....	155
4. CONCLUSÕES.....	156
5. REFERÊNCIAS	157
 COSIDERAÇÕES FINAIS.....	 162

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Local da condução dos experimentos, ambiente protegido do CEPEVE/UFRPE44
- Figura 2** - Ilustração esquemática: A. Experimento I e B. Experimento II46
- Figura 3** - Cultivo e transplântio de mudas de *A. nummularia Lindl.* para Luvissoilo de caráter salino e não salino contaminado com doses crescentes de Cd.48
- Figura 4** – Processo de extração dos tricomas: (A) Coleta das folhas; (B) Escovação das folhas com auxílio de pincel; (C) Folha de *A. nummularia Lindl.* com lado direito escovado e lado esquerdo não escovado; (D) Lavagem das folhas e pincel; (E) Superfície da *A. nummularia Lindl.* com a presença dos tricomas; (F) Superfície da *A. nummularia Lindl.* no processo de remoção dos tricomas; (G) Superfície da *A. nummularia Lindl.* com remoção total dos tricomas;50
- Figura 5** – Processo para obtenção de imagens na microscopia de varredura eletrônica (MEV) de folhas de *A. nummularia Lindl.* para Luvissoilo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. (A) Seções de folhas da *A. nummularia* postas em Stubs com auxílio de fita de carbono; (B) Processo de laminação com ouro através do Metalizador; (C) Amostras após metalização; (D) Inserção das amostras no MEV; (E) Avaliação das amostras no MEV com auxílio da Energia Dispersiva de Raio-X (EDX).52
- Figura 6** - Processos para obtenção da densidade de tricomas de *A. nummularia Lindl.* para Luvissoilo de caráter salino e não salino contaminado com doses crescentes de Cd. (A) Lâmina da epiderme foliar; (B) Obtenção das imagens dos tricomas com auxílio de Microscópio com câmera acoplada; (C) Imagem obtida dos tricomas; (D), (E) e (F) Tratamento da imagem e contabilização dos tricomas através dos pedunculos;53
- Figura 7** - Representação da Curva Pressão-Volume para obtenção do potencial osmótico a pleno turgor (Ψ_o^{100}) através do prolongamento da região linear. (Fonte: autora)55
- Figura 8** - Parâmetros obtidos através da Curva Pressão-Volume: Potencial osmótico a pleno turgor (Ψ_o^{100}); potencial osmótico a zero turgor (Ψ_o^0); Teor relativo de água no ponto de perda de turgor (TRA_o); Fração de água apoplástica (AF). (Fonte: autora)57
- Figura 9** - Biomassa fresca da parte aérea (BMF_{PA}) de *A. nummularia Lindl.* cultivada em Luvissoilo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).58
- Figura 10** – Área Foliar (AF) de *A. nummularia Lindl.* cultivada em Luvissoilo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).59
- Figura 11** - Biomassa seca da parte aérea (BMS_{PA}) de *A. nummularia Lindl.* cultivada em Luvissoilo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).60
- Figura 12** - Biomassa seca da raiz (BMS_R) de *A. nummularia Lindl.* cultivada em Luvissoilo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).62

Figura 13 - Potencial hídrico foliar de <i>A. nummularia</i> cultivada em Luvisolo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. As médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.	63
Figura 14 - Potencial Osmótico (Ψ_o) de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em Luvisolo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)	64
Figura 15 - Potencial Osmótico a Pleno Turgor (Ψ_o^{100}) de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em Luvisolo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)	65
Figura 16 - Potencial Osmótico a zero turgor de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em Luvisolo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)	66
Figura 17 - Ajuste osmótico de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em Luvisolo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)	67
Figura 18 – Módulo de Elasticidade de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em Luvisolo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)	68
Figura 19 – Teor de Sódio (Na^+_{PA}), Cloro (Cl^-_{PA}) e Potássio (K^+_{PA}) na Parte Aérea de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em Luvisolo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. As médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)	69
Figura 20 - Teor de Cádmio (Cd_{PA}) na Parte Aérea de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em Luvisolo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. As médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)	71
Figura 21 - Teor de Cádmio na Raiz (Cd_R) de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em Luvisolo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)	72
Figura 22 - Fator de Translocação (FT) e Índice de Tolerância (IT) de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em Luvisolo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. As médias seguidas por letra iguais, maiúsculas entre as características do solo e minúsculas doses, não diferem pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.	73
Figura 23 – Epiderme foliar da face (A e C) adaxial e (B e D) abaxial de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em Luvisolo de caráter salino (C e D) e não salino (A e B) contaminado com doses crescentes de Cd.	75
Figura 24 – Imagens obtidas por microscopia de varredura eletrônica (MEV) dos tricomas epidérmicos de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em Luvisolo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd.	76

- Figura 25** – Porcentagem dos elementos detectados por Espectroscopia de Energia Dispersiva de raios-X (EDS) integrada ao MEV na superfície das vesículas epidérmicas de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd.77
- Figura 26** – Radar dos elementos detectados (<1,5% nas amostras) por Espectroscopia de Energia Dispersiva de raios-X (EDX) integrada ao MEV na superfície das vesículas epidérmicas de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino - LS (a direita) e não salino – LNS (a esquerda) contaminado com doses crescentes de Cd.78
- Figura 27** - Mapas de distribuição dos elementos de sódio (Na^+_{VES}), Cloro (Cl^-_{VES}), Potássio (K^+_{VES}) nas vesículas epidérmicas, obtidas com auxílio de emissão de energia dispersiva de raio X (EDX), de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd.78
- Figura 28** – Mapas de distribuição dos elementos de sódio (Na^+_{VES}), Cloro (Cl^-_{VES}), Potássio (K^+_{VES}) nas vesículas epidérmicas, obtidas com auxílio de emissão de energia dispersiva de raio X (EDX), de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) contaminado com doses crescentes de Cd.79
- Figura 29** - Densidade de tricomas de Vesícula *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. As médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%. ...80
- Figura 30** - Teor de Sódio (Na^+_{VES}), Cloro (Cl^-_{VES}), Potássio (K^+_{VES}) e Cádmio (Cd_{VES}) na Vesícula *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).82
- Figura 31** - Condutividade elétrica final do extrato de saturação (CE_{es}) de solo cultivado com *A. nummularia* Lindl. contaminado com 30 mg.kg^{-1} de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl.84
- Figura 32** - Biomassa fresca da parte aérea (BMF_{PA}) e Biomassa seca da parte aérea (BMS_{PA}) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg kg^{-1} de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).85
- Figura 33** – Área foliar (AF) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg.kg^{-1} de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).85
- Figura 34** – Potencial Hídrico Foliar (Ψ_w) e Potencial Osmótico (Ψ_o) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg kg^{-1} de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)87
- Figura 35** - Potencial de Pressão (Ψ_p) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg.kg^{-1} de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)88

Figura 36 - Potencial Osmótico a Pleno e a Zero Turgor (Ψ_{O100}) e (Ψ_{O0}) de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg kg ⁻¹ de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)	89
Figura 37 - Módulo de elasticidade (ϵ) de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg.kg ⁻¹ de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)	90
Figura 38 - Densidade de tricomas de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg kg ⁻¹ de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p < 0,05$)	92
Figura 39 - Teor de Sódio (Na^+_{PA}) Parte Aérea e Vesícula (Na^+_{VES}) de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg kg ⁻¹ de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p < 0,05$)	93
Figura 40 - Teor de Cloro (Cl^-_{PA}) Parte Aérea e (Cl^-_{VES}) Vesícula de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg kg ⁻¹ de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p < 0,05$)	93
Figura 41 – Correlação entre (A) Teor de Sódio (Na^+_{PA}) Parte Aérea e Vesícula (Na^+_{VES}) e (B) Teor de Cloro (Cl^-_{PA}) Parte Aérea e (Cl^-_{VES}) Vesícula de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg kg ⁻¹ de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl.	94
Figura 42 - Correlação entre (A) Teor de Sódio (Na^+_{PA}) Parte Aérea e Potencial Osmótico Foliar (Ψ_o) e e (B) Teor de Cloro (Cl^-_{PA}) Parte Aérea e Potencial Osmótico Foliar (Ψ_o) de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg.kg ⁻¹ de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl	95
Figura 43 - Teor de Potássio (K^+_{PA}) na Parte Aérea e (K^+_{VES}) Vesícula de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg kg ⁻¹ de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p < 0,05$)	96
Figura 44 - Teor de Cádmio (Cd_{PA}) na Parte Aérea e (Cd_{VES}) vesícula de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg kg ⁻¹ de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p < 0,05$)	97
Figura 45 - Teor de Cádmio (Cd_R) na Raiz de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg kg ⁻¹ de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p < 0,05$)	99
Figura 46 - Fator de Translocação (FT) de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg kg ⁻¹ de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl.	100
Figura 47 - Ilustração esquemática: A. Experimento I e B. Experimento II	115
Figura 48 - <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (plantas a direita) e não salino (plantas a esquerda) contaminado com doses crescentes de Pb (A) 0 mg kg ⁻¹ ; (B) 100 mg kg ⁻¹ ; (C) 150 mg kg ⁻¹ ; (D) 200 mg kg ⁻¹ ; (E) 250 mg kg ⁻¹ ; (F) 300 mg kg ⁻¹ ;	124
Figura 49 - Biomassa fresca da parte aérea (BMF_{PA}) de <i>A. nummularia</i> Lindl. Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb.	

Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$). As médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.125

Figura 50 - Biomassa seca da raiz (BMS_{PA}) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).125

Figura 51 – Área Foliar (AF) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).126

Figura 52 - Potencial osmótico foliar (ψ_o) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).128

Figura 53 - Potencial de pressão (ψ_p) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).129

Figura 54 - Potencial Osmótico a Pleno Turgor (ψ_o^{100}) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).130

Figura 55 – Potencial Osmótico a Zero Turgor (ψ_o^0) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).131

Figura 56 – Módulo de Elasticidade (ϵ) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).132

Figura 57 - Teor de Sódio (Na^+_{PA}), Cloro (Cl^-_{PA}), Potássio (K^+_{PA}) e Chumbo (Pb_{PA}) na Parte Aérea *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).134

Figura 58 – Teor de Chumbo nas raízes (Pb_R) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).135

Figura 59 – Fator de translocação (FT) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb. As médias seguidas por letra iguais, maiúsculas entre as características do solo e minúsculas doses, não diferem pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.137

Figura 60 – Índice de Tolerância (IT) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb. As médias seguidas por letra iguais, maiúsculas entre as características do solo e minúsculas doses, não diferem pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.137

Figura 61 – (A) Lâmina foliar dissociada para contabilização da densidade de tricomas e (B) Corte transversal de folha de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd.	139
Figura 62 – Microfotografias de seção transversal de folhas de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb obtidas por microscopia de varredura eletrônica (MEV) e Mapas de distribuição de Ca e O em cristal de drusa, identificados com auxílio de emissão de energia dispersiva de raio X (EDX).	139
Figura 63 - Mapas de distribuição de Ca, obtidas com auxílio de emissão de energia dispersiva de raio X (EDX), da superfície foliar de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb.	140
Figura 64 - Densidade de Tricomas (DT) de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).	140
Figura 65 - Teor de Sódio nas vesículas (Na^+_{VES}) de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$). As médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.	141
Figura 66 – (A) Teor de Cloro (Cl^+_{VES}) e (B) Potássio na vesícula (K^+_{VES}) de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$). As médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.	142
Figura 67 - Condutividade Elétrica Final do Extrato de Saturação (CE_{es}) do Luvisso de caráter salino (LS) utilizado no cultivo de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em solo contaminado com 300 mg kg^{-1} de Pb e irrigada com concentrações crescentes de NaCl.	143
Figura 68 – Plantas de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em solo contaminado com 300 mg kg^{-1} de Pb e irrigada com concentrações crescentes de NaCl.	144
Figura 69 - (A) Biomassa fresca da parte aérea (BMF_{PA}) e (B) Biomassa seca da parte aérea (BMS_{PA}) de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em solo contaminado com 300 mg kg^{-1} de Pb e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)	145
Figura 70 – Potencial de pressão (ψ_p) de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em solo contaminado com 300 mg kg^{-1} de Pb e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).	146
Figura 71 – Módulo de Elasticidade (ϵ) de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em solo contaminado com 300 mg.kg^{-1} de Pb e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)	148
Figura 72 – Trocas gasosas foliares, (A) Fotossíntese líquida (A), (B) condutância estomática (gs), (C) transpiração (E), e a (D) eficiência do uso da água (EUA). <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em	

solo contaminado com 300 mg kg⁻¹ de Pb e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** (p ≤ 0,01) e *(p ≤ 0,05).150

Figura 73 – Teor de sódio na vesícula (Na⁺_{VES}) e na parte aérea (Na⁺_{PA}) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 300 mg kg⁻¹ de Pb e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** (p ≤ 0,01) e *(p ≤ 0,05)151

Figura 74 - Correlação entre Teor de Sódio (Na⁺_{PA}) Parte Aérea e Vesícula (Na⁺_{VES}) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 300 mg.kg⁻¹ de Pb e irrigada com concentrações crescentes de NaCl.152

Figura 75 – Teor de Chumbo na Parte Aérea (Pb_{PA}) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 300 mg.kg⁻¹ de Pb e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** (p ≤ 0,01) e *(p ≤ 0,05).153

Figura 76 - Teor de Chumbo na Raiz (Pb_R) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 300 mg kg⁻¹ de Pb e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** (p ≤ 0,01) e *(p ≤ 0,05)153

Figura 77 – Fator de translocação (FT) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 300 mg kg⁻¹ de Pb e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** (p ≤ 0,01) e *(p ≤ 0,05)154

Figura 78 – Densidade de Tricomas (DT) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 300 mg kg⁻¹ de Pb e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** (p ≤ 0,01) e *(p ≤ 0,05)155

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação de solos afetados por sais.....	18
Tabela 2 - Caracterização química dos solos utilizados no experimento (I e II)	45
Tabela 3 - Caracterização física dos solos utilizados no experimento (I e II)	45
Tabela 4 – Valores de Ajuste Osmótico por osmometria ($AO_{osmometria}$) e Curva PV ($AO_{Curva\ PV}$) de <i>A. nummularia</i> Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg.kg^{-1} de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl.	90
Tabela 5 - Caracterização química dos solos utilizados no experimento (I e II)	113
Tabela 6 - Caracterização física dos solos utilizados no experimento (I e II)	114

REVISÃO DE LITERATURA

1. INTRODUÇÃO GERAL

A salinização do solo está entre os principais estresses abióticos que afetam o crescimento e a produtividade das plantas, ocorrendo principalmente nas regiões áridas e semiáridas do mundo. As respostas das plantas a essas condições dependem do tipo de estresse, da intensidade, da espécie e do genótipo (Minhas *et al.*, 2020).

A poluição de solos por metais pesados é outro problema que se tornou um grande desafio ambiental. Muitas áreas do mundo estão simultaneamente contaminadas por altas concentrações de sais solúveis e metais pesados (Lutts; Lefèvre, 2015), apresentando distribuição mundial abrangendo principalmente áreas agricultáveis e costeiras (Liu *et al.*, 2023).

As halófitas são plantas adaptadas a viver em solos com alta concentração de sais, que variam entre 100 mmol a 1 mol, em função de mecanismos específicos de tolerância ao estresse salino (Flowers, 1986; Zhao *et al.*, 2020). Nesse contexto, Lutts; Lefèvre, (2015) relatam que as plantas halófitas exibem um alto acúmulo de metais pesados e que o NaCl pode influenciar diretamente a especiação de metais pesados e a taxa de absorção.

Assim, parte das espécies halófitas não são apenas resistentes ao sal, mas também a metais pesados e a tolerância depende parcialmente de mecanismos físicos e químicos comuns (Suruti *et al.*, 2017). A exemplo das halófitas *Suaeda glauca* e *Limonium aureum* que ativam mecanismos de tolerância ao sal para resistir à toxicidade do Cd, além de aumentar sua capacidade de captação e translocação do metal (Zang *et al.*, 2020).

Além disso, plantas com capacidade de secreção de sal são frequentemente utilizadas para remover metais pesados como Cd, Pb, Cu, Zn, Al e Fe dos solos, reduzindo a poluição por esses elementos (Lu *et al.*, 2021). *A. lentiformis* e *A. undulata* demonstraram tolerância a metais pesados mantendo concentrações nos tecidos do caule abaixo dos níveis tóxicos quando o solo estava contaminado com Zn, Cu, Pb e Cd (Eissa *et al.*, 2015).

A. hortensis e *A. rósea* também exibem tolerância aos metais Cu, Pb, Ni e Zn (Kachout *et al.*, 2011). Orrego *et al.* (2020) relatam que as espécies *A. atacamensis*, *A. halimus* e *A. nummularia* Lindl. são candidatas à fitoestabilização de Cu, destacando a *A. halimus* como a menos afetada ao aumento nas concentrações de Cu propostas no estudo, e relatando que a mesma foi capaz não só de tolerar uma maior concentração de Cu, mas também manteve o crescimento quando combinado com NaCl.

Ainda dentro do gênero *Atriplex*, pode-se destacar a espécie *A. nummularia* Lindl., que apresenta tolerância e capacidade de se desenvolver em condições adversas, o que frequentemente é atribuída à compartimentalização de sais no vacúolo, e excreção pelos tricomas vesiculares localizados na epiderme das folhas (De Souza *et al.*, 2012; Lins *et al.*, 2019; Paulino *et al.*, 2020). A fisiologia da *A. nummularia* Lindl. apresenta uma série de características que a destacam das demais espécies do gênero, principalmente pela capacidade de fitorremediação em solos afetados por sais. Isso ocorre devido à alta capacidade de produção de biomassa e elevado acúmulo de sais da espécie (Qadir *et al.*, 2007; De Souza *et al.*, 2011).

Outra característica importante da *A. nummularia* Lindl. é que seu crescimento e produção de biomassa são estimulados em concentrações entre 100 a 300 mmol L⁻¹ de NaCl (Hassine; Lutts, 2010; Rangani *et al.*, 2016; Melo *et al.*, 2018; Parvez *et al.*, 2020). Guda *et al.* (2018) verificaram através da avaliação da bioacumulação de metais pesados em solo de regiões árida e agrícola do Iraque que a *A. nummularia* Lindl. pode ser considerada um bioindicador da poluição por Pb, Cd, Co, Cr e Ag e um “filtro verde” adequado para reduzir a poluição dos solos.

Em estudo mais recente, Guda *et al.* (2020) afirmam que a *A. nummularia* Lindl. é uma hiperacumuladora de Ag por apresentar, quando cultivada em solos com alta concentração do metal, acúmulo do metal em suas folhas numa concentração de 9,83 mg kg⁻¹.

Diante do exposto, essa pesquisa tem como objetivos: 1) Avaliar a tolerância de *A. nummularia* Lindl. a Cd e Pb. 2) Avaliar a influência da salinidade no processo de fitoextração de Cd e Pb pela *A. nummularia* Lindl.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Estresses abiótico em plantas

As plantas são frequentemente expostas a estresses abióticos, tais como: seca, salinidade, temperatura, inundações, toxicidade de metais pesados, radiação, poluição do ar e ventos ameaçam gravemente as práticas agrícolas, interferindo nos processos fisiológicos, absorção de nutrientes, causando danos celulares diminuindo o rendimento e da qualidade das culturas (Muhammad *et al.*, 2023).

2.1.1 Salinidade

Solos afetados por sais podem ser classificados como solos salinos, salino-sódicos e sódicos, essa relação é observada de acordo com os valores de potencial hidrogeniônico (pH) do solo, condutividade elétrica do extrato de saturação (CEes), porcentagem de sódio trocável (PST) e Razão de adsorção de Sódio (RAS), que avalia a concentração de sódio (Na^+) em relação ao cálcio (Ca^{+2}) e magnésio (Mg^{+2}) (Tabela 1) (Richards, 1954).

Tabela 1 - Classificação de solos afetados por sais (Richards, 1954)

CLASSIFICAÇÃO	CEes	pH	PST	RAS
SOLO NORMAL	<4 dS m ⁻¹	<8,5	<15	<13
SOLO SALINO	>4 dS m ⁻¹	<8,5	<15	<13
SOLO SÓDICO	<4 dS m ⁻¹	>8,5	>15	>13
SOLO SALINO-SÓDICO	>4 dS m ⁻¹	<8,5	>15	>13

CEes – Condutividade elétrica do extrato de saturação; pH - potencial hidrogeniônico; PST - Porcentagem de sódio trocável; RAS - Relação de Adsorção de Sódio.

A salinização do solo é o processo de acúmulo de sais no solo por meio de processos naturais, como o intemperismo de rochas e minerais, ascensão capilar de lençol freático com água salobra, ou por meio de ações antrópicas, atrelada principalmente a práticas agrícolas e atividades industriais (Eswar *et al.*, 2021).

Esse aumento da concentração de sais no solo produz um efeito osmótico, diminuindo a capacidade de absorção de água pela planta, reduzindo seu crescimento e causando desequilíbrios nutricionais, seguido de um efeito iônico, causando toxicidade e prejudicando processos metabólicos das plantas (Scudiero; Skaggs; Corwin, 2017; Kumar *et al.*, 2018).

O efeito osmótico ocorre pela redução da disponibilidade hídrica para a planta e é acompanhada pela perda de turgor, lesão da membrana, desnaturação da proteína ou diminuição da atividade da proteína e geração excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs) (Cambridge *et al.*, 2017; Kumar *et al.*, 2018).

Estas espécies são altamente tóxicas às plantas, podendo atacar organelas, metabólitos entre outras moléculas vegetais, interrompendo vias metabólicas até a morte celular (Hasanuzzaman *et al.*, 2020). As EROs são produzidas principalmente em cloroplastos, mitocôndrias, peroxissomos e em condições de crescimento normal da planta, atuam como subprodutos do metabolismo aeróbio, estimulando vias de transdução de sinal que induzem os mecanismos de aclimação sendo rapidamente eliminada por processos celulares enzimáticos e não enzimáticos (Sahu *et al.*, 2022).

No entanto, o equilíbrio entre a produção e a eliminação de EROs pode ser perturbado por uma série de fatores adversos, resultando no estresse oxidativo (Singh *et al.*, 2019). Neste cenário, as espécies são geradas em locais secundários, como membrana celular, parede celular, retículo endoplasmático, apoplasto e sua sinalização durante o estresse causa geração excessiva de EROs, danificando as células vegetais, causando desequilíbrio redox, peroxidação lipídica, degradação dos ácidos nucleicos e proteínas (Sahu *et al.*, 2022).

2.1.2 Metais pesados

Metais pesados são elementos naturais que possuem alto peso atômico e densidade pelo menos 5 vezes maior que a da água (Tchounwou *et al.*, 2012). A deposição de metais pesados no ambiente ocorre por meio de processos naturais e antrópicos.

Dentre as fontes naturais pode-se citar o intemperismo de minerais, partículas vulcanogênicas e incêndios florestais (Edelstein; Ben-Hur, 2018; Priya *et al.*, 2023). As fontes de contaminação antrópicas são diversas, como a aplicação de fertilizantes e pesticidas, descarte industrial, mineração, fundição, eliminação de resíduos sólidos perigosos, curtimento e combustão de combustível fóssil (Tang *et al.*, 2019; Shah; Daverey, 2020).

Vários metais pesados, tais como ferro (Fe), cobre (Cu), molibdênio (Mo), níquel (Ni), manganês (Mn) e zinco (Zn) são essenciais para que plantas e animais realizem suas funções; porém, as quantidades requeridas são baixas e, quando sua concentração excede o nível recomendado, esses metais tornam-se tóxicos (Nikalje; Suprasanna, 2018; Rehman *et al.*, 2021).

Os metais pesados exercem toxicidades nas plantas por meio de quatro mecanismos: por semelhanças com os nutrientes, pela interação direta dos metais pesados com o grupo sulfidril de proteínas funcionais, pelo deslocamento de cátions essenciais de locais de ligação específicos que levam ao colapso da função e pelas EROs, que danificam as macromoléculas (Singh *et al.*, 2016).

O acúmulo de metais pesados no solo agrícola e sua toxicidade é uma ameaça para o crescimento e desenvolvimento das plantas, pois os metais interrompem a integridade funcional, induzem respostas fenológicas e fisiológicas alteradas e reduzem a produtividade qualitativa das culturas (Khan *et al.*, 2021). Além disso, podem provocar a superprodução de EROs, causando modificações nas biomoléculas, crescimento e diferenciação celular, o excesso de metais pesados nas plantas também inativa diferentes enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione redutase (GR) e ascorbato peroxidase (APX) (Khan *et al.*, 2021).

As plantas podem adquirir tolerância ao estresse por metais pesados devido o desenvolvimento de mecanismos que as auxiliam na sobrevivência. Assim, as respostas ao estresse dependem das características intrínsecas da espécie, do elemento responsável pelo estresse e as condições ambientais as quais a planta está inserida (Silva *et al.*, 2001). Estes mecanismos desenvolvidos para tolerar estresse de metais pesados vão desde a redução da absorção de metais pesados, sequestro de metal em vacúolos, ligação a fitoquelatinas/metalotioneínas até a ativação de antioxidantes (Tiwari *et al.*, 2018).

2.1.2.1. Cádmio

O cádmio é um metal de transição brilhante, dúctil, maleável, não tem função biológica e apresenta uma meia-vida biológica longa (Yan *et al.*, 2023). Sendo um dos metais mais nocivos, devido à sua alta toxicidade, e grave extensão de bioacumulação, o Cd está presente nos solos principalmente como íons de Cd nas formas aniônicas e catiônicas e diversos agentes químicos do solo influenciam na sua biodisponibilidade (Wu *et al.*, 2022).

Kubier *et al.* (2019) em sua revisão verificaram que o conteúdo médio de Cd na crosta terrestre é de $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$, nos solos ele corre principalmente em concentrações de $0,01$ a 1 mg kg^{-1} com média mundial de $0,36 \text{ mg kg}^{-1}$. Apenas na China, aproximadamente 20 milhões de hectares de terras aráveis estão contaminados com Cd e outros metais pesados, apresentando uma produção anual de 12 milhões de toneladas de grãos contaminados (Luo *et al.*, 2018).

As principais fontes de contaminação do metal são de causas naturais e antrópicas, sendo estas: o intemperismo de rochas, a aplicação de agroquímicos, eliminação inadequada de resíduos industriais, sendo o Cd produzido como parte de processos como a fundição de Zn, o uso em baterias, semicondutores, galvanoplastia e estabilizadores (Subašić *et al.*, 2022).

Nas plantas, a contaminação por Cd pode ocorrer de diversas formas, através da absorção em solo contaminado, água de irrigação ou deposição atmosférica, podendo acumular em diferentes tecidos vegetais, como raízes, caules, folhas e frutos (Zulfiqar *et al.*, 2022; Altaf *et al.*, 2023).

Muitas plantas apresentam mecanismos adaptativo para superar a toxicidade do Cd, como a quelação, a compartimentação e os sistemas de defesa antioxidante; porém, estes mecanismos podem apresentar limitações na presença de altas concentrações de Cd (Aslam *et al.*, 2022; Altaf *et al.*, 2023).

Altas concentrações de Cd nas plantas podem prejudicar sua morfologia, a fisiologia e os aspectos bioquímicos (Vezza *et al.*, 2018). A toxicidade do Cd induz rapidamente um desafio oxidativo nas plantas, produzindo EROs em diferentes compartimentos subcelulares das plantas (Cuypers *et al.*, 2023); dificulta a fotossíntese, diminui a concentração de clorofila, limitando o desenvolvimento das plantas (Huihui *et al.*, 2020).

2.1.2.2. Chumbo

O chumbo (Pb) é altamente tóxico para plantas, animais e seres humanos, e está entre os contaminantes mais perigosos. É inodoro, de cor prateado branco-azulado, macio, altamente maleável, dútil e pobre condutor de eletricidade (Kushwaha *et al.*, 2018).

O comportamento do Pb no solo é afetado por diversos fatores como as propriedades físico-químicas do solo, quantidade e formas de Pb na solução do solo, condições ambientais, dinâmica microbiana do solo, entre outros (Ashraf *et al.*, 2020). Porém, sua mobilidade no solo é baixa em comparação com outros elementos, devido à sua alta afinidade com as partículas do solo, sendo facilmente adsorvido (Jalali e Rostaii, 2011).

O Pb tem sido frequentemente usado em processos industriais e as principais fontes de contaminação no meio ambiente incluem mineração, fundição de minérios, queima de carvão, efluentes de indústrias, escapamentos de automóveis, fertilizantes,

pesticidas, gasolina, entre outros (Kushwaha *et al.*, 2018). Em áreas próximas às minas de chumbo e à zona de fundição foram detectados altos níveis de chumbo no solo chegando a cerca de 7.000 mg kg⁻¹ (Anamika *et al.*, 2018).

Nas plantas, o Pb tende a causar estresse oxidativo, o que leva a danos celulares e perturbação da homeostase iônica celular, prejudicando principalmente o crescimento das plantas, o alongamento das raízes, a germinação das sementes, a divisão celular, a transpiração e a produção de clorofila (Anamika *et al.*, 2018).

2.2 Contaminação simultânea (Salinidade + Metais Pesados) no solo

Em certas áreas do mundo, altas concentrações de metais pesados biodisponíveis estão associadas a altas concentrações de sais solúveis, ocorrendo particularmente em áreas costeiras impactadas por atividades urbanas e em regiões semiáridas onde a mineração contribui para a liberação de metais pesados e sais solúveis (Lutts; Lefèvre, 2015).

Liu *et al.* (2023) em seu estudo elencaram quatro principais fontes desta contaminação simultânea, sendo estas: (i) a introdução dos metais pesados em solos salinos, por meio de atividades industriais, de mineração, aplicação de agroquímicos, regulação de fluxo de sedimentos e processamento climático; (ii) contaminação de solos por metais através da atividade de mineração com área de topografia propensa a salinização, (iii) contaminação simultânea de sais e metais pesados através de poeira, efluentes de fundição, rejeitos de esgoto não tratado e fertilizantes em excesso; (iv) contaminação por metais pesados de solos próximo a estradas produzidos pelo tráfego automóveis e sais provenientes da aplicação de sal de degelo.

Solos afetados por sais estão distribuídos em 120 países do mundo, somando aproximadamente uma área de 953 Milhões de hectares e sendo estes responsáveis por cerca de 7-8% da redução de produtividade agrícola mundial (FAO; ITPS ,2015; Meena *et al.*, 2019).

Com impacto mais comum nas regiões áridas e semiáridas, a salinização e sodificação do solo são os principais processos de degradação que ameaçam o ecossistema agrícola. Os solos salinos cobrem 20% do total cultivado e 33% das terras agrícolas irrigadas em todo o mundo (Srivastava; Kumar, 2015; El Hasini *et al.*, 2019). Além disso, nos últimos anos, grandes extensões de terras agrícolas em regiões áridas e semiáridas foram afetadas simultaneamente pela salinidade e pela poluição por metais pesados, despertando mais uma preocupação ambiental (Liang *et al.*, 2018).

Regiões de transição terra/oceano são zonas típicas que sofrem com a presença simultânea de salinidade e excesso de metais pesados (Liu *et al.*, 2019). Na China, diferentes tipos de solos salinos já são afetados por metais pesados e a tendência dessa poluição simultânea (salinização + metais pesados) está se expandindo com o passar dos anos (Yao *et al.*, 2021).

Relata-se ainda que a salinidade aumenta a mobilidade de metais pesados nos solos pela competição de cátions derivados de sal com metais pesados carregados positivamente por sítios de sorção na fase sólida e capacidade de complexação de ânions derivados de sal com metais pesados (Zhou *et al.*, 2019).

A contaminação de solos e meio ambiente por metais pesados foi acelerada devido à industrialização, expansão da população e agricultura intensificada, causando a degradação e mau funcionamento de ecossistemas (He *et al.*, 2015). Um número considerável de países no mundo estão sendo ou foram afetados pela poluição por metais pesados no solo, incluindo China, Estados Unidos, Itália e México (Tang *et al.*, 2020).

Na agricultura, como fator de estresse, os metais pesados, por não serem biodegradáveis e persistirem no solo por muitos anos, prejudicam o ecossistema, reduzem a biodiversidade, causam efeitos tóxicos nas plantas e reduzem a produtividade agrícola (Zhai *et al.*, 2018). Além disso, os metais também afetam a estrutura, morfologia, função e atividade dos microrganismos nos solos e substratos (Alfaro *et al.*, 2021; Tang *et al.*, 2019; Nascimento *et al.*, 2021).

A dinâmica dos metais pesados no solo e sua absorção pelas plantas são influenciadas pelas propriedades do mesmo, desempenhando um papel fundamental na biodisponibilidade, mobilidade e a assimilação do metal, além de serem influenciadas também pela adição de matéria orgânica e inorgânica (Zwolak, *et al.*, 2019).

2.3. Plantas halófitas na fitorremediação de metais pesados na presença de salinidade

Adaptadas a viver em solos com alta concentração de sais, as plantas halófitas apresentam características adaptativas eficientes contra o estresse salino, como a suculência foliar, tricomas de sal e ajuste osmótico (Zhao *et al.*, 2020). As plantas halófitas representam aproximadamente 2% de toda a flora terrestre, em diversos habitats salinos desde regiões costeiras e pântanos, a terras secas e planícies salinas (Flowers; Colmer, 2008).

Com potencial forrageiro e alta capacidade de sobreviver em ambientes adversos, espécies de halófitas são utilizadas na ração animal em regiões áridas (Panta *et al.*, 2014). Isso é possível verificando que para superar as dificuldades de sobrevivência em ambientes áridos e salinos, as halófitas empregam vários mecanismos adaptativos (Litalien; Zeeb, 2020). Além disso, a salinidade apresenta-se como um agente benéfico sobre as halófitas, aumentando seu crescimento na presença da concentração de sais adequada a cada espécie (Meena *et al.*, 2023).

A capacidade das plantas de resistir e sobreviver a salinidade depende da eficiência dos seus mecanismos de proteção. Para uma planta ser considerada tolerante a um estresse, ela deve possuir características que minimizem os efeitos deletérios e maximizem os efeitos vantajosos para sobreviver e completar seu ciclo de vida (Mansour; Ali, 2017). Sob estresse salino, as plantas halófitas apresentam características fisiológicas e bioquímicas de adaptação, que incluem o acúmulo de osmólitos, controle de balanço hídrico e manutenção da homeostase iônica (Rakhmankulova *et al.*, 2019).

De maneira geral, as halófitas na presença de sais, apresentam como mecanismos de sobrevivência o armazenamento de sais em 'glândulas de sal' ou 'bexigas de sal' e posterior excreção oportuna do excesso de íons dos tecidos (Chen *et al.*, 2018). O aumento da succulência foliar, diluindo a ação dos componentes tóxicos e induzindo da elasticidade da parede celular (Liu *et al.*, 2024); A compartimentalização de íons dentro dos vacúolos, preservando suas organelas, além do ajuste osmótico, com a síntese de osmólitos, acarretando na redução do potencial hídrico celular e favorecendo a absorção de água (Paulino *et al.*, 2021).

Assim, a tolerância a salinidade é evidenciada pela capacidade da planta de tolerar o estresse osmótico e de mecanismos de exclusão de sais ou compartimentalização de íon intercelular, sendo estratégias de proteção que trabalham de forma conjunta. Além disso, essas plantas halofitas, apresentam um sistema antioxidante eficiente que auxiliam na superação dos efeitos deletérios dos sais (Munns; Tester, 2008; Llanes *et al.*, 2018).

Vários alvos fisiológicos diretamente afetados pela salinidade também são afetados por metais pesados, verificando que, assim como na salinidade, a adaptação de halófitas ao estresse por metais pesados engloba o acúmulo de íons tóxicos no tecido auxiliado pela sua succulência, a excreção desses íons pelas glândulas, além da desintoxicação de EROs (Manousaki; Kalogerakis 2011; Li *et al.*, 2019). Desta forma, pode-se supor que as plantas naturalmente tolerantes à salinidade, podem exibir

propriedades adaptativas promissoras para sustentar a presença externa ou mesmo o acúmulo de metais pesados em seus tecidos (Liang *et al.*, 2017).

Outro fator importante, é que em algumas halófitas, o sal é um promotor da translocação de metais pesados das raízes para parte aérea (Liang *et al.*, 2017). A exemplo das halofitas *Suaeda glauca* e *Limonium aureum* que desencadearam mecanismos de tolerância ao sal para resistir à toxicidade do Cd, além de aumentar sua capacidade de captação e translocação de Cd (Zhang *et al.*, 2020). Assim, as halófitas podem ser usadas para fins de fitorremediação em solo contaminado com sal e metais pesados, especialmente as espécies com alta biomassa e sistema radicular profundo (Kumari *et al.*, 2019).

No estudo realizado por Zhou *et al.* (2019) com a espécie halófito *Kosteletzkya pentacarpos* os autores verificaram que a salinidade melhora a tolerância das plantas aos metais pesados, aumentando a proporção de Cd e Zn removidos pelas plantas.

Yao *et al.* (2021), também, avaliando a influência de metais pesados e sal na germinação de sementes e características de mudas da halófito *Halogeton glomeratus*, verificaram que os níveis de acúmulo de Cu^{2+} , Zn^{2+} e Pb^{2+} fornecendo NaCl 100 mmol L^{-1} foram maiores do que o tratamento sem adição de NaCl.

Dentre os mecanismos adaptativo conferidos as espécies halófitas, destaca-se a capacidade de sequestrar o sal excessivo no vacúolo ou secretá-lo (Lu *et al.*, 2021). Mais de 50 espécies em 14 famílias desenvolveram ao longo da evolução estruturas epidérmicas especializadas chamadas glândulas de sal para armazenar e excluir esse composto (Dassanayake; Larkin, 2017). Essas estruturas são observadas no caule e na superfície foliar das plantas, desempenhando um papel importante na regulação de íons, mantendo a estabilidade da pressão osmótica e aumentando a tolerância à salinidade (Zhang *et al.*, 2003).

As glândulas de sal apresentam estruturas com diferentes características anatômicas e mecanismos funcionais. Halófitas com glândulas de sal são denominados coletivamente secretoras ou recretohalófitas. Do ponto de vista funcional, existem dois tipos de glândulas de sal, aquelas que secretam sais diretamente para a superfície da folha (exo-recretohalófitos), ou aquelas que coletam sal no vacúolo de uma célula da bexiga especializada (endo-recretohalófitos) (Dassanayake; Larkin, 2017).

As halófitas com essas estruturas secretoras de sal têm sido cada vez mais utilizada também para remoção de metais pesados dos solos (Lu *et al.*, 2021). Kadukova *et al.*,

(2008) quantificaram excreção de Pb e Cd pelas glândulas salinas da espécie *Tamarix smyrnensis*, verificando uma quantidade significativa de metais na superfície da folha.

Nas halófitas *Suaeda glauca* e *Limonium aureum*, Zang *et al.*, (2020) pesquisando a influência da salinidade na acumulação e distribuição de Cd, verificaram que em ambas as espécies, a salinidade aumentou a absorção e translocação do metal e na *Limonium aureum* aumentou a quantidade de Cd excretado pelas glândulas salinas na superfície foliar.

Com isto, as plantas halófitas, em virtude de sua tolerância à salinidade, também podem apresentar tolerância a metais pesados, isso ocorre devido aos diversos mecanismos adaptativos que as espécies halófitas possuem e que auxiliam na sobrevivência aos estresses abióticos (Nikalje; Suprasanna, 2018). Portanto, plantas halófitas podem, potencialmente, tolerar metais e sais, pois sua tolerância a diferentes estresses depende parcialmente de mecanismos comuns (Wang *et al.*, 2014; Shruti *et al.*, 2017).

2.4 *Atriplex nummularia* Lindl.

A *A. nummularia* Lindl. é uma halófito perene pertencente à família Amaranthaceae, é uma espécie forrageira de metabolismo C4 que apresenta sua origem na Austrália e pela sua alta adaptabilidade a ambientes adversos se distribuiu ao longo do oeste da Ásia, norte da África, sul da Europa e da América (Salem *et al.*, 2010; Iamonic, 2012).

Pela sua diversa distribuição ao redor do mundo a *A. nummularia* Lindl. é conhecida por diversos nomes como Erva salgada de velho, Erva-sal, Erva-sal verde-azulada, também chamada de “Erva-sal gigante” no inglês, “Arroche nummulaire”, francês; “Tiple” no espanhol; “Oumansoutbos” no africâner (Heuzé *et al.*, 2017).

O gênero *Atriplex* conta com mais de 400 espécies distribuídas em regiões áridas e semiáridas do mundo (Bonilla *et al.*, 2000). *A. nummularia* Lindl. apresenta estatura de 2 a 4 m de largura e até 3 m de altura em um arranjo extenso ou ereto, caules lenhosos que se ramificam próximo ao nível do solo, utilizam uma raiz pivotante com um sistema radicular subsequente que vai de moderado a profundo, possuem folhas simples alternadas, de formato irregular, variando entre circulares e triangulares, variando entre 1 a 5 cm de comprimento e apresentam uma coloração cinza-prateada nos lados abaxial e adaxial com uma textura escamosa (Strain, 1981; Sampson; Byrne, 2001).

É uma espécie muito resistente, capaz de se desenvolver em condições adversas e considerada uma reserva a seca devido a sua capacidade de fornecer alimentos verdes durante todo o ano, estendendo a disponibilidade de alimentos para os períodos de seca (Le Houérou, 1992; DAF, 2011; Emms, 2008).

Destacando-se por sobreviver em ambientes áridos e salinos, a espécie é bastante explorada pelo seu potencial forrageiro rico em proteínas e carotenos, além de manter sua fitomassa foliar abundante (Olivares, 1983). Assim, a erva sal é amplamente utilizada em vários tipos de sistemas de produção salina, apresentando potencial para produção de forragem para alimentação de rebanhos, produção de lenha, revegetação de áreas degradadas entre outros. Além disso, é uma espécie resistente a doenças e pragas (FAO, 1996).

Quanto as condições climáticas que favorecem o desenvolvimento da espécie está uma precipitação anual entre 230 e 650 mm e a temperatura ótima para a fotossíntese é entre 30-35 °C (Heuzé *et al.*, 2017). Essas faixas de precipitação e temperatura são consideradas ótimas, entretanto não limita a sobrevivência, da *A. nummularia* Lindl., a espécie consegue também se desenvolver em precipitação mais baixa que 200 mm, desde que a planta esteja bem estabelecida.

A planta ainda apresenta uma coloração característica das espécies Atriplex que é derivado da presença de glândulas de sal que se encontram em toda superfície foliar, várias camadas dessas glândulas são encontradas na espécie, cobrindo densamente as folhas (Black, 1954). Na espécie essas glândulas são do tipo tricomas que consistem em uma ou mais células chamadas de pedúnculos e uma célula terminal da bexiga, que na maturidade contém um grande vacúolo central (Esau, 1977)

Diversos estudos apontam que seu crescimento e produção de biomassa são estimulados em concentrações entre 100 a 300 mmol L⁻¹ de NaCl (Hassine; Lutts, 2010; Geissler *et al.*, 2015; Rangani *et al.*, 2016; Melo *et al.*, 2018; Parvez *et al.*, 2020). Arelado a isto, seu metabolismo C4 exibe por si só uma adaptabilidade a ambientes adversos exibindo uma fixação de CO₂ muito mais eficiente (Oliveira *et al.*, 2019).

Geissler *et al.* (2015) estudando a *A. nummularia* Lindl. em ambiente salino e CO₂ atmosférico reduzido atribuíram parte de sua tolerância ao seu metabolismo C4 eficiente, mantendo boas taxas fotossintéticas mesmo com redução da condutância estomática além da manutenção da eficiência do uso da água, auxiliando também nas relações hídricas.

Além de reduzir a perda de água pelo processo de transpiração, através do fechamento estomático, a *A. nummularia* Lindl. na presença de salinidade, consegue

manter a absorção de água no solo através da redução do seu potencial hídrico influenciado principalmente pela diminuição do potencial osmótico (Silveira *et al.*, 2009; Melo *et al.*, 2018).

Essa redução do potencial osmótico se dá pelo mecanismo de compartimentalização de sais no vacúolo celular (De Souza *et al.*, 2012; Melo *et al.*, 2018) e pelos tricomas vesiculares localizados na epiderme das folhas, que além da função de excreção estas estruturas contribuem para o desenvolvimento de um gradiente de potencial hídrico favorável à absorção de água e manutenção do turgor celular (Lins *et al.*, 2018; Paulino *et al.*, 2020).

A manutenção das relações hídricas na espécie é apoiada também pelos mecanismos de suculência foliar e altos teores relativo de água na presença de salinidade conservando o bom funcionamento das estruturas celulares e diluindo os efeitos tóxicos do sal (Silveira *et al.*, 2009; Melo *et al.*, 2018, Lins *et al.*, 2018). Além de apresentar paredes celulares mais rígidas com o aumento da salinidade, facilitando a manutenção de um baixo potencial hídrico através da manutenção da integridade celular (Paulino *et al.*, 2020).

Outro mecanismo importante, para sobrevivência da *A. nummularia* Lindl. em ambiente salino é o ajuste osmótico (Lins *et al.*, 2018; Paulino *et al.*, 2020). A capacidade de lidar com o stress osmótico através da acumulação de solutos compatíveis regulando os efeitos deletérios do sal, também é outro mecanismo da espécie, altos teores de aminoácidos não essenciais, essenciais, aromáticos e ricos em enxofre foram detectados em *A. nummularia* Lindl. em ambiente salino (200–250 mmol, destacando-se glicina, prolina, serina e glutamina (Patel *et al.*, 2022).

A prolina é amplamente apontada reguladora de estresses em plantas atuando como um osmoprotetor (Hasegawa *et al.*, 2000). Nedjimi, (2014) também relata em sua pesquisa o aumento no teor de prolina com um aumento na salinidade tanto na parte aérea como nas raízes de *A. nummularia*. A síntese e acúmulo de açúcares fornecem energia rápida para a estabilidade das macromoléculas e restauração do crescimento durante o estresse, bem como blocos de construção para osmoprotetores (Patel *et al.*, 2022).

Por fim, um mecanismo crucial para tolerância da espécie a salinidade os sistemas de defesa antioxidante incluem componentes não enzimáticos e enzimáticos, limitando o estresse oxidativo e ajudando a manter o equilíbrio iônico e osmótico que ainda pouco é detalhado na literatura, entretanto é possível verificar a atividade ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) na eliminação de espécies reativas de oxigênio na *A. nummularia*

Lindl. cultivadas em ambientes com altas concentrações de sais (Paulino *et al.*, 2020; Kumar *et al.*, 2021).

Diante disto, os mecanismos adaptativos que conferem alta tolerância ao sal na espécie *A. nummularia* Lindl. como a ação coordenada entre o ajuste osmótico, o acúmulo, compartimentação e excreção de sais, juntamente com seu metabolismo de carbono, desintoxicação de EROs, manutenção da eficiência do uso da água e manutenção das relações hídricas, confere a espécie alto potencial de tolerância aos metais pesados.

Liang *et al.* (2017) propuseram que plantas naturalmente tolerantes à salinidade podem exibir propriedades adaptativas promissoras para sustentar a presença externa ou mesmo o acúmulo de metais pesados em seus tecidos. Isso é elucidado observando que vários alvos fisiológicos diretamente afetados por metais pesados também são afetados pela salinidade, verificando ainda que, assim como na salinidade, a adaptação de halófitas ao estresse por metais pesados engloba o acúmulo de íons tóxicos no tecido auxiliado pela sua suculência, a excreção desses íons pelas glândulas, bexigas salinas ou tricomas, além da desintoxicação de EROs (Manousaki; Kalogerakis 2011; Li *et al.*, 2019).

Desta forma, por apresentar mecanismos fisiológicos altamente adaptados a ambiente salino acredita-se que a espécie *A. nummularia* Lindl. seja uma forte candidata a fitoextração de metais pesados, porém, pouco se sabe sobre sua capacidade de acumular metais pesados em seus tecidos em ambientes salinos.

Pesquisas recentes, como o de Kahli *et al.* (2021), que avaliaram a capacidade de excreção de cádmio de três espécies de *Atriplex*, dentre elas a *A. nummularia*, na presença ou não de sal em condições hidropônicas, verificaram que *A. nummularia* Lindl. apresentou uma alta concentração de Cd em sua parte aérea principalmente com aditivo de 50 mM NaCl a solução de cultivo, atribuindo sua tolerância a capacidade de seus tecidos lidar com excesso de EROS, ativando defesas antioxidantes restaurando a homeostase celular.

Badache *et al.* (2015) estudando o efeito combinado de solução salina e presença de Cd, verificaram um aumento na produção de biomassa da *A. nummularia* bem como acúmulo e translocação de Cd das raízes a parte aérea, além disso, a pesquisa demonstrou o aumento da excreção do metal nas glândulas da espécie com o aumento da salinidade e sugeriram que a espécie usa o mecanismo de exclusão para remover o excesso de metal para tecidos sensíveis como um possível mecanismo de desintoxicação.

Verificando tolerância da *A. nummularia* Lindl. apenas ao estresse metálico Laghlimi *et al.* (2022), investigando a influência da aplicação de composto orgânico e

fertilizante químico na fitoestabilização de metais pesados, oriundos de rejeitos de minas, por *A. nummularia*, verificaram que a espécie apresentou alta tolerância à contaminação simultânea dos metais pesados do rejeito ($\text{Pb} = 6632 \text{ mg kg}^{-1}$; $\text{Zn} = 142 \text{ mg kg}^{-1}$; $\text{Cu} = 121 \text{ mg kg}^{-1}$) e acumulou grandes quantidades destes metais em suas raízes, imobilizando-os, além disso, a aplicação de composto orgânico e fertilizantes químicos promoveram o crescimento das plantas e maior absorção de metais pesados.

Além disso, Guda *et al.* (2018) avaliando a *A. nummularia* Lindl. em solos desertos e agrícolas ricos em metais pesados relatam que a espécie pode ser considerada um bioindicador da poluição por metais pesados, uma vez que se verificou um acúmulo significativo nas concentrações de Pb, Cd, Co, Ag e Cr.

Em outro estudo Guda *et al.* (2020) verificaram que a *A. nummularia* Lindl. tem alta habilidade em extrair Ag, considerando-a uma hiperacumuladora de prata e a bioacumulação do metal foi maior na folha que raiz.

3. HIPÓTESES.

1. A espécie *A. nummularia* Lindl. possui capacidade de acumular metais pesados (Cd e Pb) em tecidos vegetais, sendo indicada para processos de fitoextração.
2. O potencial fitoextrator de Cd ou Pb na espécie *A. nummularia* Lindl. é ampliado na presença de doses de cloreto de sódio que estimulam a produção de matéria seca e aumento na densidade de tricomas vesiculares encontrados na superfície foliar.
3. Os tricomas vesiculares da espécie acumulam e imobilizam os metais pesados Cd ou Pb, auxiliando no desenvolvimento da espécie em solo contaminado.
4. A densidade de tricomas vesiculares da espécie de *A. nummularia* Lindl. não aumenta quando cultivada em solos contaminados por Cd ou Pb. Esse aumento ocorre apenas na presença de NaCl no ambiente de cultivo.

4. OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial fitoextrator de metais pesados (Cd e Pb) pela espécie de *A. nummularia* Lindl. em condições de salinidade, investigando como diferentes níveis de NaCl influenciam a tolerância e o acúmulo desses metais, verificando as respostas de crescimento, bem como características anatômicas, fisiológicas e bioquímicas da planta.

5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o crescimento, a tolerância e o potencial fitoextrator da *A. nummularia* Lindl. aos metais pesados Cd ou Pb.
- Verificar a influência da salinidade no processo de fitoextração de metais pesados por *A. nummularia* Lindl.
- Utilizar indicadores fisiológicos e bioquímicos, incluindo relações hídricas, trocas gasosas foliares, fluorescência da clorofila, pigmentos fotossintéticos, componentes antioxidantes e solutos compatíveis para avaliar a resposta de *A. nummularia* Lindl. à salinidade e a doses crescentes de metais pesados.
- Identificar os tricomas vesiculares bem como o armazenamento de sais e metais com o uso de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) auxiliada por Energia Dispersiva de Raio-X (EDX).
- Quantificar o conteúdo de Na^+ , Cl^- , K^+ , Cd e Pb nos tricomas vesiculares e na lâmina foliar de *A. nummularia* Lindl.

6. REFERÊNCIAS

- ALFARO, M. R. et al. Heavy Metal Concentrations and Basal Respiration in Contaminated Substrates used in the Cuban Urban Agriculture. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 232, n. 112, 2021. DOI: < <https://doi.org/10.1007/s11270-021-05073-8> >.
- ALTAF, M. A. et al. Unraveling the mechanisms of cadmium toxicity in horticultural plants: Implications for plant health. **South African journal of botany**, v. 163, p. 433–442, 2023. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.10.064>>.
- ASLAM, M.; OKAL, E.; WASEEM, M. Cadmium toxicity impacts plant growth and plant remediation strategies. **Plant Growth Regulation**, v. 99, 2022. DOI: <<https://doi.org/10.1007/s10725-022-00917-7>>.
- BADACHE, H. et al. Phytoextraction of Cd by *Atriplex nummularia* L., a xero-halophyte species. **International Journal of Biosciences (IJB)**, 2015. DOI: <<https://doi.org/10.12692/ijb/6.8.130-5>>.
- BEN SALEM, H. et al. Potential use of oldman saltbush (*Atriplex nummularia* Lindl.) in sheep and goat feeding. **Small Ruminant Research**, v. 91, n. 1, p. 13-28, 2010. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.10.017>>.
- BLACK, R. F. The leaf anatomy of Australian members of the genus *Atriplex*. I. *Atriplex vesicaria* Heward and *A. nummularia* Lindl.. **Australian Journal of Botany**, v. 2, p. 269-286, 1954. DOI: <<https://doi.org/10.1071/BT9540269>>.
- BONILLA, O. H. et al. *Atriplex* – Nova forrageira para solos salinizados no semiárido nordestino. Série documentos. Recife: IPA, p25, 2000.
- CAMBRIDGE, M. L.; ZAVALA-PEREZ, A.; CAWTHRAY, G. R.; MONDON, J.; KENDRICK, G. A. Effects of high salinity from desalination brine on growth, photosynthesis, water relations and osmolyte concentrations of seagrass *Posidonia australis*. **Marine Pollution Bulletin**, v. 115, n. 1-2, p. 252-260, 2017. DOI: < <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.11.066> >.
- CHEN, M. et al. Adaptation mechanism of salt excluders under saline conditions and its applications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 11, p. 3668, 2018. DOI: <<https://doi.org/10.3390/ijms19113668>>.
- CUYPERS, A. et al. Cadmium-induced oxidative stress responses and acclimation in plants require fine-tuning of redox biology at subcellular level. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 199, p. 81-96, 2023. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2023.02.010>>.
- DAF. Department of Agriculture and Fisheries. **Saltbush**. Brisbane: Queensland Government, 2011.
- DASSANAYAKE, M.; LARKIN, J. C. Making plants break a sweat: the structure, function, and evolution of plant salt glands. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 2017. DOI: < <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00406> >.
- DE SOUZA, E. R. et al. Biomass, anatomical changes and osmotic potential in *Atriplex nummularia* Lindl. cultivated in sodic saline soil under water stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 82, p. 20-27, 2012. DOI: < <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.03.007> >.

DE SOUZA, E. R. et al. Fitoextração de sais pela *Atriplex nummularia* Lindl. sob estresse hídrico em solo salino sódico. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 5, 2011. DOI: <<https://doi.org/10.1590/S1415-43662011000500007>>.

EDELSTEIN, M.; BEN-HUR, M. Heavy metals and metalloids: Sources, risks and strategies to reduce their accumulation in horticultural crops. **Scientia Horticulturae**, v. 234, p. 431-444, 2018. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.12.039>>.

EISSA, M. A. Effect of sugarcane vinasse and EDTA on cadmium phytoextraction by two saltbush plants. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p. 10247-10254, 2016. DOI: <<https://doi.org/10.1007/s11356-016-6261-9>>.

EL HASINI, S. et al. Organic and inorganic remediation of soils affected by salinity in the Sebkhah of Sed El Mesjoune – Marrakech (Morocco). **Soil and Tillage Research**, v. 193, p. 153-160, 2019. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.still.2019.06.003>>.

EMMS, J. Old man saltbush. Fact Sheet Index, Pastures Australia, 2008.

ESAU, K. Anatomy of seed plants. **Soil Science**, v. 90, n. 2, p. 149, 1977.

ESWAR, Deepthi; KARUPPUSAMY, Rajan; CHELLAMUTHU, Selvi. Drivers of soil salinity and their correlation with climate change. **Current Opinion in Environmental Sustainability**, v. 50, p. 310-318, 2021. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.cosust.2020.10.015>>.

FAO - Food and Agriculture Organization. **Espécies Vegetales para las Zonas Áridas y Semiaridas de Chile y México**. Roma, p.146, 1996.

FAO, ITPS. Status of the World's Soil Resources: Main Report. Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura e Painel Técnico Intergovernamental sobre Solos, Roma, Itália, v. 650, n. 1, p. 123-146, 2015.

FLOWERS, T. J.; COLMER, T. D. Salinity tolerance in halophytes. **New Phytologist**, v. 179, p. 945-963, 2008. DOI: <<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02531.x>>.

GEISSLER, N. et al. Elevated atmospheric CO₂ concentration leads to different salt resistance mechanisms in a C₃ (*Chenopodium quinoa*) and a C₄ (*Atriplex nummularia*) halophyte. **Environmental and Experimental Botany**, v. 118, p. 67-77, 2015. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.06.003>>.

GUDA, M. A.; MUTALG, N. H.; KADHIM, K. The potential use of *Atriplex nummularia* plant as contamination indicators of heavy metal in different soils. 2018.

GUDA, M. A.; MUTLAG, N. H.; TSEAR, A. A. The use of *Atriplex nummularia* plant as the hyperaccumulators of silver. **AIP Conference Proceedings**, v. 2290, n. 1, 4 December 2020. DOI: <<https://doi.org/10.1063/5.0027565>>.

HASANUZZAMAN, M. et al. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: revisiting the crucial role of a universal defense regulator. **Antioxidants**, v. 9, n. 8, p. 681, 2020. DOI: <<https://doi.org/10.3390/antiox9080681>>.

HASEGAWA, P. M. et al. PLANT CELLULAR AND MOLECULAR RESPONSES TO HIGH SALINITY. **Annual Review of Plant Biology**, v. 51, n. Volume 51, 2000, p. 463-499. DOI: <<https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.51.1.463>>.

HASSINE, A. B.; LUTTS, S. Differential responses of saltbush *Atriplex halimus* L. exposed to salinity and water stress in relation to senescing hormones abscisic acid and ethylene. **Journal of**

Plant Physiology, v. 167, n. 17, p. 1448-1456, 2010. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.05.017>>.

HE, Z. et al. Heavy metal contamination of soils: Sources, indicators, and assessment. **Journal of Environmental Indicators**, v. 9, p. 17-18, 2015.

HEUZÉ, V. et al. Old man saltbush (*Atriplex nummularia*). Feedipedia, um programa do INRAE, CIRAD, AFZ e FAO, 2017.

IAMONICO, D. Studies on the Genus *Atriplex* L. (Amaranthaceae) in Italy. II. Lectotypification of *Atriplex Elongata* Guss. **Candollea**, v. 67, n. 1, p. 181-185, 1 July 2012. DOI: <<https://doi.org/10.15553/c2012v671a18>>.

JALALI, M.; ROSTAEI, L. Lead Distribution in Plant Residues Amended Calcareous Soils as a Function of Incubation Time. **Soil and Sediment Contamination: An International Journal**, v. 21, n. 1, p. 51-61, 2012. DOI: <<https://doi.org/10.1080/15320383.2012.636775>>.

JAYKUMAR, Rangani et al. Coordinated Changes in Antioxidative Enzymes Protect the Photosynthetic Machinery from Salinity Induced Oxidative Damage and Confer Salt Tolerance in an Extreme Halophyte *Salvadora persica* L. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 2016. DOI: <<https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00050>>.

KACHOUT, S. S. et al. Accumulation of Cu, Pb, Ni and Zn in the halophyte plant *Atriplex* grown on polluted soil. **J. Sci. Food Agric.**, v. 92, p. 336-342, 2012. DOI: <<https://doi.org/10.1002/jsfa.4581>>.

KADUKOVA, J.; MANOUSAKI, E.; KALOGERAKIS, N. Pb and Cd Accumulation and Phyto-Excretion by Salt Cedar (*Tamarix Smyrnensis Bunge*). **International Journal of Phytoremediation**, v. 10, n. 1, p. 31-46, 2008. DOI: <<https://doi.org/10.1080/15226510701827051>>.

KAHLI, H. et al. Characterization of cadmium accumulation and phytoextraction in three species of the genus *Atriplex* (*canescens*, *halimus* and *nummularia*) in the presence or absence of salt. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 166, p. 902-911, 2021. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.06.027>>.

KHAN, M. I. R. et al. Regulatory hubs and strategies for improving heavy metal tolerance in plants: Chemical messengers, omics and genetic engineering. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 164, p. 260-278, 2021. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.05.006>>.

KUBIER, A.; PICHLER, T. Cadmium in groundwater – A synopsis based on a large hydrogeochemical data set. **Science of The Total Environment**, v. 689, p. 831-842, 2019. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.499>>.

KUMAR, A. et al. Impact of water deficit (salt and drought) stress on physiological, biochemical and yield attributes on wheat (*Triticum aestivum*) varieties. **The Indian Journal of Agricultural Sciences**, v. 88, n. 10, p. 1624-1632, 2018. DOI: <<https://doi.org/10.56093/ijas.v88i10.84255>>.

KUMAR, A. et al. Physiological response of diverse halophytes to high salinity through ionic accumulation and ROS scavenging. **International Journal of Phytoremediation**, v. 23, n. 10, p. 1041-1051, 2021. DOI: <<https://doi.org/10.1080/15226514.2021.1874289>>.

KUMARI, A. et al. Halophyte Growth and Physiology Under Metal Toxicity. In: **Ecophysiology, Abiotic Stress Responses and Utilization of Halophytes**. Singapore: Springer, p. 83-113. c. 5, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-981-13-3762-8_5>.

- KUSHWAHA, A. et al. A critical review on speciation, mobilization and toxicity of lead in soil-microbe-plant system and bioremediation strategies. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 147, p. 1035-1045, 2018. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.09.049>>.
- LAGHLIMI, M. et al. Influence of compost and chemical fertilizer on multi-metal contaminated mine tailings phytostabilization by *Atriplex nummularia*. **Ecological Engineering & Environmental Technology**, v. 23, n. 6, p. 204-215, 2022. DOI: <<https://doi.org/10.12912/27197050/152915>>.
- LE HOUÉROU, H. N. The role of saltbushes (*Atriplex spp.*) in arid land rehabilitation in the Mediterranean Basin: a review. **Agroforest Syst**, v. 18, p. 107-148, 1992. DOI: <<https://doi.org/10.1007/BF00115408>>.
- LI, B. et al. Halophyte Halogeton glomeratus, a promising candidate for phytoremediation of heavy metal-contaminated saline soils. **Plant Soil**, v. 442, p. 323-331, 2019. DOI: <<https://doi.org/10.1007/s11104-019-04152-4>>.
- LIANG, L. et al. Phytoremediation of heavy metal contaminated saline soils using halophytes: current progress and future perspectives. **Environmental Reviews**, v. 25, n. 3, p. 269-281, 2017. <<https://doi.org/10.1139/er-2016-0063>>
- LIANG, W. et al. Plant salt-tolerance mechanism: A review. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 495, n. 1, p. 286-291, 2018. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.11.043>>.
- LINS, C. M. T. et al. Pressure-volume (P-V) curves in *Atriplex nummularia* Lindl. for evaluation of osmotic adjustment and water status under saline conditions. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 124, p. 155-159, 2018. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.01.014>>.
- LITALIEN, A.; ZEEB, B. Curing the earth: A review of anthropogenic soil salinization and plant-based strategies for sustainable mitigation. **Science of The Total Environment**, v. 698, p. 134235, 2020. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134235>>.
- LIU, J.J. et al. Effects of dissolved oxygen, salinity, nitrogen and phosphorus on the release of heavy metals from coastal sediments. **Science of The Total Environment**, v. 666, p. 894-901, 2019. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.288>>.
- LLANES, A. et al. Chapter 6 - Metabolomic Approach to Understand Plant Adaptations to Water and Salt Stress. **Plant Metabolites and Regulation Under Environmental Stress. Academic Press**, p. 133-144, 2018. DOI: <<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812689-9.00006-6>>.
- LU, C. et al. Current Understanding of Role of Vesicular Transport in Salt Secretion by Salt Glands in Recretohalophytes. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 4, p. 2203, 2021. DOI: <<https://doi.org/10.3390/ijms22042203>>.
- LUO, J. S. et al. A defensin-like protein drives cadmium efflux and allocation in rice. **Nat Commun**, v. 9, p. 645, 2018. DOI: <<https://doi.org/10.1038/s41467-018-03088-0>>.
- LUTTS, S.; LEFÈVRE, I. How can we take advantage of halophyte properties to cope with heavy metal toxicity in salt-affected areas? **Annals of Botany**, v. 115, n. 3, p. 509-528, 2015. DOI: <<https://doi.org/10.1093/aob/mcu264>>
- MANOUSAKI, E.; KALOGERAKIS, N. Halophytes—An Emerging Trend in Phytoremediation. **International Journal of Phytoremediation**, v. 13, n. 10, p. 959-969, 2011. DOI: <<https://doi.org/10.1080/15226514.2010.532241>>.

MANSOUR, M. M. F.; ALI, E. F. Glycinebetaine in saline conditions: an assessment of the current state of knowledge. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 39, n. 56, 2017. DOI: <<https://doi.org/10.1007/s11738-017-2357-1>>.

MEENA, M. D. et al. Municipal solid waste (MSW): Strategies to improve salt affected soil sustainability: A review. **Waste Management**, v. 84, p. 38-53, 2019. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.11.020>>.

MELO, H. F. et al. Water potential in soil and *Atriplex nummularia* (phytoremediator halophyte) under drought and salt stresses. **International Journal of Phytoremediation**, v. 20, n. 3, p. 249-255, 2018. DOI: <<https://doi.org/10.1080/15226514.2017.1374334>>.

MINHAS, P. S.; YADAV, R. K.; BALI, A. Perspectives on reviving waterlogged and saline soils through plantation forestry. **Agricultural Water Management**, v. 232, p. 106063, 2020. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106063>>.

MUHAMMAD, M. et al. Soil salinity and drought tolerance: An evaluation of plant growth, productivity, microbial diversity, and amelioration strategies. **Plant Stress**, v. 11, p. 100319, 2023. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100319>>.

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of Salinity Tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 651-681, 2008. DOI: <<https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>>

NASCIMENTO, C. W. A. et al. Using plants to remediate or manage metal-polluted soils: an overview on the current state of phytotechnologies. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 43, n. 1, e58283, 2021. DOI: <<https://doi.org/10.4025/actasciagron.v43i1.58283>>.

NIKALJE, G. C.; SUPRASANNA, P. Coping with metal toxicity – cues from halophytes. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 777, 2018. DOI: <<https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00777>>.

OLIVARES, A. Los arbustos del género *Atriplex* y su importancia como especies forrageras. In: **Actas del encuentro del estado de las investigaciones sobre manejo silvopastoral** en Chile. Proyecto CONAF/PNUD/FAO. Talca, Universidad de Talca, Dpt°. Ing. Florestal. P. 5-13, 1983.

ORREGO, F. et al. Effect of single and combined Cu, NaCl and water stresses on three *Atriplex* species with phytostabilization potential. **South African Journal of Botany**, v. 131, p. 161-168, 2020. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.02.021>>.

OLIVEIRA, A. S. L. D. et al.. GROWTH AND PHOTOSYNTHETIC EFFICIENCY OF *Atriplex nummularia* UNDER DIFFERENT SOIL MOISTURE AND SALINE TAILINGS. **Revista Caatinga**, v. 32, n. 2, p. 493–505, abr. 2019. DOI: <<https://doi.org/10.1590/1983-21252019v32n222rc>>.

PAULINO, M. K. S. S. et al. Influence of vesicular trichomes of *Atriplex nummularia* on photosynthesis, osmotic adjustment, cell wall elasticity and enzymatic activity. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 155, p. 177-186, 2020. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.07.036>>.

PATEL, M. K. et al. Comparative metabolomics unveils the role of metabolites and metabolic pathways in the adaptive mechanisms of shrubby halophytes. **Environmental and Experimental Botany**, v. 202, p. 105030, 2022. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2022.105030>>.

PANTA, S. et al. Halophyte agriculture: Success stories. **Environmental and Experimental Botany**, v. 107, p. 71-83, 2014. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.05.006>>.

- PARVEZ, S. et al. Effect of salinity on physiological, biochemical and photostabilizing attributes of two genotypes of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) exposed to arsenic stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 187, p. 109814, 2020. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109814>>.
- PRIYA, A. K. et al. Clean-up of heavy metals from contaminated soil by phytoremediation: a multidisciplinary and eco-friendly approach. **Toxics**, v. 11, n. 5, p. 422, 2023. DOI: <<https://doi.org/10.3390/toxics11050422>>.
- QADIR, M. et al. Phytoremediation of Sodic and Saline-Sodic Soils. **Advances in Agronomy**, v. 96, p. 197-247, 2007. DOI: <[https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(07\)96006-X](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(07)96006-X)>.
- RAHMANCULOVA, Z. F. et al. Comparative Study on Resistance of C3 and C4 Xerohalophytes of the Genus *Atriplex* to Water Deficit and Salinity. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 66, p. 250-258, 2019. DOI: <<https://doi.org/10.1134/S1021443719020109>>.
- REHMAN, Ata Ur et al. Toxicity of heavy metals in plants and animals and their uptake by magnetic iron oxide nanoparticles. **Journal of Molecular Liquids**, v. 321, p. 114455, 2021. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.114455>>.
- REHMAN, M. Z. u. et al. Remediation of heavy metal contaminated soils by using *Solanum nigrum*: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 143, p. 236-248, 2017. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.05.038>>.
- RICHARDS, Lorenzo Adolph (Ed.). **Diagnosis and improvement of saline and alkali soils**. US Government Printing Office, 1954.
- SAHU, P. K. et al. ROS generated from biotic stress: Effects on plants and alleviation by endophytic microbes. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, 2022. DOI: <<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1042936>>.
- SAMPSON, J. F.; BYRNE, M. Genetic diversity and multiple origins of polyploid *Atriplex nummularia* Lindl. (Chenopodiaceae). **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 105, n. 1, p. 218-230, January 2012. DOI: <<https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2011.01787.x>>.
- SHRIVASTAVA, P.; KUMAR, R. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 22, n. 2, p. 123-131, 2015. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.12.001>>.
- SILVA, I. R. et al. Differential aluminum tolerance in soybean: An evaluation of the role of organic acids. **Physiologia Plantarum**, v. 112, p. 200-210, 2001. DOI: <<https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2001.1120208.x>>.
- SILVEIRA, J. A. G. et al. Roots and leaves display contrasting osmotic adjustment mechanisms in response to NaCl-salinity in *Atriplex nummularia*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 66, n. 1, p. 1-8, 2009. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2008.12.015>>.
- SINGH, A. et al. Reactive oxygen species-mediated signaling during abiotic stress. **Plant Gene**, v. 18, p. 100173, 2019. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.plgene.2019.100173>>.
- SCUDIERO, E.; SKAGGS, T. H.; CORWIN, D. L. Simplifying field-scale assessment of spatiotemporal changes of soil salinity. **Science of The Total Environment**, v. 587–588, p. 273-281, 2017. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.136>>.

SHAH, V.; DAVEREY, A. Phytoremediation: A multidisciplinary approach to clean up heavy metal contaminated soil. **Environmental Technology & Innovation**, v. 18, p. 100774, 2020. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.100774>>.

STRAIN, B. R. Physiological ecology of *Atriplex*. **Ecology**, v. 62, p. 1403-1403, 1981. DOI: <<https://doi.org/10.2307/1937309>>.

SUBAŠIĆ, M. et al. Phytoremediation of cadmium polluted soils: Current status and approaches for enhancing. **Soil Systems**, v. 6, n. 1, p. 3, 2022. DOI: <<https://doi.org/10.3390/soilsystems6010003>>.

TANG, J. et al. Diagnosis of soil contamination using microbiological indices: A review on heavy metal pollution. **Journal of Environmental Management**, v. 242, p. 121-130, 2019. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.04.061>>.

TANG, J. et al. Physicochemical features, metal availability and enzyme activity in heavy metal-polluted soil remediated by biochar and compost. **Science of The Total Environment**, v. 701, p. 134751, 2020. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134751>>.

TCHOUNWOU, P. B. et al. Heavy metal toxicity and the environment. In: LUCH, A. (Ed.). **Molecular, Clinical and Environmental Toxicology**. Experientia Supplementum, vol. 101. Basel: Springer, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_6>.

TIWARI, S.; LATA, C. Heavy metal stress, signaling, and tolerance due to plant-associated microbes: An overview. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, 2018. DOI: <<https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00452>>.

USMAN, Z. et al. Cadmium Phytotoxicity, Tolerance, and Advanced Remediation Approaches in Agricultural Soils; A Comprehensive Review. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, 2022. DOI: <<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.773815>>.

VEZZA, M. E. et al. Arsenic stress effects on root water absorption in soybean plants: Physiological and morphological aspects. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 123, p. 8-17, 2018. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.11.020>>.

WANG, H. L. et al. Remediation of heavy metals contaminated saline soils: A halophyte choice? **Environmental Science & Technology**, v. 48, n. 1, p. 21-22, 2014. DOI: <<https://doi.org/10.1021/es405052j>>.

WU, L. et al. Assessing the impact of different salinities on the desorption of Cd, Cu and Zn in soils with combined pollution. **Science of The Total Environment**, v. 836, p. 155725, 2022. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155725>>.

YAN, J. et al. Effect and mechanism of nano-materials on plant resistance to cadmium toxicity: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 266, p. 115576, 2023. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115576>>.

YAO, L. et al. Influences of heavy metals and salt on seed germination and seedling characteristics of halophyte *Halogeton glomeratus*. **Bull Environ Contam Toxicol**, v. 106, p. 545-556, 2021. DOI: <<https://doi.org/10.1007/s00128-021-03130-w>>.

ZHAI, X. et al. Remediation of multiple heavy metal-contaminated soil through the combination of soil washing and in situ immobilization. **Science of The Total Environment**, v. 635, p. 92-99, 2018. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.119>>.

ZHANG, H. et al. Toxic effects of heavy metals Pb and Cd on mulberry (*Morus alba* L.) seedling leaves: Photosynthetic function and reactive oxygen species (ROS) metabolism responses. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 195, p. 110469, 2020. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110469>>.

ZHANG, S. et al. Salinity influences Cd accumulation and distribution characteristics in two contrasting halophytes, *Suaeda glauca* and *Limonium aureum*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 191, p. 110230, 2020. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110230>>.

ZHAO, C. et al. Mechanisms of plant responses and adaptation to soil salinity. **The Innovation**, v. 1, n. 1, p. 100017, 2020. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.xinn.2020.100017>>.

ZHOU, M.; ENGELMANN, T.; LUTTS, S. Salinity modifies heavy metals and arsenic absorption by the halophyte plant species *Kosteletzkya pentacarpos* and pollutant leaching from a polycontaminated substrate. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 182, p. 109460, 2019. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109460>>.

ZWOLAK, A. et al. Sources of soil pollution by heavy metals and their accumulation in vegetables: a review. **Water Air Soil Pollut**, v. 230, p. 164, 2019. DOI: <<https://doi.org/10.1007/s11270-019-4221-y>>.

CAPÍTULO II

USO DE *Atriplex nummularia* NA FITORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS POR CÁDMIO NA PRESENÇA DE SALINIDADE

PAULINO, MARTHA KATHARINNE SILVA SOUZA. MSc. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Junho de 2024. **Uso de *Atriplex nummularia* na fitorremediação de solos contaminados por cádmio na presença de salinidade.**

Orientador: Prof. Dr. Edivan Rodrigues de Souza

Co-orientadores: Dr^a. Cintia Maria Teixeira Lins

Prof. Dr. Clístenes Williams Araújo do Nascimento

RESUMO

A contaminação simultânea por sais e metais pesados vem crescendo ao longo dos anos e plantas halófitas têm sido indicadas como possíveis candidatas para recuperação de solos salinos contaminados por metais pesados, uma vez que estas são capazes de sobreviver a altas concentrações de sais no solo em função de mecanismos bioquímicos e anatômicos de adaptação. Assim, essa pesquisa objetivou avaliar a halófito *Atriplex nummularia* Lindl. na fitoextração de solos contaminados por Cd na presença de salinidade, verificando ainda a influência do NaCl na tolerância e acúmulo deste metal. Foram realizados dois experimentos sequenciais, em que o primeiro experimento (EXP I) foi avaliada a performance da *A. nummularia* Lindl. quanto à tolerância e acumulação de Cd, em seis concentrações distintas de 0, 10, 20, 30, 40, 50 mg kg⁻¹ na presença (Luvisolo de caráter Salino- LS) e ausência (Luvisolo de caráter Não Salino- LNS) de salinidade. O segundo experimento (EXP II) foi conduzido a partir dos resultados obtidos no EXP I em que selecionou-se a maior dose de Cd que apresentou a maior Biomassa Seca da Parte Aérea (BMS_{PA}) quando cultivado em LS. Após isso, o experimento foi conduzido em LS utilizando cinco concentrações distintas: 0, 50, 100, 150 e 200 mmol L⁻¹ de NaCl aplicados via água de irrigação. Para ambos os experimentos, foram adotados parâmetros fisiológicos relacionados a relações hídricas (potencial hídrico, osmótico, pressão, teor relativo de água, ajustamento osmótico), anatômicas (densidade de tricomas) e teor de Cd e solutos inorgânicos nos tecidos foliares e nas vesículas (Na⁺, K⁺, Cl⁻) com o intuito de verificar o desempenho da espécie (tolerância e fitoextração). Os resultados da pesquisa revelaram que a espécie *A. nummularia* Lindl. apresenta capacidade de acumular Cd nos tecidos, sendo uma potencial candidata para processos de fitoestabilização, e na presença de salinidade para processos de fitoextração. Sem a presença de salinidade, a espécie apresentou tolerância a solos contaminados por Cd até a dose de 50 mg kg⁻¹, apresentando manutenção da biomassa, status hídricos e com acúmulo 52,80 mg kg⁻¹ de Cd na Parte Aérea e 82 mg kg⁻¹ nas raízes. Com a presença de salinidade no solo, as características estudadas se sobressaíram em relação as plantas cultivadas sem salinidade entre as doses de 20 e 30 mg kg⁻¹ de Cd, acumulando inclusive o metal em seus tecidos vegetais e exibindo valores do fator de translocação maiores que 1, indicando a espécie como uma possível candidata a fitoextração de Cd. A pesquisa também indicou que a dose de 30 mg kg⁻¹ seria a dose limiar beneficiada pela salinidade do solo e os tricomas vesiculares, acumulam Cd auxiliando no desenvolvimento da espécie em solo contaminado. A maior densidade de tricomas vesiculares foi observada em solo salino tratado com Cd, acumulando simultaneamente os íons de Na⁺, Cl⁻ e Cd, indicando que essas estruturas não possuem uma rígida seletividade.

Palavras chaves: fitoextração; fitoestabilização; halófito; erva sal; relações hídricas;

PAULINO, MARTHA KATHARINNE SILVA SOUZA. MSc. Rural Federal University of Pernambuco. 2024 June. **Performance of *Atriplex nummularia* in the phytoextraction of heavy metals in saline environment.**

Advisor: Prof. Dr. Edivan Rodrigues de Souza
Co-advisors: Dr^a. Cintia Maria Teixeira Lins
Prof. Dr. Clístenes Williams Araújo do Nascimento

ABSTRACT

Simultaneous contamination by salts and heavy metals has been increasing over the years and halophyte plants have been indicated as possible candidates for the recovery of saline soils contaminated by heavy metals, since they are capable of surviving high concentrations of salts in the soil due to from biochemical to anatomical adaptation mechanisms. Thus, this research aimed to evaluate the halophyte *Atriplex nummularia* Lindl. in the phytoextraction of soils contaminated by Cd in the presence of salinity, also verifying the influence of NaCl on the tolerance and accumulation of this metal. Two sequential experiments were carried out, in which the first experiment (EXP I) evaluated the performance of *A. nummularia* Lindl. regarding tolerance and accumulation of Cd, in six different concentrations of 0, 10, 20, 30, 40, 50 mg kg⁻¹ in the presence (Saline Luvisol - SL) and absence (Non-Saline Luvisol - NSL) of salinity. The second experiment (EXP II) was conducted based on the results obtained in EXP I, in which the highest dose of Cd was selected that presented the highest Dry Biomass of the Aboveground Part (BMS_{PA}) when cultivated in LS. After that, the experiment was conducted in SL using five different concentrations (0, 50, 100, 150 and 200 mmol) of NaCl applied via irrigation water. For both experiments, physiological parameters related to water relations (water potential, osmotic, pressure, relative water content, osmotic adjustment), anatomical (trichome density) and content of Cd and inorganic solutes in leaf tissues and vesicles were adopted (Na⁺, K⁺, Cl⁻) in order to verify the performance of the species (tolerance and phytoextraction). The research results revealed that the species *A. nummularia* Lindl. has the ability to accumulate Cd in tissues, being a potential candidate for phytostabilization processes, and in the presence of salinity for phytoextraction processes. Without the presence of salinity, the species showed tolerance to soils contaminated by Cd up to a dose of 50 mg kg⁻¹, maintaining biomass and water status and with an accumulation of 52.80 mg kg⁻¹ of Cd in the aerial part and 82 mg kg⁻¹ in the roots. With the presence of salinity in the soil, the characteristics studied stood out in relation to plants grown without salinity between doses of 20 and 30 mg kg⁻¹ of Cd, even accumulating the metal in their plant tissues and exhibiting higher translocation factor values. than 1, indicating the species as a possible candidate for Cd phytoextraction. The research also indicated that the dose of 30 mg kg⁻¹ would be the threshold dose benefited by soil salinity and the vesicular trichomes accumulate Cd, aiding in the development of the species in contaminated soil. The highest density of vesicular trichomes was observed in saline soil treated with Cd, simultaneously accumulating Na⁺, Cl⁻ and Cd ions, indicating that these structures do not have rigid selectivity.

Key words: phytoextraction; phytostabilization; halophyte; salt herb; water relations;

1. INTRODUÇÃO

O acúmulo de metais pesados no solo e na água é um dos principais problemas causados por contaminantes inorgânicos e sua presença em solos agrícolas em grandes quantidades tem impacto significativo na segurança alimentar e saúde humana (Oladoye *et al.*, 2022). Da mesma forma, a salinidade do solo, é outro problema que afeta negativamente a produtividade agrícola, especialmente em zonas áridas e semiáridas do mundo, ambos os estresses são resultado de atividades naturais, antropogênicas mal geridas e ocorrem simultaneamente em áreas agrícolas de todo o mundo, diminuindo o crescimento e rendimento das plantas (Ishtiyag *et al.*, 2023).

Dentre os metais pesados, o cádmio (Cd) é um elemento não essencial com efeitos tóxicos para plantas e animais, está naturalmente presente na atmosfera, rochas sedimentares e solos, como também apresenta fontes antrópicas, que incluem a aplicação de agroquímicos, eliminação ou reutilização de resíduos industriais ou urbanos (Subašić *et al.*, 2022). A presença de Cd nas plantas, pode ocorrer pela sua absorção presente no solo contaminado, ou na água de irrigação ou deposição atmosférica, acumulando-se posteriormente em diferentes tecidos vegetais, causando toxidez (Zulfiqar *et al.*, 2022).

Para superar toxicidade do Cd, muitas plantas apresentam mecanismos adaptativos como quelação, compartimentação e sistemas de defesa antioxidante, mitigando os efeitos deletérios causados, porém, estes mecanismos podem apresentar limitações dependendo da concentração de Cd no ambiente (Altaf *et al.*, 2023).

Nesse contexto, a recuperação de solos contaminados, principalmente por metais pesados, é possível através de abordagens que incluem tratamentos físicos e químicos, como lavagem de solo, remediação eletrocinética e fitorremediação, porém a eficácia destes métodos depende de fatores como o tipo de solo, a natureza dos contaminantes e o uso final desejado do solo remediado (Priya *et al.*, 2023).

Destas abordagens, a fitorremediação tem sido considerada uma técnica promissora para solos poluídos por metais por ser uma técnica ecologicamente correta e econômica, além de poder se utilizada sozinha ou de forma combinada com outras técnicas de remediação (Zhang *et al.*, 2023).

Para fitorremediação, a maioria das plantas utilizadas são glicófitas, que não apresentam tolerância a presença de sais no solo, não sobrevivendo em solos salinos poluídos por metais pesados, assim, estudos com espécies halófitas têm emergido por desenvolverem uma série de estratégias morfológicas, fisiológicas e bioquímicas

eficientes para proliferar em ambientes com alto teor de sal e metal pesado (Ishtiyag *et al.*, 2023).

Diversos estudos têm apresentado espécies de *Atriplex* como boas candidatas a programas de fitoextração de metais pesados no solo (Lefèvre *et al.*, 2009; Rémi Suaire *et al.*, 2016; Nedjimi *et al.*, 2022; Shahrokh *et al.*, 2022). Entretanto, estudos com a *A. nummularia* Lindl. neste contexto ainda são escassos, mesmo sendo uma espécie muito promissora, devido sua tolerância, capaz de se desenvolver em condições adversas e produzindo biomassa ao longo de todo ano além de (DAF, 2011; Emms, 2008).

Além disso, os mecanismos adaptativos que conferem alta tolerância ao sal da *A. nummularia* Lindl. como a ação coordenada entre o ajuste osmótico, o acúmulo, compartimentação e excreção de sais, juntamente com seu metabolismo de carbono, desintoxicação de EROs, manutenção da eficiência do uso da água e manutenção das relações hídricas (De Souza *et al.*, 2012; Hussin *et al.*, 2013; Melo *et al.*, 2018; Paulino *et al.*, 2020), confere a espécie alto potencial de tolerância aos metais pesados.

Assim, a presente pesquisa teve como objetivo avaliar o potencial fitoextrator de Cd na presença de salinidade da espécie de *A. nummularia* Lindl., avaliando ainda a influência do NaCl na tolerância e acúmulo do Cd através de respostas nas características anatômicas e fisiológicas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Localização e caracterização do ambiente experimental

Os experimentos foram conduzidos em ambiente protegido do Centro de Pesquisa Vegetais (CEPEVE) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), situado no campus Sede localizado em Recife-PE (8°04'03'' de latitude sul, 34°55'00'' de longitude oeste e altitude de 4 m).

A estrutura apresentava cobertura com filme plástico de difusão e tela anti-afídeo em suas laterais. Suas dimensões internas eram de 11 x 6 m, totalizando 66 m², possui piso e bancadas internas de concreto com distanciamento de 1,5 m (**Figura 1**).



Figura 1 – Local da condução dos experimentos, ambiente protegido do CEPEVE/UFRPE

2.2. Caracterização dos solos e layout das unidades experimentais

Os solos utilizados na pesquisa foram oriundos do Perímetro Irrigado Manga de Baixo, localizado no município de Belém do São Francisco – PE. Foram coletadas amostras do horizonte Bt de solos que possuíam mesma ordem e classe textural, classificados como Luvisolos - SiBCS (2018) ou *Luvisols* - WRB (IUSS Working Group WRB, 2015) argilo siltoso e apresentavam caráter não salino (LNS) (CEes = 1,89dS/m) e salino (LS) (CEes = 14,23dS/m) conforme classificação de Richards (1954).

Os Luvisolos se encontrados normalmente nas áreas de clima seco e temperaturas variáveis, estes solos ocupam grandes extensões nos estados do Ceará, Paraíba,

Pernambuco e Rio Grande do Norte. As áreas onde são predominantes perfazem um total de 98.938 km² e constituem 13,3% da região semiárida (Jacomine, 1996). Este solo tem elevado potencial nutricional, com altas quantidades de nutrientes disponíveis às plantas e de minerais primários facilmente intemperizáveis, são ricos em bases trocáveis, especialmente o potássio. São bastante utilizados com pecuária extensiva, palma forrageira e agricultura de sequeiro (Leite, 2022).

Após a coleta os solos foram armazenados e posteriormente destorroados, peneirados (Ø 4 mm), homogeneizados e acondicionados em vasos. Para caracterização física e química (**Tabela 2** e **Tabela 3**) foram utilizadas subamostras passadas em peneira de malha de 2 mm.

Tabela 2- Caracterização química dos solos utilizados no experimento (I e II)

LUVISSOLO	CE	pH	Na	K	Ca	Mg	S	H+Al	CTC	V	PST	P
	dS.m ⁻¹	(H ₂ O)								%		
NÃO SALINO												
Média	1,89	7,19	0,28	0,4	6,5	1,9	9,1	0,49	9,6	95	3%	5,0
Desvio Padrão	±0,12	±0,04	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01
SALINO												
Média	14,23	6,21	1,11	0,13	15,90	4,3	21,4	1,07	22,6	95	5%	2,0
Desvio Padrão	±0,61	±0,04	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01

CE: Condutividade elétrica; pH: potencial hidrogeniônico; CTC: Capacidade de troca de cátions; V= saturação por base;

As caracterizações físicas dos solos (Tabela 3), foram realizadas por meio de análises de granulometria, separando as frações em areia fina, areia grossa, silte e argila; argila dispersa em água pelo método do densímetro; densidade do solo pelo método da proveta e densidade de partículas pelo método do balão volumétrico (Teixeira et al., 2017).

Tabela 3 - Caracterização física dos solos utilizados no experimento (I e II)

LUVISSOLO	Ds	Dp	Pt	AT	AF	AG	Argila	Silte	Classe textural	ADA	GF	
	g.cm ⁻³		%		g.kg ⁻¹						%	
NÃO SALINO												
Média	1,53	2,70	43,48	70,9	54,7	16,2	506,7	422,4	Argilo siltosa	124,93	70,42	
Desvio Padrão	±0,01	±0,03	±0,01	±0,60	±0,70	±0,50	±1,20	±0,01		±0,01	±0,01	
SALINO												
Média	1,68	2,74	38,94	63,0	48,9	14,1	462,9	474,1	Argilo siltosa	175,29	63,03	
Desvio Padrão	±0,01	±0,03	±0,01	±0,80	±1,00	±0,50	±0,80	±0,01		±0,01	±0,01	

Ds: Densidade do solo, pelo método da proveta; Dp: Densidade de partícula, pelo método do balão volumétrico; PT: Porosidade total; AT: Areia total; AG: Areia grossa; AF: areia fina; ADA: Argila dispersa em água; GF: Grau de floculação.

As unidades experimentais foram compostas de um sistema fechado, sem drenagem, composto por vasos de polietileno, com 15 cm de altura e capacidade de 5 L, dispostos em fileiras com espaçamento de 0,5 m, preenchidos com os solos coletados.

2.3.1. Delineamento experimental e tratamentos

Dois experimentos foram conduzidos em delineamento em blocos casualizados. O experimento I (EXP I), realizado no período de 17/04/2023 a 17/05/2023 (30 dias), consistiu na avaliação da tolerância ao Cd da *A. nummularia* Lindl. As plantas foram cultivadas sob seis concentrações de Cd no solo (0, 10, 20, 30, 40 e 50 mg kg⁻¹) em dois solos de mesma ordem e classe textural, porém um de caráter salino (LS) e outro não salino (LNS). As doses foram escolhidas com base nos valores limites de investigação do metal no solo segundo a Resolução CONAMA 420/2009 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (Conama, 2009) e em estudos com diferentes espécies de *Atriplex* (Manousaki; Kalogerakis, 2009; Eissa *et al.*, 2017; Zhang *et al.*; 2016).

Para o experimento II (EXP II), realizado no período de 16/09/2023 a 16/10/2023 (30 dias), foi selecionado uma dose de Cd utilizando como indicador de tolerância a variável de biomassa seca da parte aérea. A dose selecionada foi a que as plantas cultivadas apresentaram o maior valor para BMS_{PA} no LS em relação ao LNS. Assim, as plantas foram cultivadas no LS irrigado com cinco concentrações distintas de NaCl (0, 50, 100, 150 e 200 mmol L⁻¹) com o objetivo de verificar a influência do incremento das concentrações salinas na absorção e tolerância da *A. nummularia* Lindl. aos metais pesados, conforme esquema abaixo (**Figura 2**).

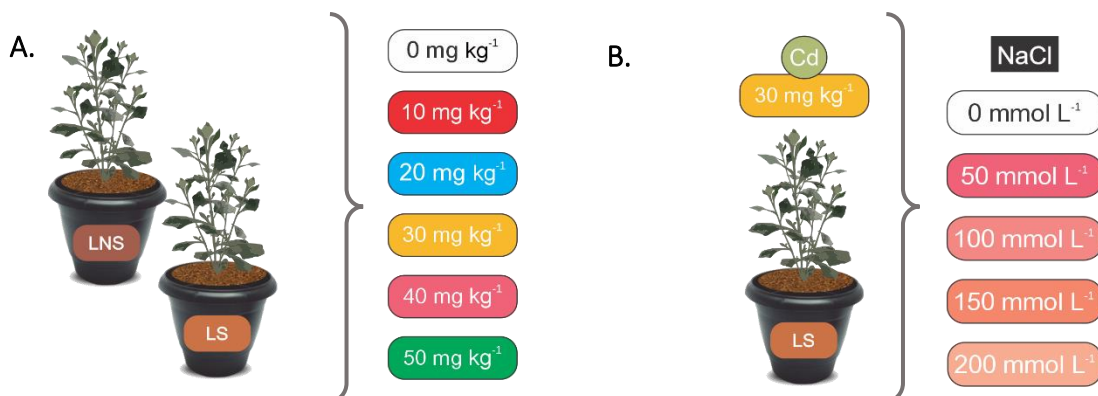


Figura 2 - Ilustração esquemática: A. Experimento I e B. Experimento II

2.3.2. Análise de dados

O EXP I foi conduzido em delineamento em blocos casualizados, e analisado em esquema fatorial (2x6) relativo a dois Luvisolos (LNS e LS) e seis teores de Cd no solo (0, 10, 20, 30, 40 e 50 mg kg⁻¹), com 4 repetições totalizando 48 unidades experimentais. Já o EXP. II também seguiu o delineamento em blocos casualizados com plantas cultivadas no LS, com uma dose de Cd escolhida com base na Biomassa Seca da Parte aérea do EXP I, submetidas a irrigação com cinco concentrações distintas de NaCl (0, 50, 100, 150 e 200 mmol L⁻¹), e 4 repetições totalizando 20 unidades experimentais.

Os resultados obtidos foram organizados, tabulados e submetidos a análise de variância (ANOVA) com o teste F. As interações e fatores quantitativos avaliados que apresentaram diferença significativa de 5 ou 1%, por meio da ANOVA, foram desdobradas e submetidas a análise de regressão, verificando significância e melhor ajuste através da avaliação do coeficiente de regressão (R²). Os fatores qualitativos que apresentaram diferença significativa de 5 ou 1% foram submetidos a teste de média de Tukey. Foi realizado também avaliações das médias, medianas, modas e desvio padrão.

2.4. Cultivo da *Atriplex nummularia*

Mudas de *A. nummularia* Lindl. provenientes do Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA) foram cultivadas em ambiente protegido em vasos de 60 L para formação de matrizes. A partir destas, novas mudas, de ambos experimentos, foram propagadas por estaquia, utilizando uma única planta como matriz para minimizar a variabilidade genética.

As mudas foram cultivadas inicialmente em sacos de polietileno contendo areia lavada como substrato e irrigadas diariamente com solução nutritiva de Hoagland; Arnon (1950) a ½ de força iônica. Após sessenta dias após plantio, estando completamente enraizadas e aclimatadas, as mudas foram tiradas da areia lavada e transplantadas para os vasos de polietileno já caracterizados, onde permaneceram até o final do experimento (**Figura 3**).



Figura 3 – (A) Mudas de *A. nummularia* Lindl. propagadas por estaqueamento e cultivadas em areia lavada e solução nutritiva; (B) Mudas de *A. nummularia* Lindl. no momento de transplante, evidenciando suas raízes. (C) Preparação dos vasos com Luvisso de caráter salino e não salino já contaminado com doses crescentes de Cd para receber as mudas. (D) Finalização da montagem do experimento I com o transplante das mudas de *A. nummularia* Lindl. para vasos com Luvisso de caráter salino e não salino contaminado com doses crescentes de Cd.

2.5. Incubação das doses de cádmio

No EXP I os solos foram incubados com soluções de cloreto de cádmio (CdCl_2), de forma a obter seis concentrações distintas: 0, 10, 20, 30, 40 e 50 mg kg^{-1} de Cd. Após a adição das soluções, a umidade do solo das unidades experimentais foi ajustada para 80% da capacidade máxima de retenção, a qual foi mantida através da reposição diária de água perdida por evaporação. Esse manejo foi mantido por 30 dias com o objetivo de obter o equilíbrio químico. No EXP II a incubação do solo seguiu a mesma metodologia, porém utilizou-se apenas uma dose de Cd escolhida conforme descrito na seção 2.3.

2.6. Manejo da água

A irrigação foi realizada diariamente sempre no final da tarde utilizando uma balança digital, cuja reposição foi baseada na água perdida por evapotranspiração, de modo a manter o solo a 80% da capacidade máxima de retenção.

Para o EXP I, a irrigação foi realizada diariamente com água de abastecimento local, com condutividade elétrica (CE) caracterizada, apresentando média de $\approx 0,07 \text{ dS.m}^{-1}$. Para o EXP II, a irrigação inicialmente se deu através da aplicação de NaCl via água de irrigação de forma gradual e proporcional até atingir as concentrações de 0, 50, 100 150 e 200 mmol L^{-1} .

Todas as análises, de ambos os experimentos, foram realizadas após 30 dias da aclimação das plantas aos tratamentos. Este tempo foi estimado suficiente para

avaliação das mudanças fisiológicas e anatômicas da espécie, dada as condições experimentais impostas.

2.6. Avaliações biométricas (Determinação da biomassa fresca e Seca da parte aérea, raiz e área foliar)

Aos 30 dias após o início da aplicação dos tratamentos, de ambos os experimentos, as plantas foram cortadas na altura próximo à superfície do solo, acondicionadas em caixas de isopor com gelo e levadas ao laboratório onde foi determinado a massa fresca (MF) da parte aérea, contendo caule e folhas.

As raízes foram coletadas retirando-se o excesso de solo e posterior lavagem em torneira com água corrente até completa retirada de solo. A lavagem foi realizada com auxílio de peneira de 2 mm, para evitar perdas de material, após a lavagem, as raízes foram envolvidas em papel toalha para retirada do excesso de água e quantificado o peso fresco das raízes.

Para obtenção da massa seca (MS), parte aérea (folha + caule) e raízes foram acondicionadas em embalagem de papel e colocadas em estufa de circulação forçada com temperatura de 65 °C até adquirem peso constante.

A área foliar (AF) foi estimada com base no método dos discos foliares e consistiu na coleta de discos foliares de área conhecida (Área do disco $\approx 0,2 \text{ cm}^2$). Os discos foram acondicionados em embalagens de papel, levados para secagem em estufa (65° C por 72 horas) e pesados posteriormente obtendo-se a massa seca. A área foliar foi estimada pela

$AF = (MSF + MSD) * ADF / MSD$ **Equação 1** (Souza *et al.*, 2012).

$$AF = \frac{(MSF + MSD) * ADF}{MSD} \quad \text{Equação 1}$$

Em que:

AF = área foliar estimada (cm^2);

MSF = massa seca das folhas (g);

MSD = massa seca dos discos (g);

ADF = área do disco foliar retirado da folha (cm^2);

2.7. Concentração de metais e solutos inorgânicos na planta

A determinação das concentrações de metais e solutos inorgânicos foram realizadas na parte aérea (folha + caule) e tricomas das folhas das plantas aos 30 dias após a imposição dos tratamentos de ambos os experimentos.

2.7.1. Remoção dos tricomas e medição das concentrações de Na^+ , K^+ e Cd

Para a remoção dos tricomas, aproximadamente 1g de peso fresco das folhas foram coletados e submetidos a escovação usando uma escova de náilon, extraindo as estruturas das superfícies adaxial e abaxial das folhas em 20 mL de água deionizada (**Figura 4**), conforme descrito por Tsutsumi *et al.* (2015), obtendo uma solução com o conteúdo dos tricomas. As folhas escovadas foram secas em estufa a 80°C por 72 h, e o peso seco (PS) foi determinado.

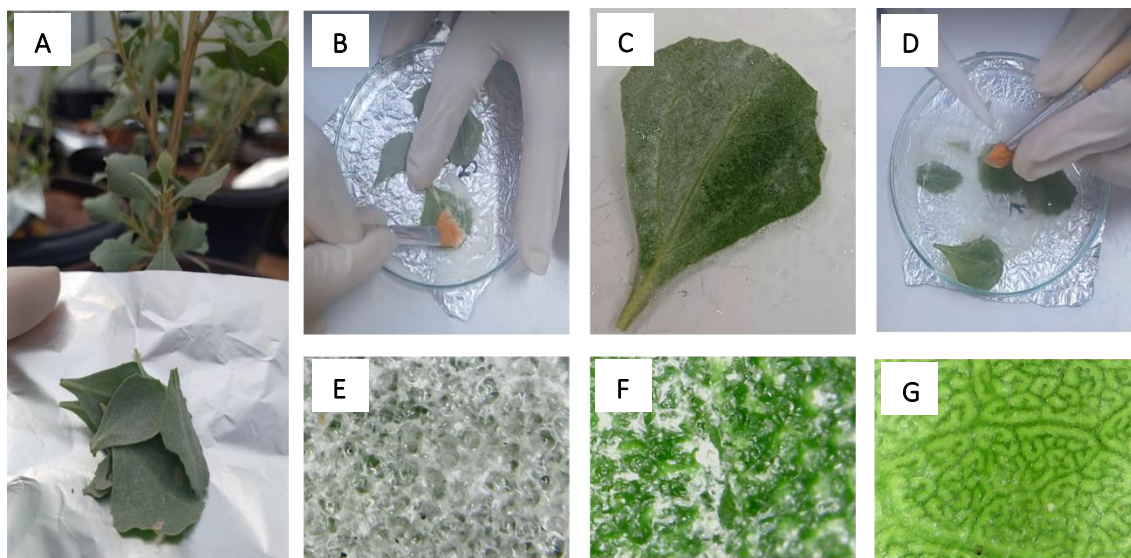


Figura 4 – Processo de extração dos tricomas: (A) Coleta das folhas; (B) Escovação das folhas com auxílio de pincel; (C) Folha de *A. nummularia* Lindl. com lado direito escovado e lado esquerdo não escovado; (D) Lavagem das folhas e pincel; (E) Superfície da *A. nummularia* Lindl. com a presença dos tricomas; (F) Superfície da *A. nummularia* Lindl. no processo de remoção dos tricomas; (G) Superfície da *A. nummularia* Lindl. com remoção total dos tricomas;

Para determinar a exclusão de cátions nestas estruturas, ao final de cada experimento, a solução obtida na extração dos tricomas foi levada a banho-maria a 90°C por 1h para extração dos elementos Na^+ e K^+ , sendo determinados usando um fotômetro de chamas (Modelo: DM-64-5E, Digimed).

A mesma solução extraída foi utilizada para determinação de Cd nos tricomas foliares através da leitura por espectrometria de emissão ótica com plasma (ICP-OES/Optima 7000 Perkin Elmer).

2.7.2. Concentração de metais nos tecidos do foliares

Ao final de cada experimento, amostras da parte aérea (folha + caule) e raiz das plantas foram coletadas e armazenadas em sacos de papel previamente identificados e colocadas para secar em estufa de circulação forçada de ar a 65°C até atingir peso constante, depois as amostras foram moídas utilizando em moinho de bolas (Modelo: R-TE-350, Tecnal).

Posteriormente, subamostras de 0,5 g do material vegetal foram digeridas com $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ (3:1) num forno de micro-ondas (Milestone-Ethos Easy) a 180°C por 10 minutos, de acordo com a metodologia 3050B modificada (USEPA, 1996).

Os extratos obtidos na digestão, foram filtrados ($\varnothing < 2,0 \mu\text{m}$) e seu volume completado até 25 mL em balões volumétricos com água ultrapura. As amostras foram armazenadas a 4°C para posterior análise por ICP-OES.

2.8.4. Microscopia de varredura eletrônica da superfície da folha e concentração de metais nos tricomas

Ao final de ambos os experimentos, foi realizada uma caracterização da superfície foliar das plantas cultivadas através do Microscópio Eletrônico de Varredura.

A avaliação foi realizada conforme De castro, (2002), com modificações, no qual segmentos das folhas de *A. nummularia* Lindl. passaram por processo de fixação de suas estruturas com auxílio de solução tampão Karnovsky (Karnovsky 1965) até o processamento das amostras para análise. As amostras foram lavadas triplamente 24h antes da avaliação com tampão Cacodilato (Sodium cacodylate trihydrate), desidratado em série etílica crescente e levado à secagem em dissecador contendo sílica.

Posteriormente, para avaliação as amostras foram colocadas em *Stubs* com auxílio de fita de carbono (**Figura 5 A**) e coberta com uma fina lâmina de ouro em metalizador (Metalizer, 145 mod. Denton Desk II Sputter Coater, Torontech Group International, Markham, ON, Canada) (**Figura 5 B**). Após este procedimento as amostras foram levadas ao Microscópio Eletrônico de Varredura (Scanning Electron Microscope, 147 mod. JSM-5600LV, Jeol, Peabody, MA, USA) (**Figura 5 D**) onde foram fotomicrografadas bem como avaliado os elementos que se encontravam na superfície das através de Energia Dispersiva de Raio-X (EDX) (**Figura 5 E**).

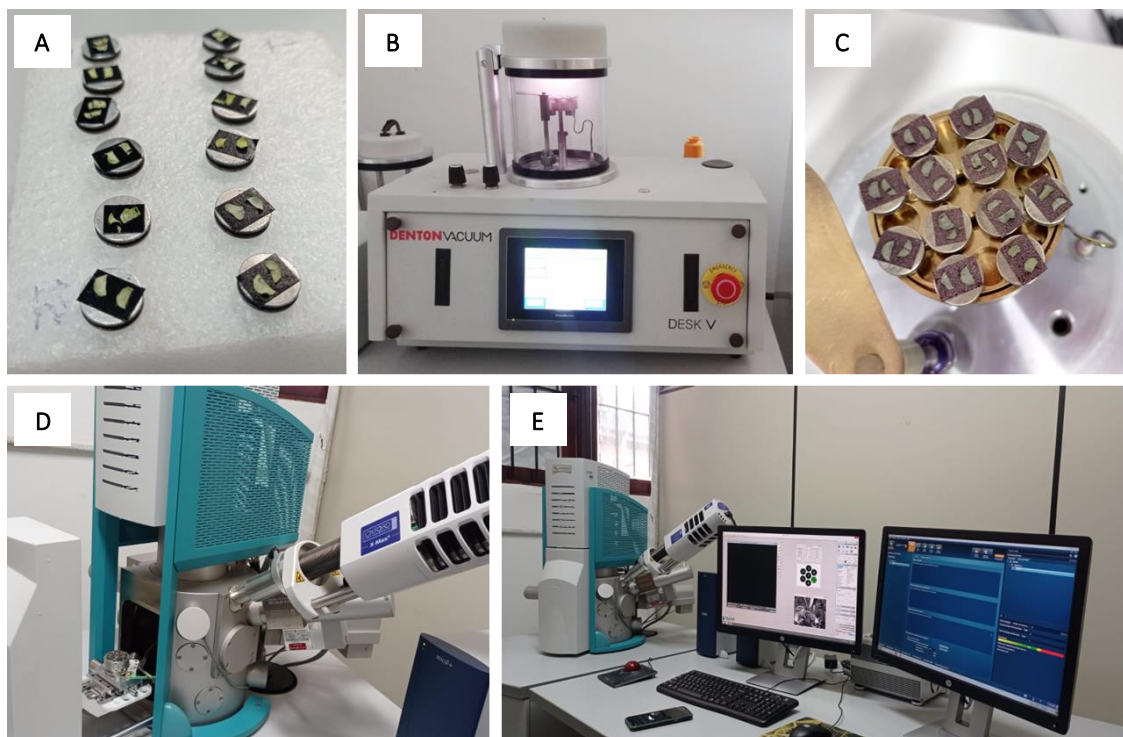


Figura 5 – Processo para obtenção de imagens na microscopia de varredura eletrônica (MEV) de folhas de *A. nummularia* Lindl. para Luvisolo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. (A) Seções de folhas da *A. nummularia* postas em *Stubs* com auxílio de fita de carbono; (B) Processo de laminação com ouro através do Metalizador; (C) Amostras após metalização; (D) Inserção das amostras no MEV; (E) Avaliação das amostras no MEV com auxílio da Energia Dispersiva de Raio-X (EDX).

2.9. Densidade de tricomas

Para contabilização dos tricomas da superfície foliar foi realizada a observação da epiderme pela dissociação epidérmica das folhas de *A. nummularia* Lindl. da região do ápice, terço médio e base, na qual as folhas foram submersas em solução de hipoclorito de sódio a 60%, em seguida coradas com azul de metileno (1%) e fixadas nas lâminas com glicerina (50%).

As lâminas foram observadas em microscópio fotônico acoplado a uma câmera para a captura de imagens, que foram utilizadas para contabilizar a densidade de tricomas com auxílio do programa Image J, no qual as imagens foram processadas, tratadas e os tricomas contabilizados e divididos pela área visualizada (mm²) (**Figura 6**) (Schneider *et al.*, 2012).

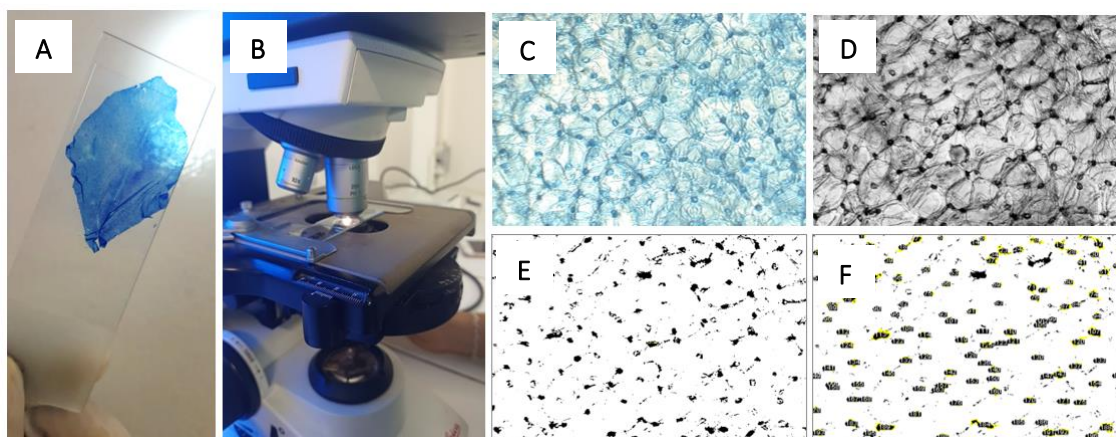


Figura 6 - Processos para obtenção da densidade de tricomas de *A. nummularia* Lindl. para Luvisso de caráter salino e não salino contaminado com doses crescentes de Cd. (A) Lâmina da epiderme foliar; (B) Obtenção das imagens dos tricomas com auxílio de Microscópio com câmera acoplada; (C) Imagem obtida dos tricomas; (D), (E) e (F) Tratamento da imagem e contabilização dos tricomas através dos pedúnculos;

2.10 Avaliações das relações hídricas

2.10.1 Potencial Hídrico (Ψ_w)

A determinação do potencial hídrico foliar foi realizada ao final do Experimento II antes do amanhecer (predawn) aos 30 dias após o início da aplicação dos tratamentos. Ramos e folhas do terço médio de cada planta foram selecionadas e levadas a câmara de pressão de Scholander (Scholander *et al.*, 1965), na qual as determinações foram realizadas. Para a leitura foi realizado um corte em bisel com auxílio de uma lâmina cortante, para restabelecimento do equilíbrio hídrico do pecíolo e auxílio de uma lupa para facilitar a visualização da extrusão da seiva. Após este procedimento o pecíolo foi posicionado na câmara e submetido a uma pressão de fluxo constante até visualização da primeira gota na superfície do corte, anotando-se, neste momento, o valor da pressão exercida em KPa.e convertido para Mpa.

2.10.2 Potencial Osmótico (Ψ_o)

Para a determinação do potencial osmótico foi utilizado o material vegetal já coletado por ocasião da avaliação de potencial hídrico, realizado aos 30 dias de aplicação dos tratamentos. A amostra foi macerada em nitrogênio líquido, a seiva obtida nesse processo foi filtrada em tecido musseline e centrifugada a 10.000 g por 15 min a 4 °C. O

sobrenadante foi separado e uma alíquota de 10 µL foi utilizada para a determinação da osmolalidade do tecido com osmômetro de pressão de vapor (Paulino *et al.*, 2020)

Os valores obtidos em mmol kg⁻¹ foram convertidos em potencial osmótico, por meio da equação de Van't Hoff (Equação 2).

$$\psi_o = -RTC \quad \text{Equação 2}$$

Em que:

R= Constante geral dos gases (0,00831 kg MPa mol⁻¹ K⁻¹)

T= Temperatura em Kelvin (K)

C= Concentração do soluto (mol kg⁻¹)

2.10.3 Potencial de Pressão (Ψ_p)

A estimativa do potencial de pressão foi feita a partir dos valores obtidos nas determinações de potencial hídrico e potencial osmótico. Admitindo-se que o potencial hídrico é igual ao somatório do potencial osmótico e de pressão (**Equação 3 e 4**).

$$\psi_w = \psi_o + \psi_p \quad \text{Equação 3}$$

$$\psi_p = \psi_w - \psi_o \quad \text{Equação 4}$$

2.10.4 Construção da Curva Pressão-Volume (Curva PV)

A confecção da Curva PV foi realizada através das técnicas utilizadas por Fanjul; Barradas (1987) e adaptadas por Lins *et al.* (2018). Ao final do experimento II, foram selecionadas folhas e estas foram coletadas estando completamente submersas em água deionizada através de corte com auxílio de uma tesoura, os quais posteriormente passaram por todos os processos anotando o volume de seiva coletado e a pressão correspondente foram anotados para construção das Curvas PV, conforme modelo apresentado na **Figura 7**.

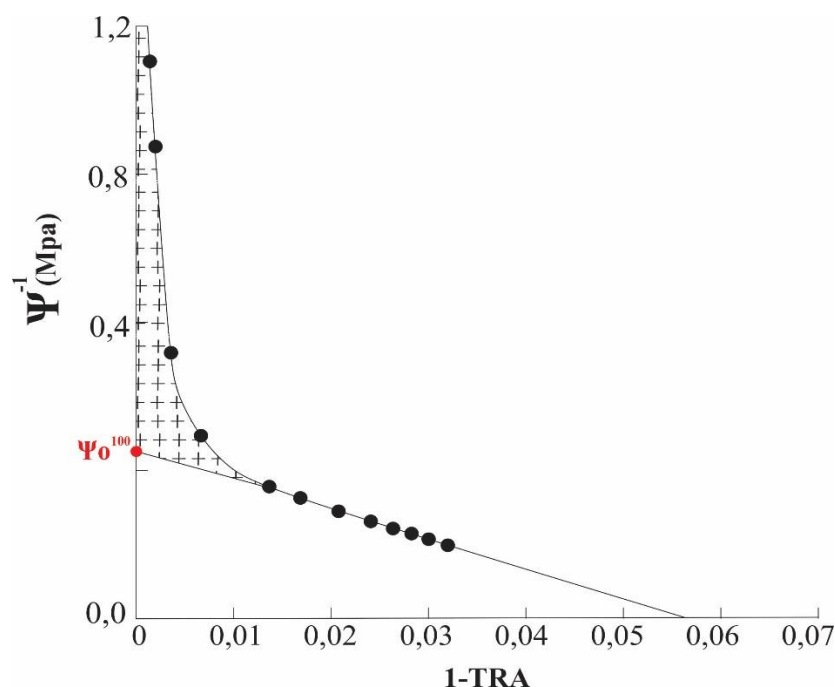


Figura 7 - Representação da Curva Pressão-Volume para obtenção do potencial osmótico a pleno turgor (Ψ_0^{100}) através do prolongamento da região linear. (Fonte: autora)

2.10.4.1 Potencial osmótico a pleno turgor (Ψ_0^{100}) e Ajuste osmótico

O potencial osmótico a pleno turgor para este estudo foi obtido através de duas metodologias, a primeira através da osmometria e a segunda pela análise da Curva Pressão-Volume (Curva PV).

2.10.4.2 Potencial osmótico a pleno turgor obtido por osmometria

Para obtenção do potencial osmótico a pleno turgor por osmometria foram selecionadas e coletadas folhas das plantas de cada tratamento, as quais foram acondicionadas e transportadas para o laboratório de Física do Solo localizado no Departamento de Agronomia do Campus SEDE da Universidade Federal Rural de Pernambuco, onde foram submetidas a saturação ao escuro por um período de 24h para atingir o pleno turgor.

Passado esse tempo, o excesso de água na folha foi cuidadosamente retirado com o auxílio de papel toalha. Após esse processo, a folha foi macerada em nitrogênio líquido e a seiva extraída foi filtrada e centrifugada a 10.000 g por 15 minutos a 4 °C para leitura da osmolalidade em osmômetro por pressão de vapor pipetando-se uma alíquota de 10 μ L do sobrenadante derivado da centrifugação. As leituras obtidas no osmômetro por

pressão de vapor são dadas em mmol kg⁻¹ e convertidos em MPa partir da equação de Van't Hoff, conforme Equação 02 já mencionada no subitem 6.7.2.

2.10.4.3 Potencial osmótico a pleno turgor obtido por Curva PV

A partir da construção das Curvas PV descrita no tópico 6.7.4 foi possível estimar o potencial osmótico a pleno turgor (Ψ_o^{100}). O ajuste das Curvas PV seguirá o modelo desenvolvido por Schulte and Hinckley (1985) e a equação desenvolvida para estimar o potencial osmótico a pleno turgor (Ψ_o^{100}) foi realizada a partir do prolongamento da região linear, estimada através de regressão linear, da curva ao eixo Y conforme indicado na **Figura 7**.

2.10.4.4 Cálculo do Ajuste Osmótico

De posse dos dados que foram obtidos nas análises anteriores o ajustamento osmótico foi estimado a partir da equação 5 (Blum, 1989).

$$AO_{total} = \Psi_o^{100}_{Controle} - \Psi_o^{100}_{Estressadas} \quad \text{Equação 5}$$

Em que:

AO_{total} é o ajustamento osmótico total;

$\Psi_o^{100}_{controle}$ é o potencial osmótico das plantas que não foram submetidas ao estresse salino a pleno turgor;

$\Psi_o^{100}_{estressadas}$ o potencial osmótico das plantas submetidas ao estresse salino e hídrico a pleno turgor.

2.10.5 Módulo de elasticidade

Através da Curva PV (**Figura 8**), além da estimativa do potencial osmótico a pleno turgor (Ψ_o^{100}) descrito anteriormente, também é possível obter parâmetros como o potencial osmótico a zero turgor (Ψ_o^0) sendo estimado através da projeção do primeiro ponto de inflexão da curva no eixo Y, teor relativo de água no ponto de perda de turgor (TRA₀) derivado das coordenadas X e Y do primeiro ponto da região linear das curvas P-V, a fração de água apoplástica (AF) é obtida prolongando a região linear da curva P-V até o eixo X e o módulo de elasticidade (ϵ) estimado através da Equação 6 (Patakas e Noitsakis, 1999; Gambetta *et al.*, 2020; Candar *et al.*, 2023).

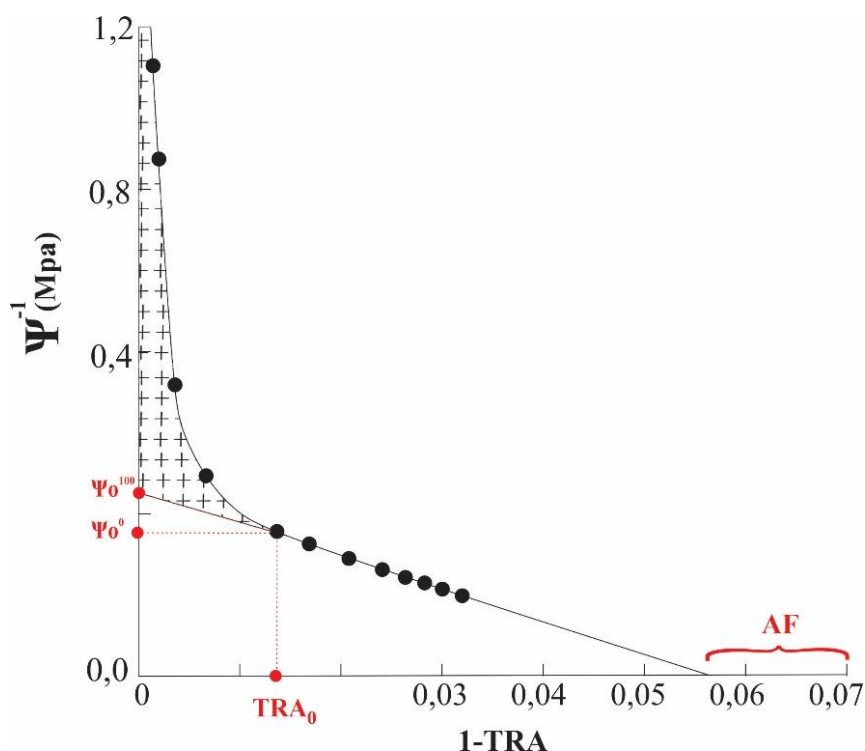


Figura 8 - Parâmetros da obtidos através da Curva Pressão-Volume: Potencial osmótico a pleno turgor (Ψ_0^{100}); potencial osmótico a zero turgor (Ψ_0^0); Teor relativo de água no ponto de perda de turgor (TRA_0); Fração de água apoplástica (AF). (Fonte: autora)

$$\varepsilon = \frac{(\Psi_0^{100} - \Psi_0^0) (1 - AF)}{(1 - TRA_0)} \quad \text{Equação 6}$$

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Avaliações do Experimento I

3.1.1. Avaliações biométricas

3.1.1.1. Biomassa fresca (BMF_{PA}) e seca (BMS_{PA}) da parte aérea, Área foliar (AF) e Biomassa fresca (BMF_R) e seca (BMS_R) da raiz

A Biomassa Fresca da Parte Aérea (BMF_{PA}) do experimento de tolerância ao Cd, apresentou diferença significativa ($p < 0,01$) para o fator doses de Cd, exibindo comportamento quadrático com valor mínimo de 9,06 g referente a uma dose de 35,28 $mg\ kg^{-1}$, uma redução de 49,74% em relação a planta cultivada sem Cd (Figura 9).

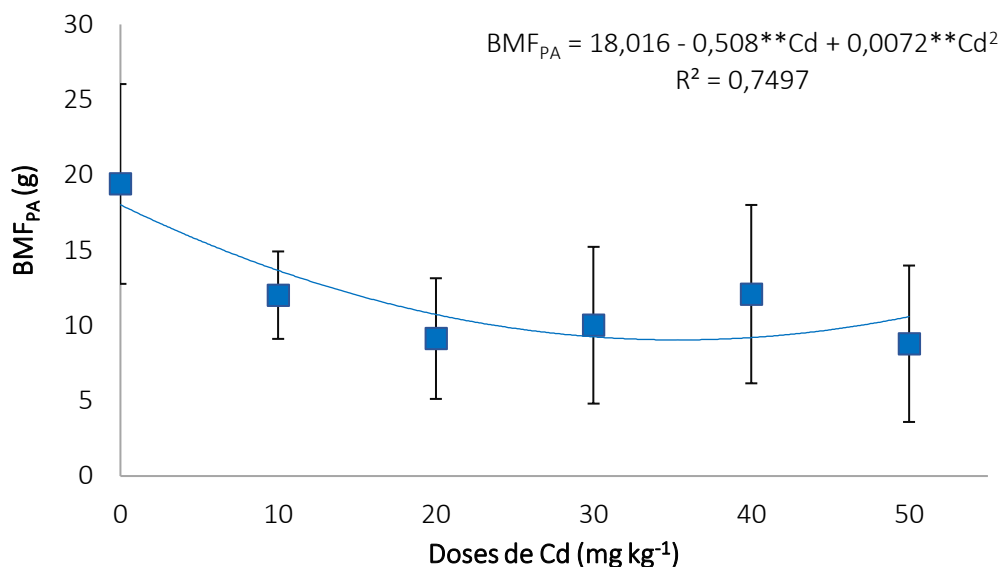


Figura 9 - Biomassa fresca da parte aérea (BMF_{PA}) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvissoilo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).

Estudo com a mesma espécie, cultivada em condições hidropônicas, também observaram a redução da BMF_{PA} com o incremento das doses de Cd com reduções de 68 e 76% para plantas de *A. nummularia* Lindl. cultivadas nas concentrações de 200 e 300 μM de Cd, respectivamente (Nedjimi *et al.*, 2022). Da mesma forma, a espécie *A. halimus* exibiu o mesmo comportamento com o aumento das concentrações de Cd na solução nutritiva chegando a reduzir 81% da sua BMF_{PA} na concentração de 400 μM de Cd (Nedjimi; Daoud, 2009).

Avaliando a área foliar (AF), verifica-se que houve interação significativa ($p < 0,01$) para as características dos Luvissois, exibindo valores 48, 38 e 22% maior para o solo de caráter salino em relação à média do não salino para as doses de 0, 10 e 20 mg kg^{-1} de Cd, respectivamente. A partir da dose de 28,91 mg kg^{-1} a AF das plantas cultivadas no LS se iguala as do LNS e reduzem nas doses sucessivas (**Figura 10**Figura 10).

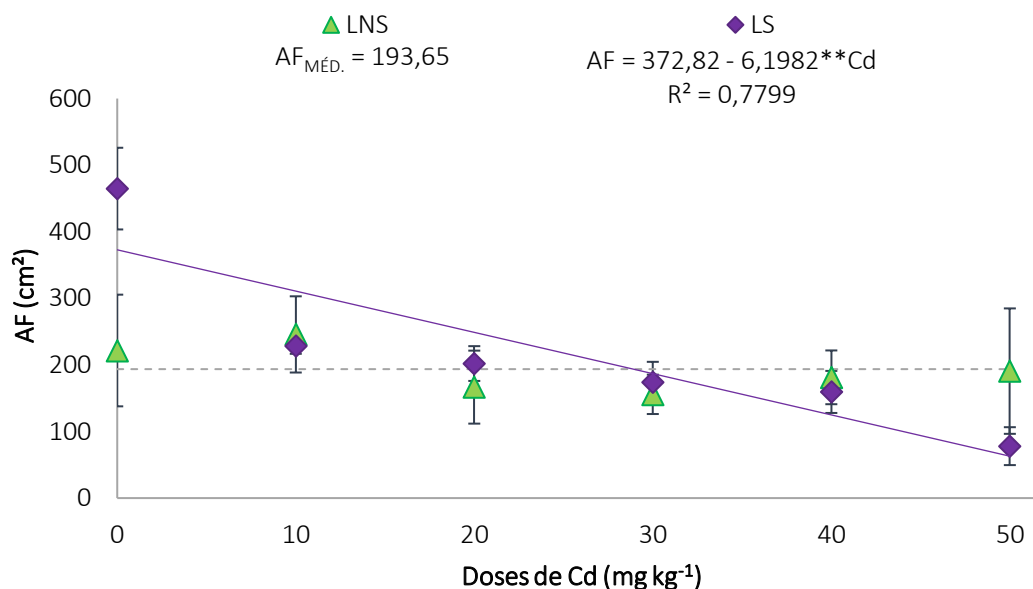


Figura 10 – Área Foliar (AF) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisolo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).

Com os resultados obtidos da AF, é possível observar que o LS apresentou maior área que o LNS, tendo seu crescimento estimulado com uma média de crescimento até próximo a dose de 30 mg kg^{-1} de Cd, sendo este resultado um indicativo da contribuição da salinidade no desenvolvimento da *A. nummularia* Lindl., mesmo em solos contaminados por Cd.

A Biomassa Seca da Parte Aérea (BMS_{PA}), variável escolhida para determinar a dose utilizada no EXP II, apresentou interação significativa ($p < 0,01$) entre as características dos solos (Figura 11).

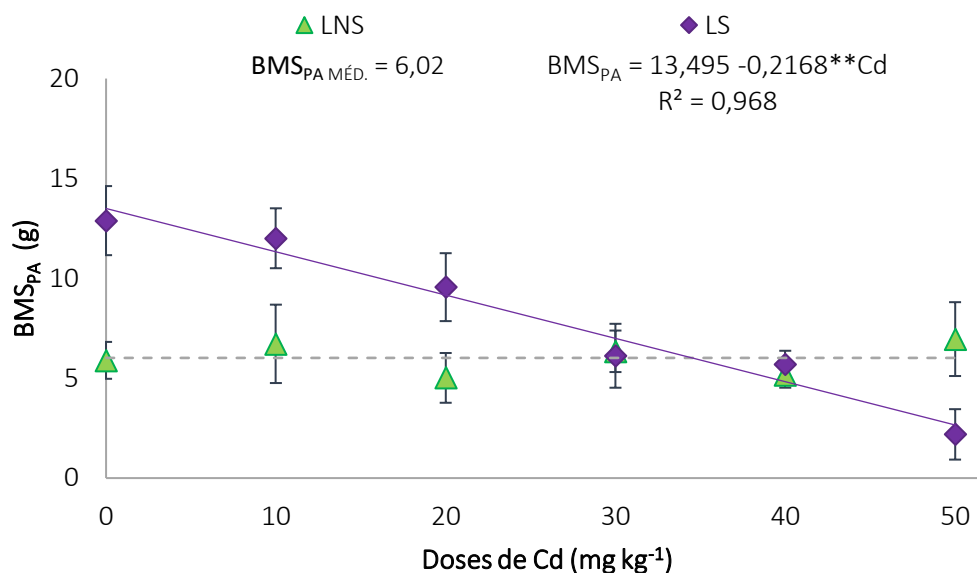


Figura 11 - Biomassa seca da parte aérea (BMS_{PA}) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvissole de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).

Foi observado uma redução linear de 0,22g de BMS_{PA} mg kg⁻¹ de Cd nas plantas cultivadas no LS, porém, até a dose de 34,25 mg kg⁻¹ de Cd, a qual ambos atingiram valor de 6,07g de massa seca, as plantas cultivadas no LS apresentaram maior massa seca em relação as do LNS, exibindo valores de 55, 47, 34 e 14% maior que a média das plantas cultivadas no LNS nas doses de Cd de 0, 10, 20 e 30 mg kg⁻¹, respectivamente.

Mesnoui et al. (2016) cultivando *A. halimus* em 20% de solução nutritiva de Hoagland & Arnon com doses crescentes de Cd, verificou reduções significativas na BMS_{PA} com o incremento das doses, relatando ainda que 28% das plantas tratadas com 400 e 650 µM de Cd não conseguiram sobreviver após 22 dias de tratamento. Observou-se ainda clorose nas folhas de *A. halimus* a partir de 200 µM Cd, tornando-se mais pronunciada com a elevação dos níveis de Cd.

Em estudo da *A. halimus* em condições hidropônicas na presença de sais, Lefèvre et al. (2009), observaram que a presença de Cd na ausência de sal, reduziu ligeiramente o comprimento total da parte aérea após 24 dias de tratamento.

Poucos se sabe ainda sobre o comportamento das espécies de *Atriplex* no solo contaminado por metais pesados. Eissa e Abeer (2019), estudando a *A. lentiformis* cultivada em solo franco-arenoso, verificaram que o aumento do nível de Cd de 0 para 200 mg kg⁻¹, reduziu o peso seco da parte aérea, a altura das plantas, o número de folhas e a área foliar em 25, 23, 33 e 33%, respectivamente.

De maneira geral, as plantas submetidas a altas concentrações de Cd sofrem danos causados pela toxidez desse elemento, exibindo clorose, diminuição do crescimento, senescência e perda no seu rendimento (Niu *et al.*, 2023).

Desta forma, é importante destacar que nas plantas do EXP I não foi observado sintoma de clorose, ou de deficiências nutricionais nas plantas de *A. nummularia* Lindl. até o último dia do experimento. Os dados obtidos, validam a hipótese de que a salinidade é estimulante ao crescimento das plantas de *A. nummularia* Lindl. no seu ambiente de cultivo mesmo na presença de Cd, uma vez que na presença de salinidade foram observados maiores valores de BMS_{PA} até a dose de 30 mg kg^{-1} . Além disso, chama-se atenção ao fato da espécie manter tanto sua BMF_{PA} quanto a BMS_{PA} até a dose de 50 mg kg^{-1} Cd no LNS, indicando certa tolerância da *A. nummularia* Lindl. ao metal pesado.

Yan *et al.* (2020) relatam que na técnica de fitoextração as espécies vegetais escolhidas, devem apresentar alta tolerância aos efeitos tóxicos dos metais pesados, alta capacidade de produzir biomassa e/ou acumular altos níveis de metais pesados nas partes aéreas e rápido crescimento. Diante disto, a *A. nummularia* Lindl. apresenta-se como uma espécie promissora na fitoextração de Cd em solos contaminados até a dose de 50 mg kg^{-1} de Cd e até a dose de 30 mg kg^{-1} em solos com contaminação simultânea de sais e Cd.

A Biomassa fresca da raiz (BMF_R) não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) nas relações estudadas, já a Biomassa seca da raiz (BMS_R) apresentou interação significativa ($p < 0,01$) para as diferentes doses de Cd e atributos do solo com ajuste linear decrescente para o LS (Figura 12).

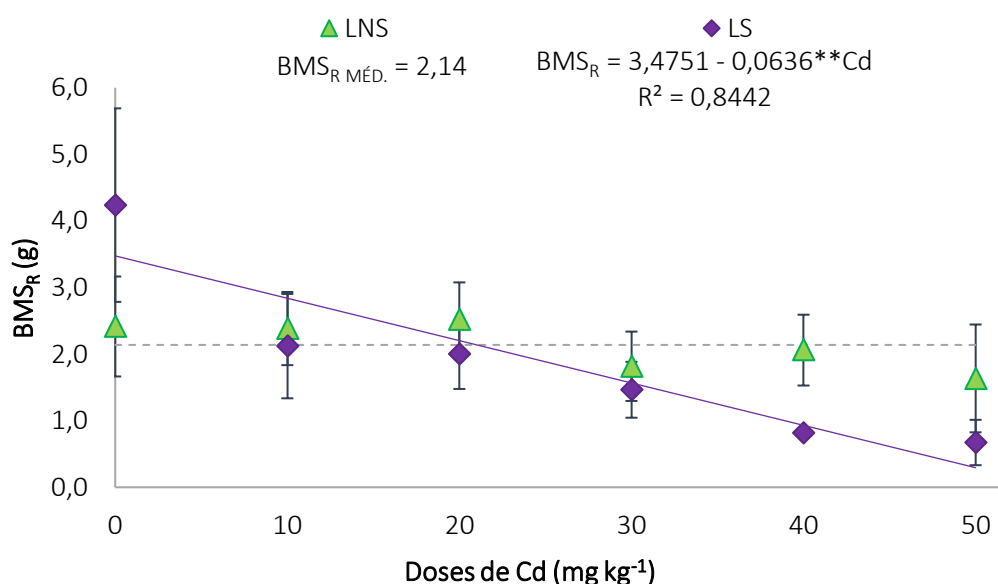


Figura 12 - Biomassa seca da raiz (BMS_R) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisolo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)

Até a dose de $21,02 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cd as raízes das plantas cultivadas no LS apresentaram massas secas 38, 25 e 3% superiores as LNS, nas doses de 0, 10 e 20 mg kg^{-1} respectivamente. A BMF_R do LS continuaram a reduzir com o incremento das doses, o que não aconteceu com LNS que manteve a média de 2,14g de BMS_R .

Nedjimi *et al.* (2022) também não observaram diferença significativa na BMF_R nas plantas de *A. nummularia* Lindl. submetidas as doses de 200 e 300 μM de Cd na solução nutritiva, porém apresentou reduções de 50 e 78% para as respectivas doses de Cd.

Um sistema radicular extenso, é outra característica importante para indicação de culturas em programas de fitoextração (Awa *et al.*, 2020). Zhang *et al.*, (2020) estudando a halófita *S. glauca*, verificaram que o aumento do Cd no solo, sem adição de sal, inibiu biomassa radicular, com redução de cerca de 39% para as plantas cultivadas em 6 mg kg^{-1} de Cd quando comparada as plantas controle, relatando ainda que o fornecimento de NaCl mitigou o declínio da biomassa induzido por Cd na espécie.

Nesse contexto, a manutenção da BMS_R das plantas cultivadas no LNS, verificadas nessa pesquisa, contribui também para a indicação de tolerância da *A. nummularia* Lindl. a contaminação de Cd no solo. Além disso, verifica-se uma possível mitigação do estresse causado pelo Cd decorrente da presença da salinidade exibindo maiores BMS_R até a dose de 20 mg kg^{-1} .

3.1.1.2. Avaliações das Relações Hídricas

3.1.1.2.1. Potencial Hídrico Foliar (Ψ_w), Potencial Osmótico (Ψ_o) e Potencial de Pressão (Ψ_p)

As plantas do teste de tolerância não apresentaram diferença significativa, no Potencial Hídrico Foliar (Ψ_w) para as doses de Cd no solo. Entretanto houve diferença significativa ($p < 0,05$) para o fator salinidade do solo com valores 30% maior para o LNS em relação ao LS (Figura 13).

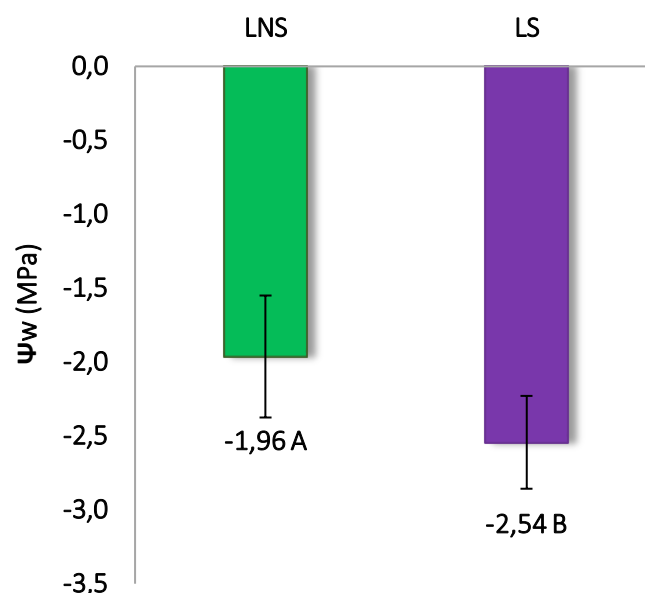


Figura 13 - Potencial hídrico foliar de *A. nummularia* cultivada em Luvisolo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. As médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

Em condições normais, as concentrações de metais pesados no solo geralmente não alcançam níveis suficientes para causar distúrbios osmóticos nas plantas (Rucińska-Sobkowiak, 2016). Assim, valores menos negativos de Ψ_w nas plantas cultivadas em solos de caráter não salino, em comparação com as de caráter salino, são esperados. Uma vez que, a presença de menor concentração de sais na solução do solo, torna-se maior a energia livre de água disponível (Lins *et al.*, 2018).

Por outro lado, em solos salinos, ocorrem limitações osmóticas devido ao aumento de solutos inorgânicos na solução do solo, como sódio e cloreto em altas concentrações (Melo *et al.*, 2018). Entretanto, a *A. nummularia* Lindl. apresenta mecanismos bioquímicos em resposta a salinidade, como a síntese e alto acúmulo celular de solutos orgânicos e inorgânicos ajustando-se osmoticamente (Santos *et al.*, 2022).

Os valores de Potencial Osmótico (Ψ_o), juntamente com o cálculo de ajuste osmótico (AO) evidenciam esse mecanismo acima citado. Nesta pesquisa os valores de Ψ_o , obtido através de osmometria, apresentaram interação significativa ($p < 0,01$) entre as características dos solos e doses de Cd, exibindo comportamento quadrático em ambas as características do solo (Figura 14).

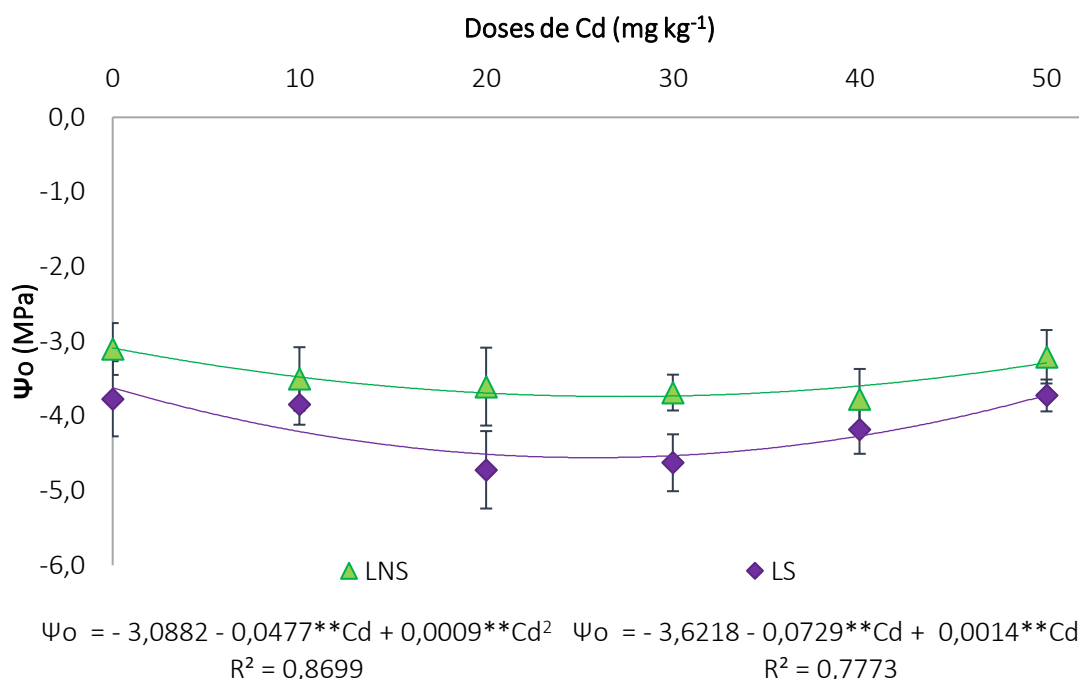


Figura 14 - Potencial Osmótico (Ψ_o) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)

Os dados apresentados exibem valores mais negativos para as plantas cultivadas em solos de caráter salino. Os valores mínimos de ambas as características, foram de -3,72 e -4,57 Mpa para o LNS e LS respectivamente, em doses de 26,5 e 26 mg kg⁻¹ de Cd.

Han et al. (2012), estudando a halófito *Kosteletzkya virginica*, em condições hidropônicas, exposta a 10 μM de Cd na ausência ou presença de 50 mM de NaCl, verificaram que a adição de sal ao tratamento com Cd, diminuiu o Ψ_o da raiz ($p < 0,05$), exibindo média de aproximadamente -0,8Mpa, mas não teve impacto no Ψ_o da folha comparativamente ao Cd sem o sal, exibindo médias de aproximadamente -1,8MPa.

Em condições hidropônicas, Lefèvre *et al.* (2009) verificaram que o Ψ_o da *A. halimus* expostas a 50 μM de Cd reduziram em resposta a aplicação dos sais a NaCl, KCl e NaNO₃, com médias de aproximadamente -3,5; -4 e -3 MPa respectivamente, além disso observaram que o Cd adicionado à solução nutritiva na ausência de sais também reduziu Ψ_o , porém, em menor grau que os sais.

A literatura é escassa quanto aos parâmetros de relações hídricas com estresse simultâneo entre salinidade e metais pesados. Porém, a resposta de halófitas, sobretudo em espécies de *Atriplex* submetida a salinidade é vastamente documentada, apontando

reduções nos valores de Ψ_w e Ψ_o com incremento da salinidade (Hassine e Lutts, 2010; De Souza *et al.*, 2012; Lins *et al.*, 2018; Paulino *et al.*, 2020).

O Potencial de Pressão (Ψ_p) não apresentou diferença significativa ($p>0,05$) dentre os fatores estudados, indicando que a diferença observada entre as características do solo no Ψ_w , foram influenciadas prioritariamente pelo Ψ_o . Da mesma forma, o ajuste osmótico (AO) não apresentou diferença significativa ($p>0,05$) entre os fatores avaliados (Figura 17).

3.1.1.2.2. Parâmetros da Curva Pressão Volume (Curva PV)

A variável de Potencial Osmótico a Pleno Turgor (Ψ_o^{100}), obtida pela Curva PV apresentou interação significativa ($p<0,01$) entre as características do solo, com uma redução nos valores do LS com o incremento das doses de Cd, reduzindo 55% na maior dose em relação ao controle (Figura 15).

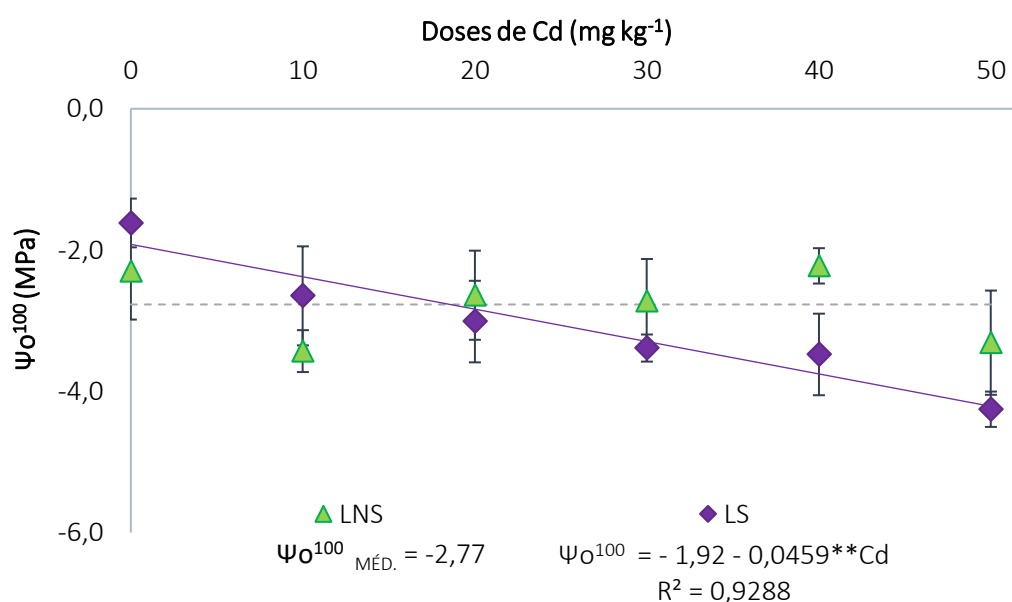


Figura 15 - Potencial Osmótico a Pleno Turgor (Ψ_o^{100}) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvissoilo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).

A partir da dose de 18,54 mg kg⁻¹ de Cd, o LS exibiu Ψ_o^{100} mais negativos em relação ao LNS, com reduções de 2, 19, 36 e 52% para 20, 30, 40 e 50 mg kg⁻¹, respectivamente no LS. Da mesma forma, o Potencial Osmótico a Zero Turgor (Ψ_o^0) também apresentou interação significativa ($p<0,01$) entre as características do solo, com uma redução nos valores do LS com o incremento das doses de Cd, reduzindo 52% na maior dose em relação ao controle (Figura 16).

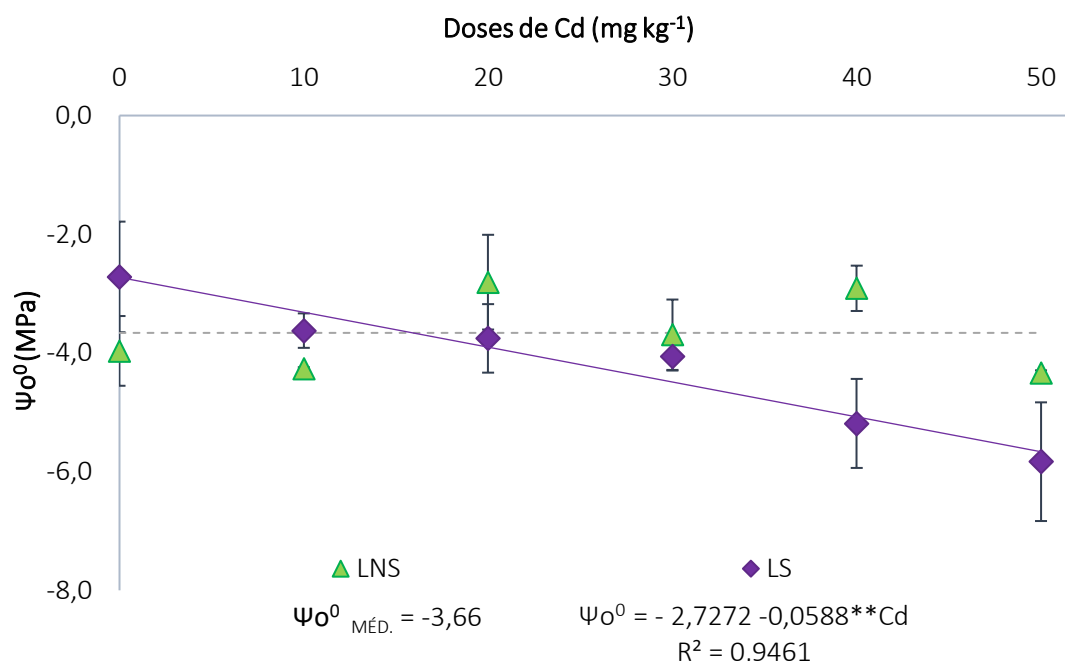


Figura 16 - Potencial Osmótico a zero turgor de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)

A partir da dose de 15,89 mg kg⁻¹ de Cdo LS exibiu Ψ_o^0 mais negativos em relação ao LNS, com reduções de 7, 23, 39 e 55% para 20, 30, 40 e 50 mg kg⁻¹, respectivamente no LS. Os parâmetros da Curva PV, expressam condições intracelulares das plantas cultivadas sob os diferentes tratamentos (Paulino *et al.*, 2020).

Desta forma, com os dados obtidos, é possível verificar a interação entre a salinidade e as doses crescentes de Cd, no qual, tanto o Ψ_o^{100} como o Ψ_o^0 apresentaram reduções significativas ($p < 0,01$), sendo estas respostas intracelulares. Ou seja, o aumento das doses de Cd no solo salino ativou uma resposta osmótica intracelular para superação de um possível estresse causado na *A. nummularia* Lindl.

A redução do Ψ_o é uma característica da *A. nummularia* Lindl., principalmente na presença de sais, a qual é resposta a compartimentação dos sais tanto nos vacúolos celulares quanto nas células especializadas denominadas tricomas ou vesículas (De Souza *et al.*, 2012; Paulino *et al.*, 2020).

Desta forma, acredita-se que a espécie utilizou-se de algum mecanismo adaptativo, como o acúmulo de solutos no seu vacúolo e tricomas vesiculares para ajustar-se osmoticamente, mantendo seu desempenho hídrico. O cálculo de Ajuste Osmótico obtido através da Curva PV ($AO_{Curva\ PV}$) corrobora com esta afirmação, apresentando interação significativa ($p < 0,01$) entre as características do solo, exibindo aumento nos

valores do LS com o incremento das doses de Cd, com um ajuste 88% maior na dose de 50mg kg⁻¹ em relação as plantas cultivadas sem Cd (Figura 17).

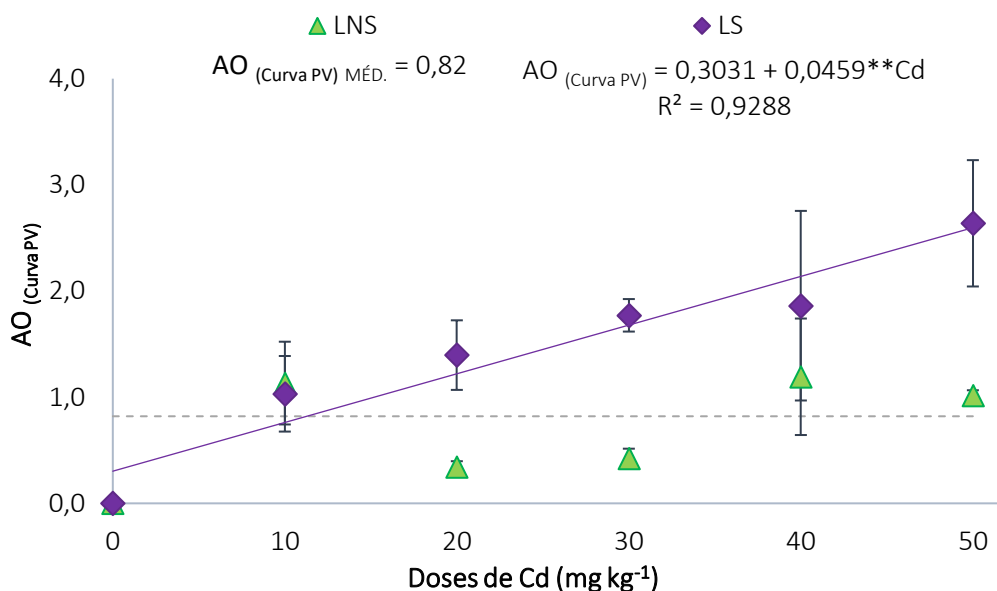


Figura 17 - Ajuste osmótico de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)

Além disso, a partir da dose de 11,27 mg kg⁻¹ de Cd o LS apresentou AO_{Curva PV} maiores em relação ao LNS, com incrementos de 33, 51, 62 e 68% para 20, 30, 40 e 50 mg kg⁻¹, respectivamente no LS.

Ao passo que, o ajuste osmótico ocorre não só através da síntese de solutos compatíveis, como carboidratos, prolina, glicinabetaína entre outros que auxiliam na superação de estresses abióticos, mas também pelo acúmulo de solutos inorgânicos (Dourado *et al.*, 2019).

O resultado obtido no cultivo de *A. nummularia* Lindl. em LNS indicam também a tolerância da espécie a elevadas concentrações de Cd, uma vez que a mesma não apresentou necessidade de ajustar-se osmoticamente.

Semelhante ao AO_{Curva PV}, o Módulo de Elasticidade (ϵ) apresentou interação significativa ($p < 0,05$) entre as características do solo, exibindo aumento de 0,73MPa nos valores do LS por mg kg⁻¹ das doses de Cd, com aumento de 61% maior na dose de 50 mg kg⁻¹ em relação as plantas cultivadas sem Cd (Figura 18).

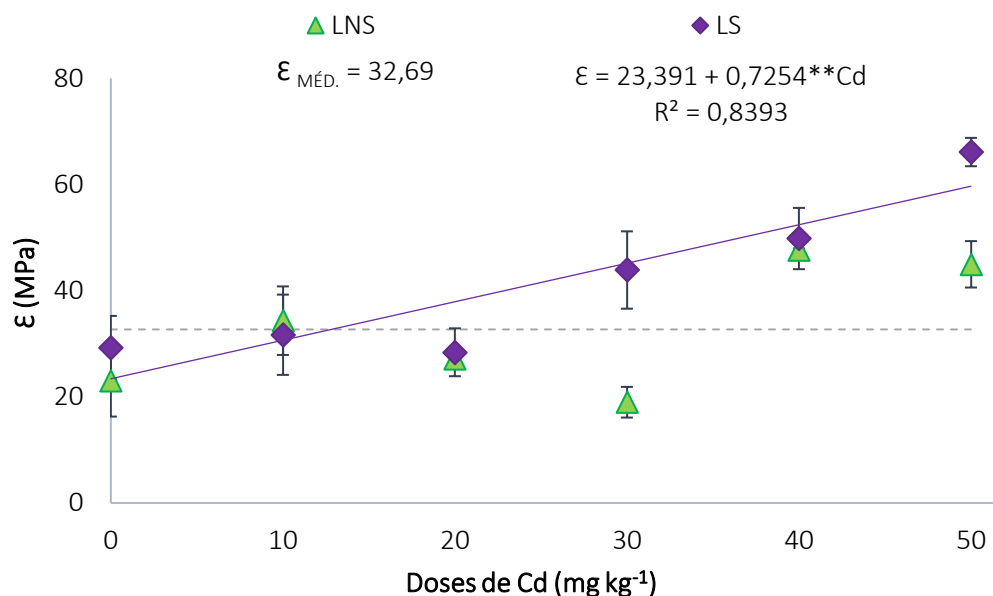


Figura 18 – Módulo de Elasticidade de *A. nummularia* L. cultivada em Luvissolo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)

A partir da dose de 12,81 mg kg⁻¹ de Cd o LS apresentou ϵ maiores em relação ao LNS, com incrementos de 16, 38, 60 e 83% para 20, 30, 40 e 50 mg kg⁻¹, respectivamente no LS. Além disso, o LNS exibiu o mesmo comportamento que as demais variáveis da Curva PV, sem alteração significativa com o incremento das doses de Cd.

A elasticidade da parede celular, também está relacionada a pressão de turgescência das células vegetais e consequentemente com as propriedades reversíveis das paredes celulares (Saito *et al.*, 2006; Tsugawa *et al.*, 2022).

Corroborando com os dados obtidos, outros estudos apontam que espécies que necessitam ajustar-se osmoticamente, acumulando altas concentrações de solutos, necessitam de uma parede celular rígida para manter a integridade celular ou reidratação após um período de estresse (Clifford *et al.*, 1998; Paulino *et al.*, 2020).

3.1.1.3. Avaliações dos Solutos Inorgânicos Experimento I

3.1.1.3.1. Teor de Sódio (Na^+_{PA}), Cloro (Cl^-_{PA}), Potássio (K^+_{PA}) e Cádmio (Cd_{PA}) na Parte Aérea, Teor de Cádmio (Cd_R) na Raiz e Fator de Translocação (FT) do Experimento I

O Teor de Sódio na Parte Aérea (Na^+_{PA}), apresentou diferença significativa ($p < 0,01$) apenas para a característica salinidade do solo, no qual o LS demonstrou acúmulo de 48% maior que o LNS (Figura 19 A).

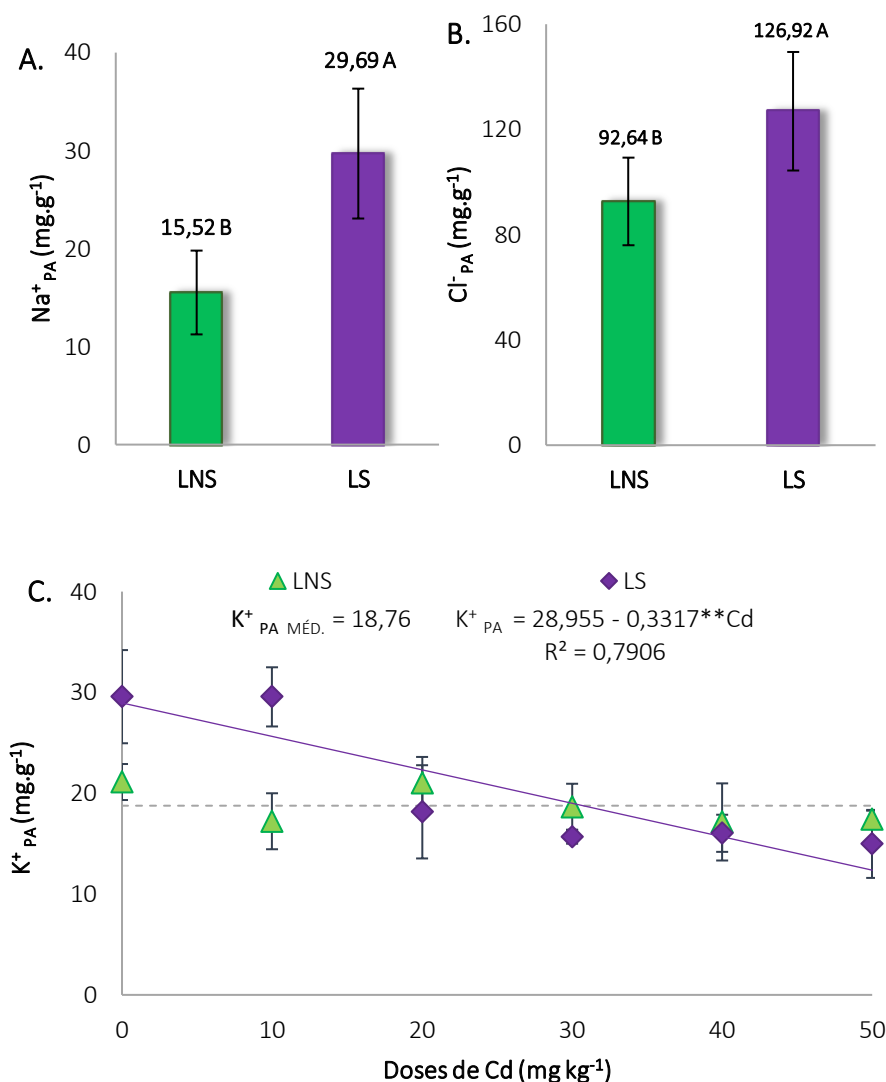


Figura 19 – Teor de Sódio (Na^+_{PA}), Cloro (Cl^-_{PA}) e Potássio (K^+_{PA}) na Parte Aérea de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. As médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)

Da mesma forma, o Teor de Cloro na Parte Aérea (Cl^-_{PA}) apresentou diferença significativa ($p < 0,01$) apenas para a característica do solo, com o LS apresentando acúmulo 27% maior que o LNS (Figura 19 B). Desta forma, com os dados obtidos é possível observar que a *A. nummularia* Lindl. manteve seu potencial de fitoextração de Na^+_{PA} e Cl^-_{PA} em solo de caráter salino, independente do aumento das doses de Cd.

Em geral, a literatura relata que Cl^- e Na^+ são os dois principais elementos extraídos em solos salinos, verificando o aumento desses íons em folhas de *A. nummularia* Lindl. cultivadas sob solução salina (Flowers e Colmer 2008; De Souza *et al.*, 2011; Melo *et al.* 2018; Moura *et al.*, 2019)

Mariem *et al.*, (2015) avaliando a halófito *Sesuvium portulacastrum*, cultivada em condições hidropônicas expostas a salinidade de 0,09 mmol e 200 mmol em 3 doses de Cd (0, 25 e 50 μM), verificaram que o aumento das concentrações de Cd aumentaram o acúmulo de Cl^-_{PA} na espécie, contudo o mesmo resultado não foi observado para o Na^+_{PA} , o qual não apresentou diferença significativa entre os tratamentos.

O acúmulo dos íons de Na^+ e Cl^- na parte aérea de espécies halófitas é um mecanismo adaptativo utilizado para manter a absorção de água sob condições salinas, acumulando-os nos vacúolos e reduzindo o potencial osmótico, sendo esse mecanismo bastante eficiente no ajuste osmótico, pois o custo energético necessário para absorção de Na^+ e Cl^- é menor do que a síntese de solutos orgânicos (Meng *et al.*, 2019).

Este fato é observado nesta pesquisa, uma vez que os dados de Ψ_o (Figura 14) apresentaram-se mais negativos no LS em comparação com LNS, possivelmente devido a não só o acúmulo de solutos compatíveis, mas também dos íons de Na^+ e Cl^- em sua parte aérea.

Patel e Parida (2021) relataram também que, o maior acúmulo de Na^+ na parte aérea da *Salvadora persica L* tratada com Arsênico (As) sugere que o Na^+ pode ser eficientemente compartimentado em vacúolos e participar do ajuste osmótico contribuindo para a osmolaridade foliar, aliviando a toxicidade pelo metal.

O Teor de Potássio na Parte Aérea (K^+_{PA}), apresentou interação significativa ($p < 0,01$), na qual o LS apresentou um comportamento linear, com uma redução nos teores de K^+_{PA} com o incremento das doses de Cd, reduzindo 57% na maior dose (50 mg kg^{-1}) relação ao controle (Figura 19 C).

O LS exibiu K^+_{PA} menores teores em relação ao LNS, com reduções de 16 e 34% para 40 e 50 mg kg^{-1} de Cd, respectivamente, a partir da dose de 30,72 mg kg^{-1} , próximo a dose de maior acúmulo registrado para Cd_{PA} . Nedjimi *et al.*, (2022) avaliando o desempenho da mesma espécie em condições hidropônicas, na presença de 0, 100, 200 e 300 μM de Cd mostrou um declínio significativo no K^+_{PA} registrando o menor acúmulo nas plantas cultivadas na maior dose de Cd.

O Teor de Cádmio na Parte Aérea (Cd_{PA}), apresentou diferença significativa ($p < 0,01$), para o fator dose e solo, separadamente, apresentando um comportamento quadrático com o incremento das doses de Cd, com maior acúmulo de Cd na dose de 39,58 mg.kg^{-1} , apresentando o valor de 52,80 mg kg^{-1} (Figura 20).

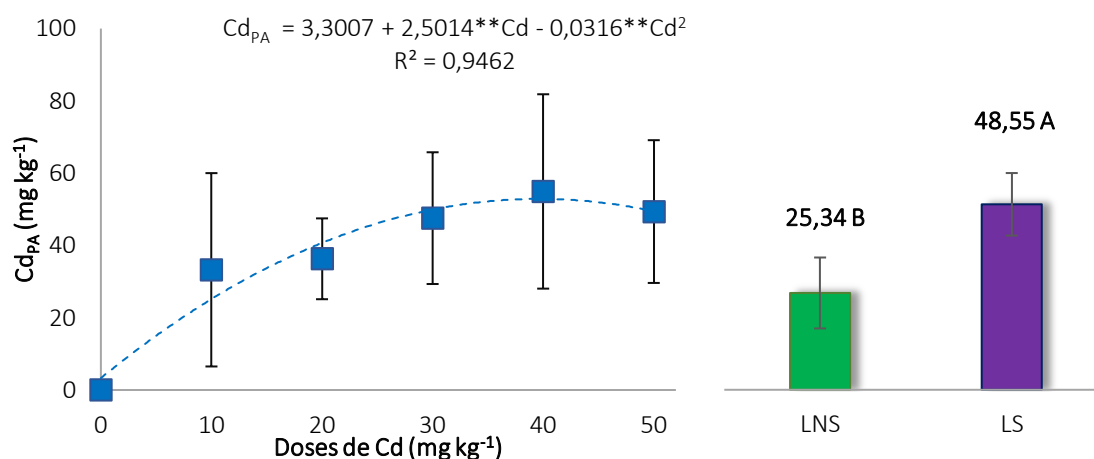


Figura 20 - Teor de Cádmio (Cd_{PA}) na Parte Aérea de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisolo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. As médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).

Quanto ao fator salinidade do solo, as plantas cultivadas no LS apresentaram maior acúmulo de Cd na parte aérea, acumulando 48% mais Cd que as plantas cultivadas em LNS. Esse resultado indica que a salinidade presente no ambiente de cultivo auxilia no acúmulo de Cd.

Corroborando com esta pesquisa, Nedjimi *et al.*, (2022) observaram na *A. nummularia* Lindl., que a concentração de Cd_{PA} aumentou consideravelmente com o aumento das concentrações do elemento no ambiente de cultivo, chegando a acumular ≈ 600 vezes mais Cd que nas plantas controle, nas raízes o acúmulo apresentou o mesmo comportamento, porém em menores proporções

Em condições hidropônicas, Kahli *et al.*, (2021), observaram um aumento no teor de Cd nas raízes e folhas de espécies de *Atriplex* (*A. canescens*, *A. nummularia* Lindl. e *A. halimus*) expostas à concentração de 50 μM de Cd, os maiores valores foram obtidos nas folhas da *A. nummularia* Lindl. (1.900 $mg\ kg^{-1}$) e *A. canescens* (1.040 $mg\ kg^{-1}$), relatando ainda que a adição de sal estimulou o acúmulo de Cd nas três espécies ao final do primeiro mês de tratamento, principalmente na concentração de exposição de 20 μM $CdCl_2$.

O Teor de Cádmio na Raiz (Cd_R), apresentou interação significativa ($p < 0,01$), na qual o LNS apresentou um comportamento linear, aumentando o acúmulo de Cd com o incremento nas doses, apresentando teores 98% maior na dose de Cd de 50 $mg\ kg^{-1}$ relação ao controle (Figura 21).

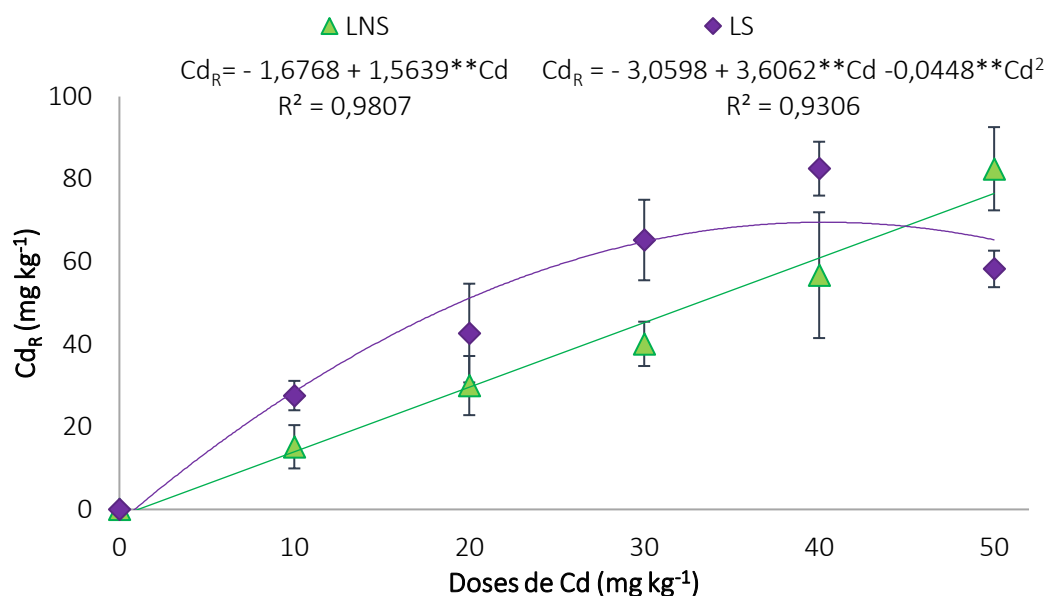


Figura 21 - Teor de Cádmio na Raiz (Cd_R) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)

O LS, apresentou comportamento quadrático, exibindo maior acúmulo de Cd ($69,51 \text{ mg kg}^{-1}$) na dose de Cd de $40,25 \text{ mg kg}^{-1}$. O acúmulo de ambas as características de solo torna-se iguais na dose de Cd de $46,25 \text{ mg kg}^{-1}$, com $67,89 \text{ mg kg}^{-1}$.

Ishtiyag *et al.* (2023) avaliando a *A. halimus* cultivada em solos com doses crescentes de Cd (20, 50 e 100 mg kg^{-1}), verificaram o acúmulo de Cd maior nas raízes do que na parte aérea, com absorção de 16,7 e $8,0 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente. Por outro lado, estudos com a mesma espécie verificaram comportamento contrário, no qual o acúmulo maior do metal foi na parte aérea (Acosta *et al.*, 2018; Kahli *et al.*, 2021). Estes resultados, indicam que diferentes fatores ambientais, como a presença de salinidade, tipo de solo ou matéria orgânica, também podem afetar a fisiologia vegetal e causar diferentes padrões de sequestro e acúmulo de metais na biomassa vegetal da *A. halimus* (Ishtiyag *et al.*, 2023).

Nedjimi, (2018), analisaram pesquisas realizadas durante a última década para compreender o mecanismo de tolerância das espécies *A. halimus* e *A. nummularia* Lindl. ao estresse por Cd e relata que na espécie *A. nummularia* Lindl., a maior parte do Cd absorvido ficou retido na parte aérea sugerindo ainda que a espécie poderia ser um arbusto adequado para programas de fitoextração.

Nesta pesquisa o teor de Cd_{PA} apresentou também um acúmulo significativo do metal, com mais de 65 mg kg^{-1} de Cd na sua parte aérea. Observando que plantas hiperacumuladoras de Cd, projetam mais de 100 mg kg^{-1} para sua parte aérea (Baker *et*

al. 2020) a espécie *A. nummularia* Lindl., é de fato uma boa candidata a fitoextração, pois além de produzir alta biomassa em pouco tempo, ela consegue atingir $\approx 65\%$ da capacidade de acumulação de hiperacumuladoras de Cd.

Esta proposta ainda é validada, quando verifica-se o Fator de Translocação (FT), que avalia a habilidade da planta em translocar o metal pesado das raízes para as partes aéreas, capacidade essencial na fitorremediação de ambientes contaminados. Nesta pesquisa, as plantas cultivadas no LS apresentaram FT 36% maior que o LNS, exibindo maior eficiência fitoextratora e maior desempenho nas doses de 10, 20 e 30 mg kg^{-1} com FT de 2,37, 1,14 e 1 respectivamente para este solo (Figura 22).

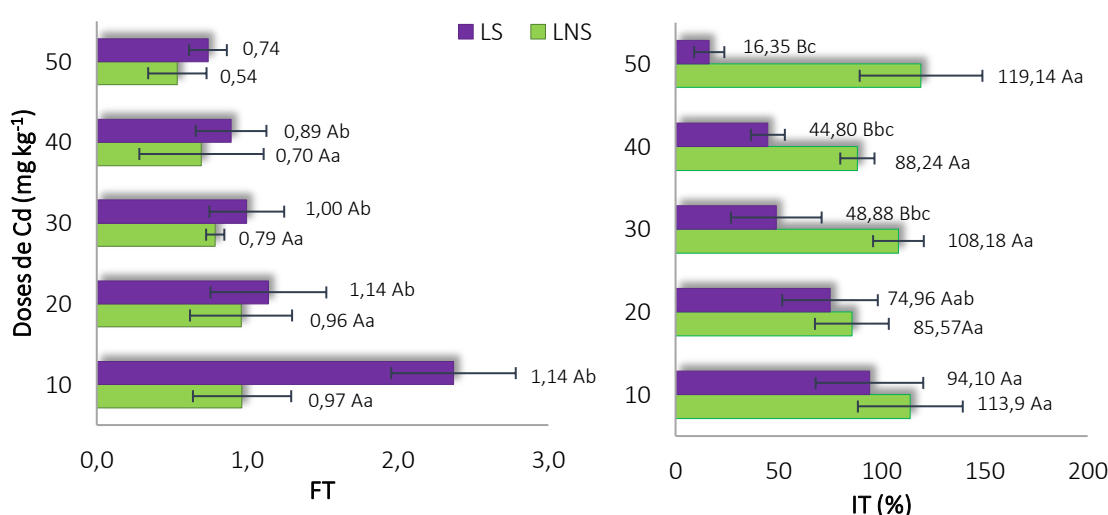


Figura 22 - Fator de Translocação (FT) e Índice de Tolerância (IT) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisolo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. As médias seguídas por letra iguais, maiúsculas entre as características do solo e minúsculas doses, não diferem pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

O índice de tolerância (IT) evidenciou um decréscimo nas plantas cultivadas em LS com o incremento das doses de Cd, porém manteve-se nas plantas cultivadas em LNS. Além disso, as plantas do LNS mostraram-se mais tolerantes ao Cd do que as do LS (Figura 22).

Plantas com FT maiores que 1 são consideradas acumuladoras de metais e adequadas para programas de fitoextração de metais em solos contaminados (McGrath e Zhao, 2003). Diante disto, é possível verificar que a *A. nummularia* Lindl. em solo salino, contaminado artificialmente até a dose de 30 mg kg^{-1} exibiu FT maiores que 1, contribuindo para a afirmação que a espécie apresenta potencial fitoextrator do metal e que a salinidade e todas os mecanismos adaptativos desencadeados por ela, auxiliam na tolerância ao Cd até a dose de 30 mg kg^{-1} .

Há pouca informação disponível sobre o potencial de fitoextração de metais da *A. nummularia* Lindl., porém, Nedjimi *et al.*, (2022) também verificaram FTs significativos ($p < 0,01$) maiores que 1 na mesma espécie, cultivada em condições hidropônicas, verificando os FTs de 3,29, 2,16 e 3,39 para as concentrações de Cd de 100, 200 e 300 μM respectivamente.

Da mesma forma, o estudo de Kahli *et al.* (2021), verificaram que a *A. nummularia* Lindl. apresentou FTs de 4 para o tratamento a 50 μM CdCl_2 para as plantas cultivadas sem adição de sal, porém relataram que a adição de sal estimulou o acúmulo de Cd na espécie, na concentração de 20 μM de Cd.

Diferente dos estudos acima citados, esta pesquisa foi desenvolvida em solo, apoiando ainda mais a hipótese de que as espécies de *Atriplex* são boas candidatas a fitoextração em ambientes salinos em concentrações moderadas de Cd.

Avaliando ainda, os índices de tolerância (IT) que caracterizam a tolerância das plantas aos metais pesados, no qual valores inferiores a 100% indicam uma diminuição líquida na biomassa e sugerem que as plantas estão estressadas com metal (Audet e Charest, 2007; Bankaji *et al.*, 2019). Verifica-se que mesmo a *A. nummularia* Lindl. cultivada em LNS não apresentando alta translocação, seu IT permaneceu inalterado com o incremento das doses de Cd, indicando alta tolerância da espécie ao Cd.

3.1.1.3.2. Caracterização e Densidade de Tricomas (DT)

Com as análises de anatomia realizadas foi possível verificar a estrutura e contabilizar os tricomas presentes nas superfícies adaxial e abaxial (Figura 23) de *A. nummularia* Lindl. submetida aos diferentes tratamentos.

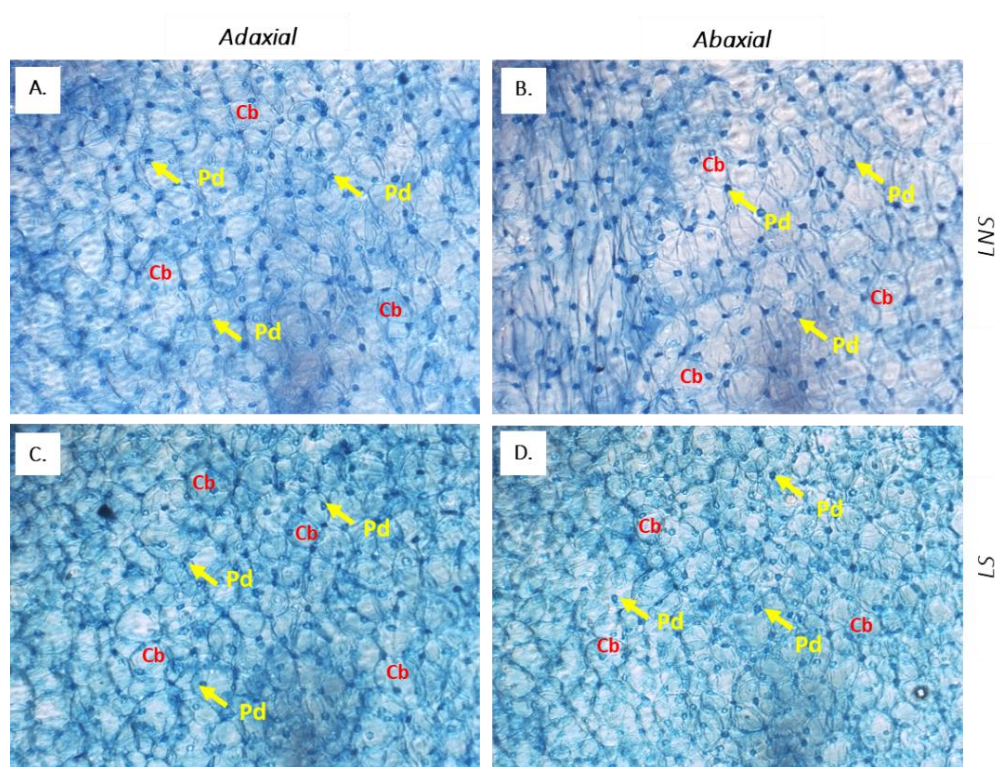


Figura 23 – Epiderme foliar de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvissolo de caráter salino (C e D) e não salino (A e B) contaminado com doses crescentes de Cd. Detalhes da estrutura dos tricomas vesiculares: cabeça “Cb”, pedúnculo “Pd”.

Com as imagens obtidas pela microscopia de varredura eletrônica (MEV), foi possível observar a estrutura dos tricomas (Figura 24 B), sendo constituídos por de uma ou mais células-tronco (pedúnculo) e uma grande célula da bexiga contendo um grande vacúolo central (Evert, 2006). O processo de secagem utilizada na metodologia reduziu o volume da maioria das vesículas epidérmicas (Figura 24 A), porém não houve rompimento das estruturas conforme visualizado no corte transversal (Figura 24 C) e manutenção do seu conteúdo interno (Figura 24 D).

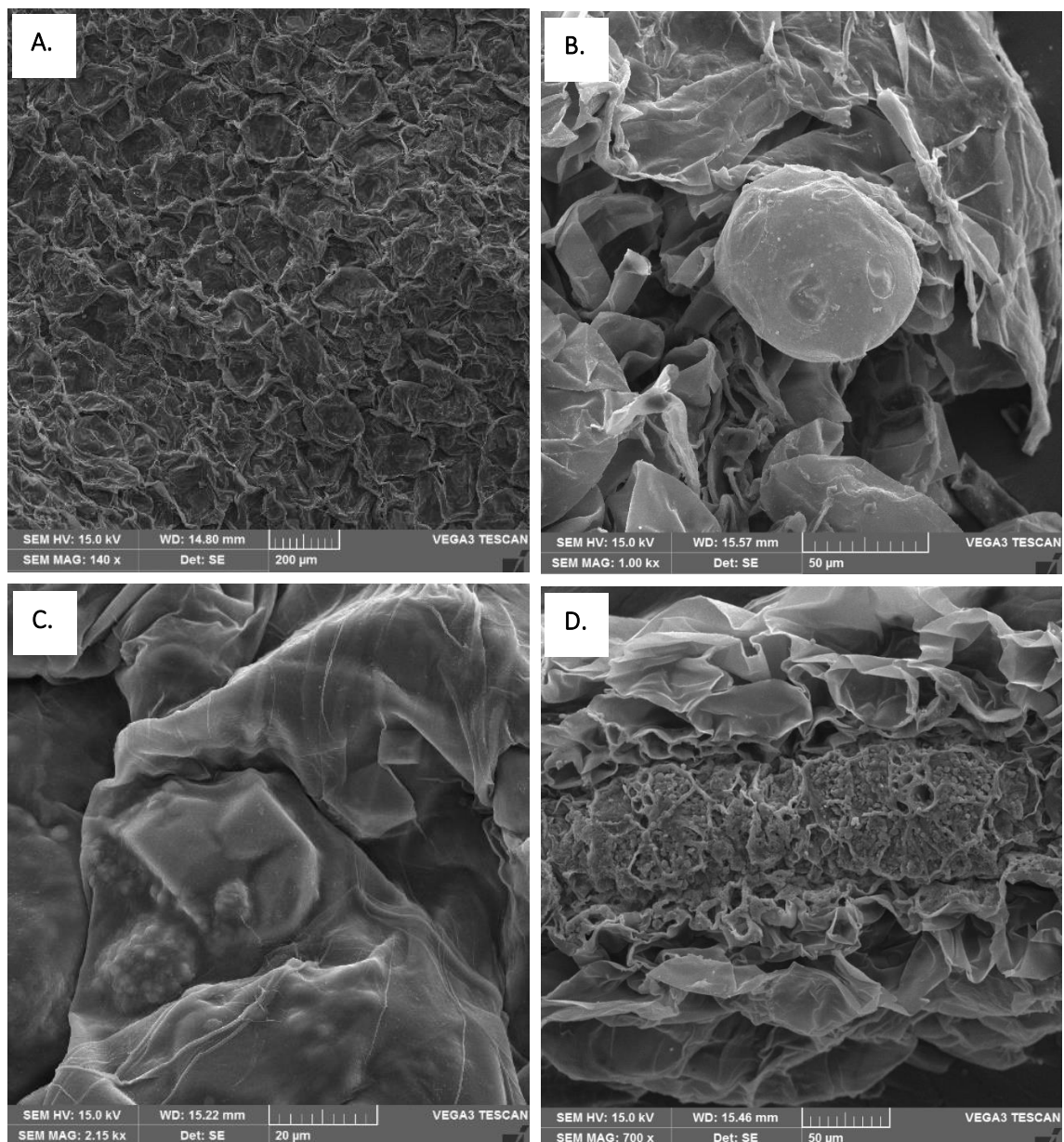


Figura 24 – Imagens obtidas por microscopia de varredura eletrônica (MEV): (A) – Superfície foliar; (B) – “Cabeça” do tricoma vesicular; (C) – Detalhe do cristal de sal dentro do tricoma vesicular; (D) – Corte transversal da folha de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd.

Também foram realizadas avaliações com Espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDS) integrada ao MEV observando que os elementos predominantes nas amostras, após o C ($\approx 60\%$) e O ($\approx 25\%$), foram o Na^+ e Cl^- tanto para as plantas cultivadas em LNS exibindo porcentagens de 3,6% (Na^+) e 3,8%, (Cl^-), quanto para o LS, com porcentagens de 3,4% (Na^+) e 4,4%, (Cl^-) (Figura 25).

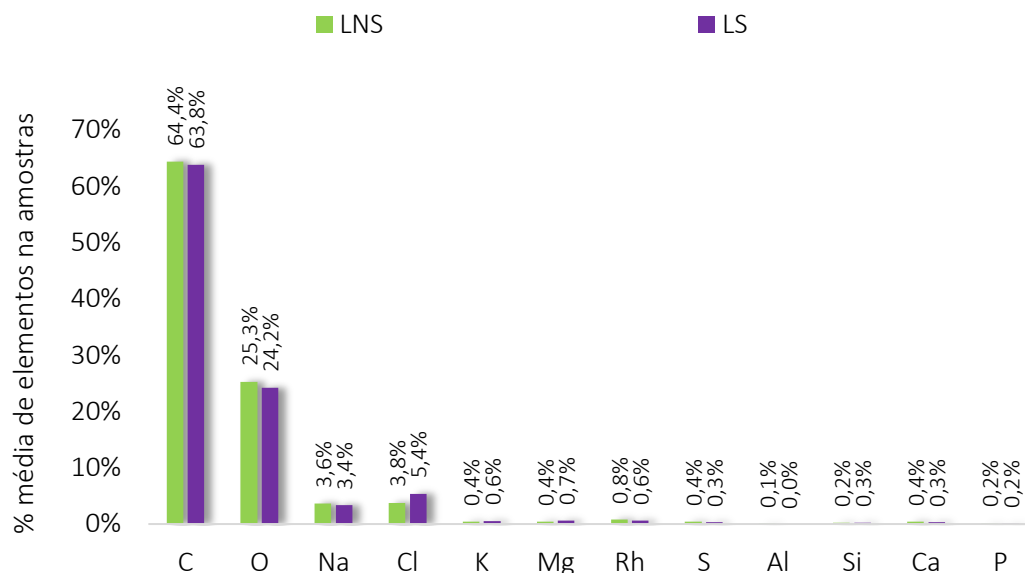


Figura 25 – Porcentagem dos elementos detectados por Espectroscopia de Energia Dispersiva de raios-X (EDS) integrada ao MEV na superfície das vesículas epidérmicas de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd.

Em nenhum tratamento foi identificado o Cd, porém o elemento Rh, que não existiam no ambiente de cultivo foi o quinto elemento mais presente nas amostras (Figura 25). Diante disto, já que as doses de Cd identificadas nas vesículas, conforme seção: 3.1.1.3.3, foram baixas, pode ter ocorrido um equívoco na avaliação deste elemento, referindo-se o Cd como o Rh.

O ródio (Rh), um metal raro, ocorre naturalmente em baixas concentrações na crosta terrestre e tem sido utilizado nas indústrias de vidro, química e eletrônica, entretanto sua principal aplicação é como material catalisador ativo em conversores automotivos (Iavicoli *et al.*, 2022). Assim, observa-se que detecção de Rh nas amostras parece não ser provenientes do ambiente de cultivo utilizado nessa pesquisa ou contaminação.

Aliado a isto, quando avaliou-se apenas os elementos com porcentagem menor que 1,5% nas amostras por dose, é possível observar que não houve picos de Rh para dose 0 mg kg⁻¹, além disso, constata-se a presença do mesmo nas demais doses (Figura 26).

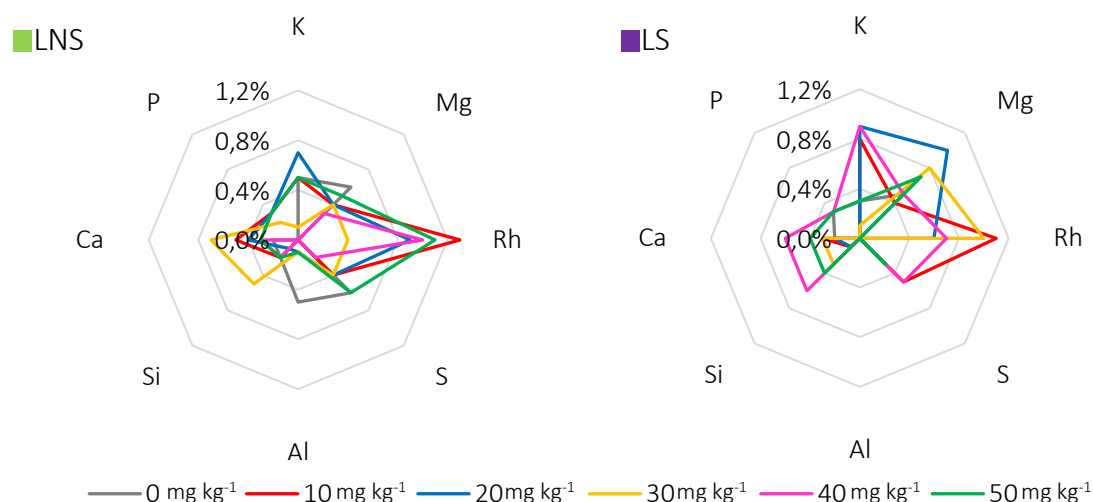


Figura 26 – Radar dos elementos detectados (<1,5% nas amostras) por Espectroscopia de Energia Dispersiva de raios-X (EDX) integrada ao MEV na superfície das vesículas epidérmicas de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino - LS (a direita) e não salino – LNS (a esquerda) contaminado com doses crescentes de Cd.

Mapeando a distribuição de cada elemento nas imagens obtidas pelo MEV auxiliadas por EDX, é possível visualizar a possível formação de cristais de NaCl ou KCl na superfície da *A. nummularia* das plantas cultivadas em LNS (**Figura 27**).

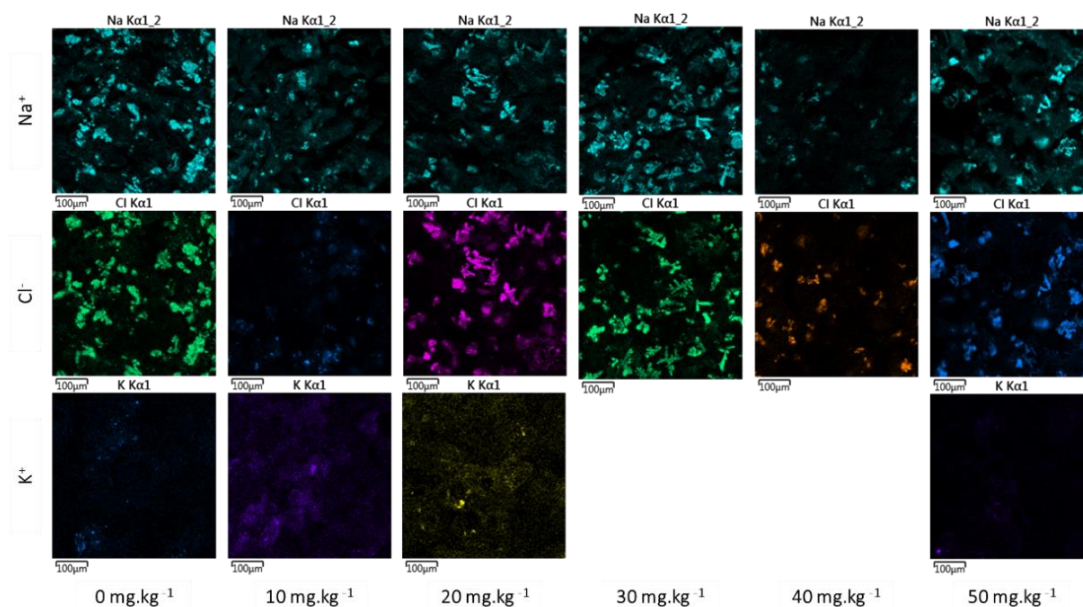


Figura 27 - Mapas de distribuição dos elementos de sódio (Na⁺_{VES}), Cloro (Cl⁻_{VES}), Potássio (K⁺_{VES}) nas vesículas epidérmicas, obtidas com auxílio de emissão de energia dispersiva de raio X (EDX), de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd.

Da mesma forma, no LS (**Figura 28**), é possível observar a mesma formação, destacando abaixo os Na^+ , Cl^- e K^+ , que foram contabilizados nas vesículas extraídas conforme demonstrado nas próximas seções.

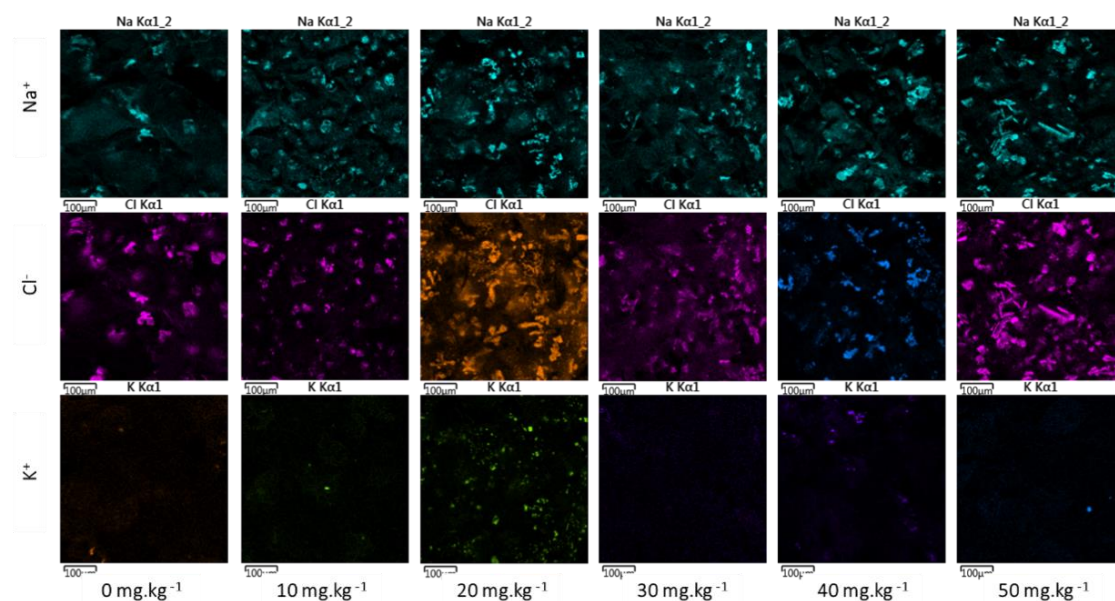


Figura 28 – Mapas de distribuição dos elementos de sódio (Na^+_{VES}), Cloro (Cl^-_{VES}), Potássio (K^+_{VES}) nas vesículas epidérmicas, obtidas com auxílio de emissão de energia dispersiva de raio X (EDX), de *A. nummularia* cultivada em Luvisolo de caráter salino (LS) contaminado com doses crescentes de Cd.

A densidade de tricomas (DT) apresentou interação significativa exibindo maior quantitativo de tricomas por área nas plantas cultivadas em LS e um comportamento quadrático dos dados, com valor de máximo de 13.104 tricomas por mm^2 em ambas as superfícies foliar, na dose de 26 mg kg^{-1} , enquanto as plantas cultivadas no LNS apresentaram média de 10.627 tricomas por mm^2 (Figura 29).

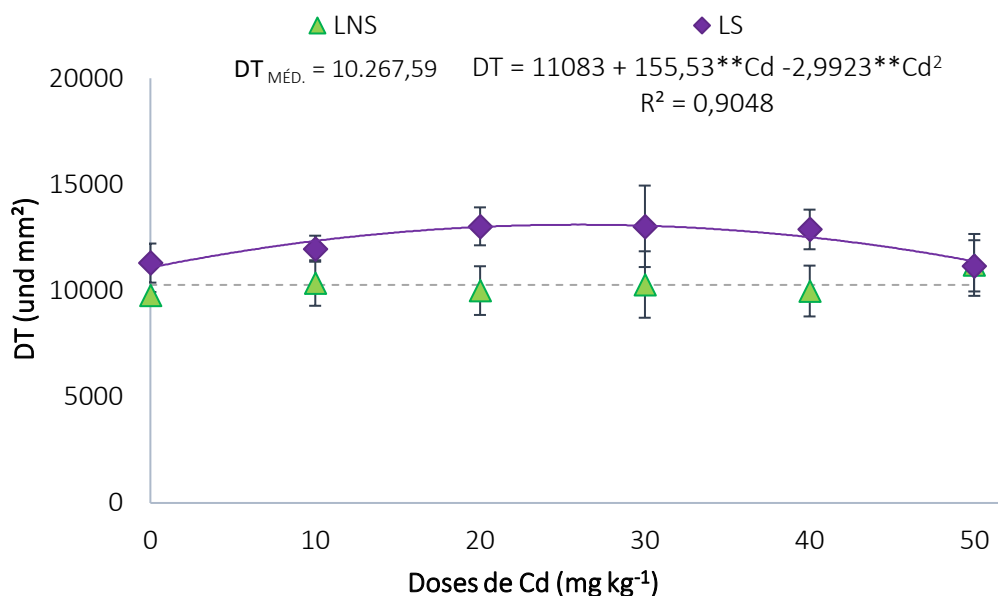


Figura 29 - Densidade de tricomas de Vesícula *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. As médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

Este resultado confirma a hipótese de que a densidade de tricomas só aumentou na presença de salinidade, apesar disso, foi observada uma leve redução da DT com o incremento das doses de Cd a partir da dose de 26 mg kg⁻¹, coincidentemente os teores de Na⁺_{VES} e Cl⁻_{VES} também apresentaram comportamentos redutores nas plantas cultivadas em LS, conforme observado nos dados apresentados na próxima seção.

O acúmulo de altas concentrações de Na⁺ e Cl⁻ nos tricomas epidérmicos confere uma importante característica adaptativa das plantas ao sal, evitando distúrbios de estresse salino, e que estas estruturas podem armazenar até 1 mmol L⁻¹ NaCl (Böhm *et al.* 2018).

3.1.1.3.3. Teor de Sódio (Na⁺_{VES}), Cloro (Cl_{VES}), Potássio (K⁺_{VES}) e Cádmio (Cd_{VES}) na Vesícula

O Na⁺_{VES}, apresentou interação significativa (p<0,01), na qual o LS exibiu um comportamento linear, com uma redução nos teores de Na⁺_{VES} com o aumento das doses de Cd, reduzindo 62% na maior dose (50mg kg⁻¹) em relação as plantas controle (**Figura 30 A**). A partir da dose de 14,63mg.kg⁻¹ o LS exibiu teores Na⁺_{VES} menores em relação à média do LNS, com reduções de 8, 23, 38 e 53% para 20, 30, 40 e 50 mg kg⁻¹, respectivamente no LS.

O teor de Cl_{VES}, apresentou interação significativa (p<0,01), na qual as plantas cultivadas em LNS apresentou média de 62,11 mg g⁻¹ e as cultivadas em LS apresentou um comportamento quadrático com o maior acúmulo de Cl_{VES} na dose de Cd de 18,38

mg kg⁻¹ com 86,90 mg g⁻¹ **Figura 30 B**). Em todas as doses estudadas na pesquisa o LS exibiu maior acúmulo de Cl⁻_{VES} do que o LNS.

Já o teor de K⁺_{VES}, apresentou interação significativa (p<0,01), com as plantas cultivadas em LNS apresentando teores médios de 7,7 mg g⁻¹ e as plantas cultivadas em LS apresentou um comportamento quadrático com o maior acúmulo de K⁺_{VES} na dose de Cd de 15,24 mg kg⁻¹ com 5,87 mg g⁻¹ (**Figura 30 C**). Em todas as doses estudadas na pesquisa, o LS exibiu menor acúmulo de K⁺_{VES} do que o LNS.

Por fim, o teor de Cd_{VES}, também apresentou interação significativa (p<0,01), na qual o LS apresentou um comportamento quadrático com acúmulo de 5,67 mg kg⁻¹ de Cd na dose de Cd de 29,34 mg kg⁻¹, o LNS, também apresentou comportamento quadrático com acúmulo máximo de 4,04 mg kg⁻¹ na dose de Cd de 42,70 mg kg⁻¹ (**Figura 30D**). O acúmulo de ambas as características de solo tornou-se iguais na dose de Cd de 45,37 mg kg⁻¹, com teor de 4,03 mg kg⁻¹ de Cádmio.

Lefèvre et al. (2009), avaliando a *A. halimus* expostas a 50 µM de Cd e 50 mM de NaCl em solução nutritiva, verificaram que a proporção de Na⁺ excretada pelos tricomas apresentou uma pequena diminuição nas plantas tratadas com Cd, mas aumentou quando cultivada o NaCl foi adicionado ao meio, em contrapartida, o teor de K⁺ excluído permaneceu inalterada pelo tratamento, mesmo na presença de KCl.

Ao contrário do observado por Lefèvre *et al.*, (2009), neste estudo a *A. munnularia* apresentou uma redução no acúmulo de Na⁺ com incremento das doses de Cd na presença de salinidade, o mesmo ocorreu para o Cl⁻ e K⁺ próximo as doses de 20mg.kg⁻¹ de Cd que também iniciou a diminuição da DT, em contrapartida as doses de Cd foram aumentadas até a dose de 42,70 mg kg⁻¹.

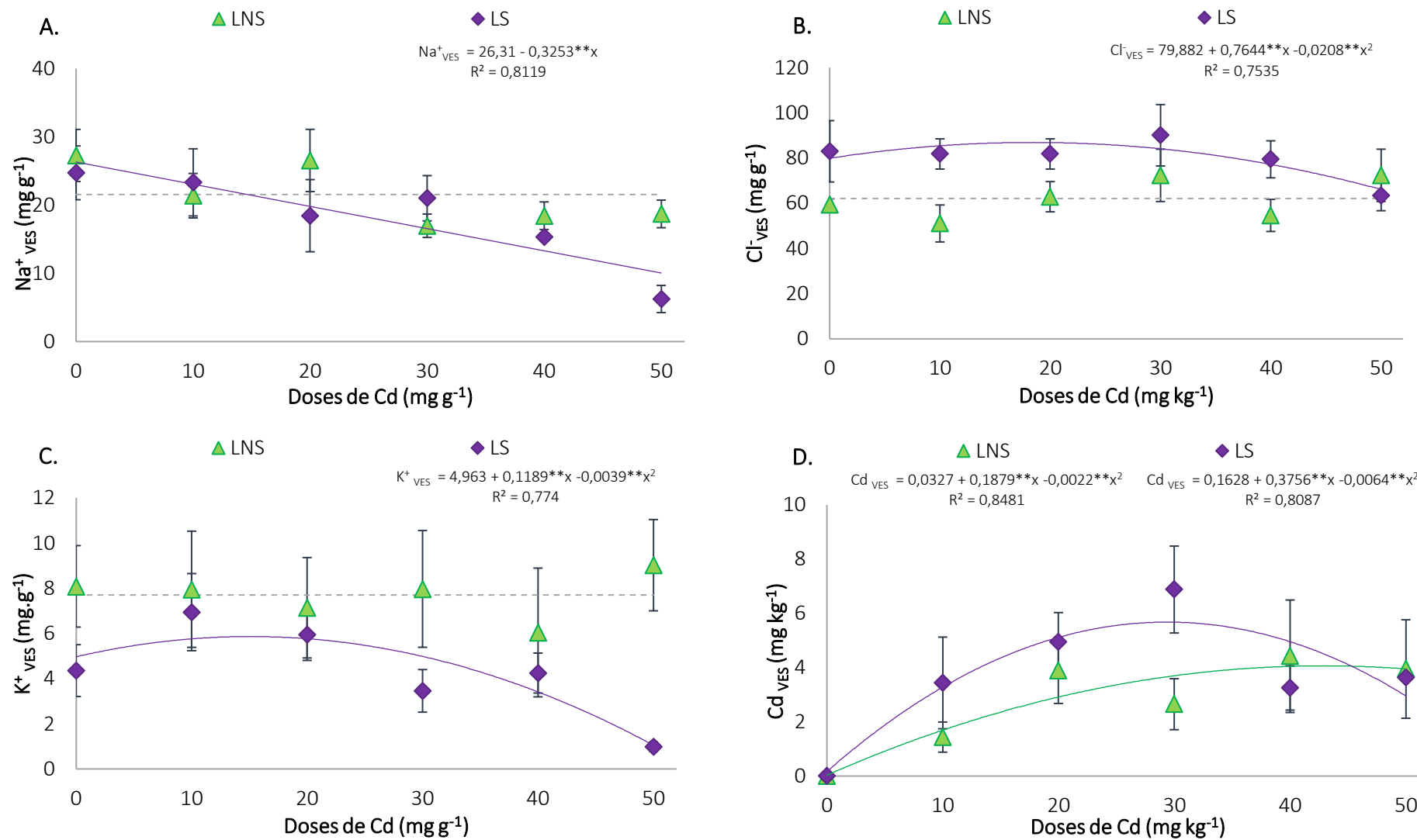


Figura 30 - Teor de Sódio (Na⁺_{VES}), Cloro (Cl⁻_{VES}), Potássio (K⁺_{VES}) e Cádmio (Cd_{VES}) na Vesícula *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. Significância dos coeficientes de regressão: ** (p ≤ 0,01) e * (p ≤ 0,05).

Estes resultados corroboram com o estudo de Kahli et al. (2021) que verificaram também um aumento na quantidade total de Cd excretada nos tricomas de três espécies de *Atriplex*, tratadas com CdCl₂ (20 ou 50 µM) e 50 mM NaCl. Os autores observaram ainda que não houve diferença significativa nos teores de Cd excretados em nenhum tratamento da concentração de 20 µM de CdCl₂, porém na concentração de CdCl₂ de 50 µM com adição de sal, a excreção de Cd foi suprimida nas espécies *A. canescens* e aumentada em *A. halimus*.

Zhang et al. (2020), estudando as halófitas *Suaeda glauca* e *Limonium aureum* em diferentes doses de Cd e presença de NaCl, verificaram que o tratamento apenas com Cd aumentou seu teor excretado pelas folhas de *L. aureum*, porém a excreção de Cd com a adição de sal facilitou e aumentou muito mais o processo de excreção ($p < 0,05$), aumentando de 1,7 e 4,8 vezes a excreção nas plantas tratadas com 3 e 6 mg kg⁻¹ Cd, respectivamente.

Nesta pesquisa, é interessante observar que nas vesículas das plantas cultivadas em LS os teores de Na⁺ e Cl⁻ foram reduzidos com o incremento das concentrações de Cd, da mesma forma que os teores de Cd aumentaram até aproximadamente a dose de 30 mg kg⁻¹ de Cd, induzindo a hipótese de que até esta dose, as vesículas da *A. nummularia* Lindl. possuem baixa seletividade iônica e é capaz de excretar outros íons diferentes de sódio e cloreto, como os metálicos. Estes resultados foram também observados em outras espécies halófitas como a *Tamarix smyrnensis* (Manousaki et al., 2008) e *Limonium aureum* (Zang et al., 2020).

3.2. Avaliações do Experimento II

3.2.1. Dose de Cd escolhida e Condutividade elétrica do extrato de saturação final

Com base nos valores de BMS_{PA} das plantas cultivadas no LS, observadas no EXP I, verificando que até a dose de 30 mg kg⁻¹ o LS exibiu maiores BMS_{PA} que o LNS, optou-se por conduzir o EXP II com a dose de 30mg kg⁻¹ de Cd.

Assim, o solo de todos os tratamentos foram contaminados com 30 mg kg⁻¹ de Cd e a irrigação se deu com concentrações crescentes de NaCl conforme descrito em metodologia.

A Condutividade elétrica do extrato de saturação (CE_{ES}) final, dos solos contaminado com 30 mg kg⁻¹ de Cd e concentrações crescente de NaCl, apresentaram diferença significativa ($p < 0,01$) com o incremento das concentrações apresentando CE_{ES} de 14, 19,

21, 22 e 27 dS m⁻¹ nas concentrações da água de irrigação de 0, 50, 100, 150 e 200 mmol L⁻¹ de NaCl respectivamente (**Figura 31**).

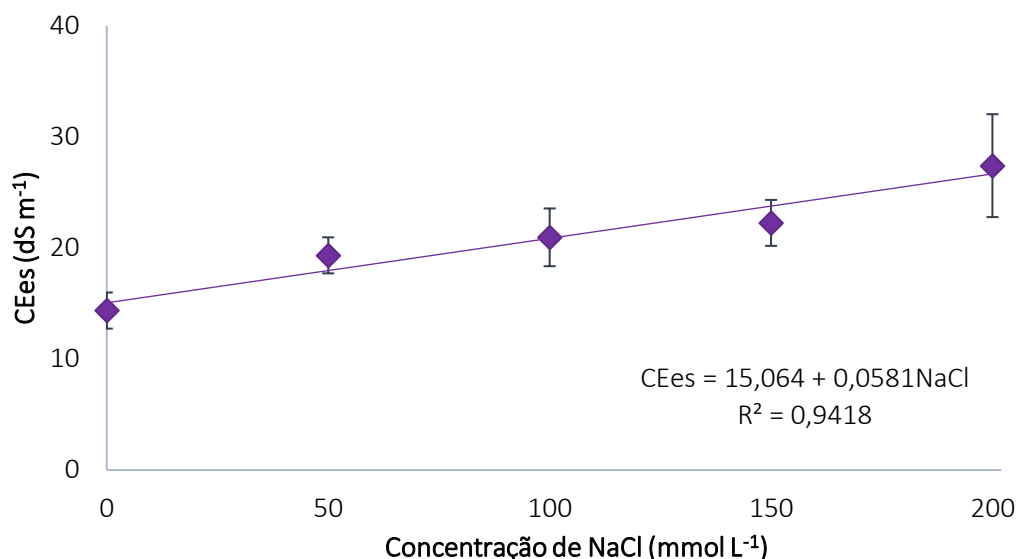


Figura 31 - Condutividade elétrica final do extrato de saturação (CE_{es}) de solo cultivado com *A. nummularia* Lindl. contaminado com 30 mg.kg⁻¹ de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl.

3.2.2. Avaliações Biométricas

3.2.2.1. Biomassa fresca (BMF_{PA}) e seca (BMS_{PA}) da parte aérea.

A BMF_{PA} do EXP II, no qual verificou a influência da adição do NaCl no solo contaminado por Cd, apresentou diferença significativa ($p < 0,01$), com o incremento das concentrações de NaCl, com reduções de 13%, 25%, 38%, 51%, para as doses de 50, 100, 150 e 200 mmol L⁻¹ respectivamente, em relação ao controle (**Figura 32**).

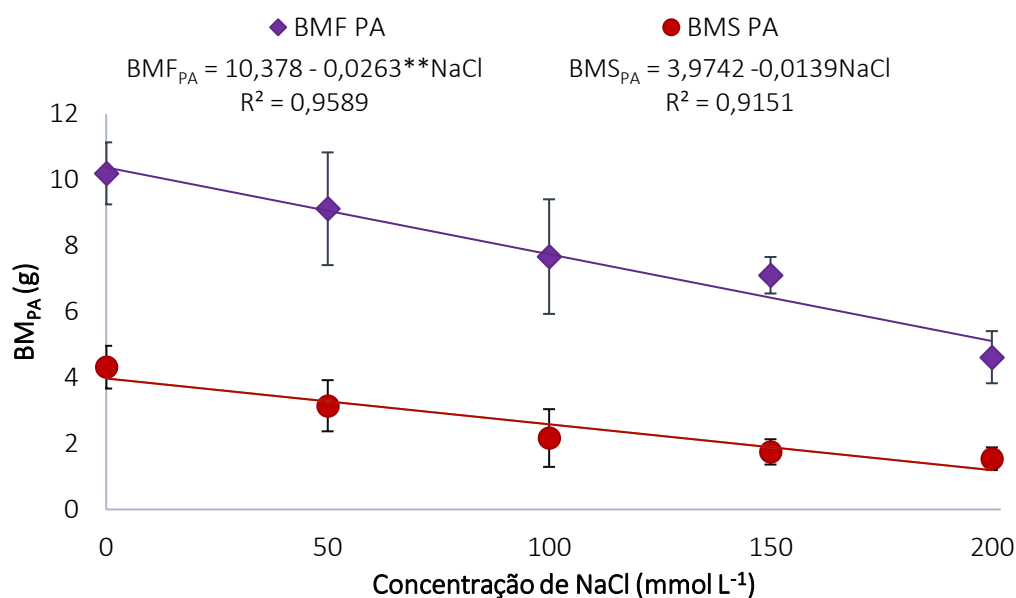


Figura 32 - Biomassa fresca da parte aérea (BMF_{PA}) e Biomassa seca da parte aérea (BMS_{PA}) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg kg⁻¹ de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)

Da mesma forma que a BMF_{PA}, a AF apresentou diferença significativa ($p < 0,01$), com o incremento das concentrações de NaCl, com reduções de 17%, 35%, 52%, 70%, para as doses de 50, 100, 150 e 200 mmol L⁻¹ respectivamente, em relação ao controle **Figura 32**).

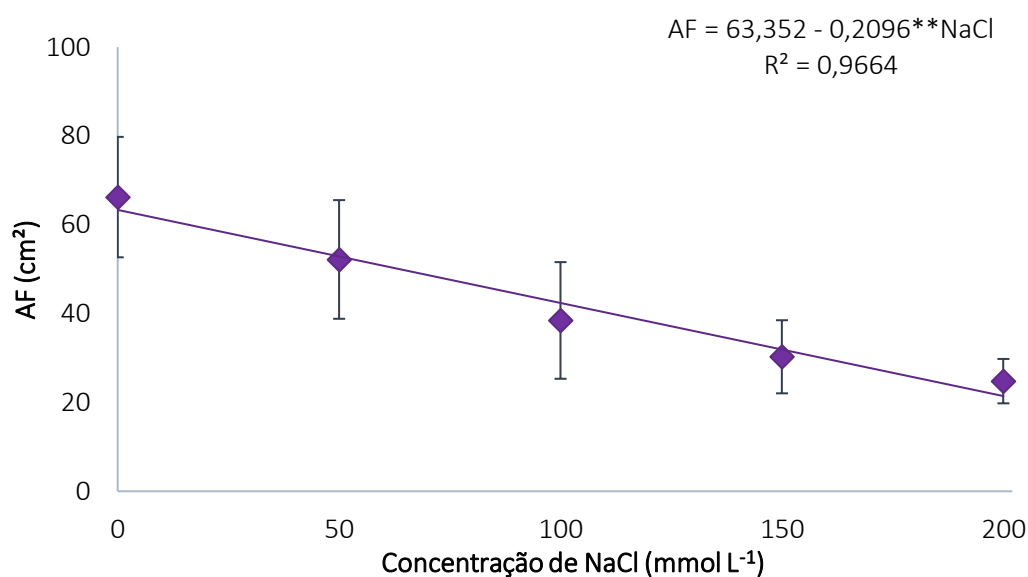


Figura 33 – Área foliar (AF) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg.kg⁻¹ de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)

A AF apresentou diferença significativa ($p < 0,01$) com o incremento das doses de NaCl exibindo redução de 66% entre as plantas irrigadas com a concentração de 200mmol L⁻¹ e as plantas controle.

As biomassas das raízes, tanto fresca como seca não apresentaram diferença estatística significativa, mantendo média de valores de 3,24g e 1,51g para BMF_R, a BMS_R, respectivamente. Este é um resultado relevante na pesquisa, pois demonstra que as raízes não sofreram perdas de biomassa na contaminação simultânea do solo com Cd e NaCl, mantendo sua extensão para absorção de água e elementos.

Marien *et al.*, (2014) verificaram que a presença de 200mmol L⁻¹ de NaCl na solução nutritiva mitigou significativamente toxicidade Cd na halófita *S. portulacstrum*, exibindo desempenho, visivelmente melhor na aplicação de 25 e 50 µM de Cd, não apresentando clorose ou necrose e sua taxa de crescimento relativa foi mantida, apresentando diminuição significativa ($p < 0,05$), apenas para biomassa seca das raízes.

Lefèvre *et al.*, (2009) através do cultivo hidropônico de *A. halimus* expostas por 12 e 24 dias ao Cd (50 µM) na ausência ou na presença de 50 mM de diferentes tipos de sais, verificaram que o NaCl e o KCl melhoraram significativamente crescimento das plantas na presença de Cd após 24 dias, comparativamente às plantas expostas apenas ao Cd.

Diversos estudos apontam que o crescimento e produção de biomassa da *A. nummularia* Lindl. são estimulados em concentrações entre 100 a 300 mmol L⁻¹ de NaCl (Hassine; Lutts, 2010; Geissler *et al.*, 2015; Rangani et al, 2016; Melo *et al.*, 2018; Parvez *et al.*, 2020). Porém, com esta pesquisa, pode-se registrar, que na presença de Cd, o aumento da concentração salina das águas de irrigação, não apresentou melhora no desenvolvimento da *A. nummularia* Lindl., indicando um possível agravante do estresse estabelecido. A pesar disto, é valido ressaltar que o solo utilizado já apresentava condutividade elétrica do extrato de saturação de 14,5 dS m⁻¹ e até a concentração de 100 mmol.L⁻¹ aplicada, as perdas de biomassa não atingiram 40%.

3.2.3. Avaliações das Relações Hídricas

3.2.3.1. Potencial Hídrico Foliar (Ψ_w), Potencial Osmótico (Ψ_o) e Potencial de Pressão (Ψ_p)

O Ψ_w apresentou diferença significativa ($p < 0,01$) com comportamento quadrático no incremento das concentrações de NaCl, apresentando maior valor de -3,11MPa na concentração de 138 mmol L⁻¹ (**Figura 34**).

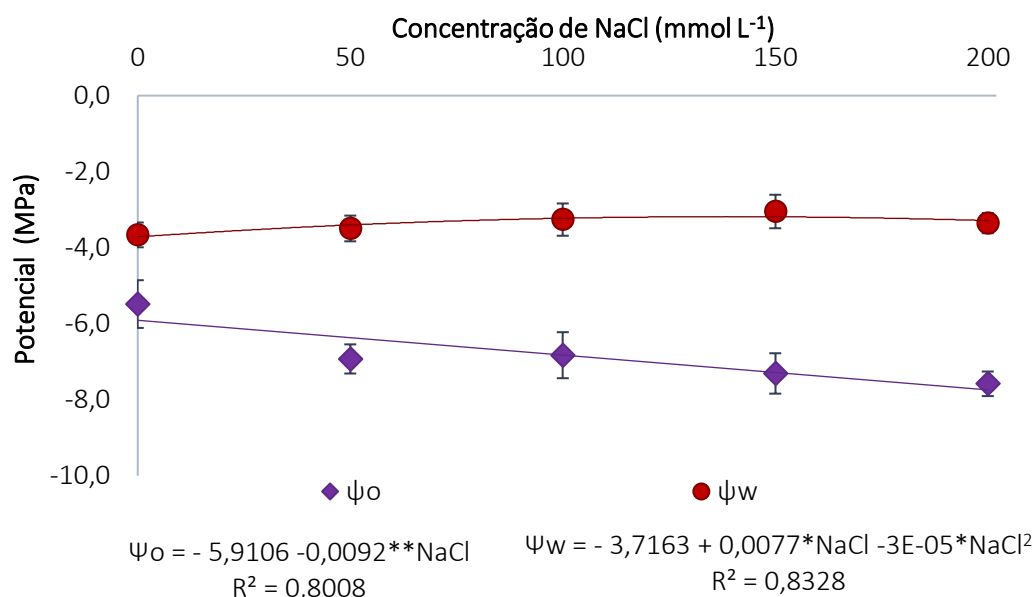


Figura 34 – Potencial Hídrico Foliar (Ψ_w) e Potencial Osmótico (Ψ_o) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg kg⁻¹ de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)

Já o Ψ_o apresentou diferença significativa ($p < 0,01$) com o incremento das concentrações de NaCl, apresentando comportamento linear, reduzindo 8, 16, 23% para as concentrações de 50, 100, e 150 mmol L⁻¹, respectivamente em relação a planta controle, e chegando a -7,75MPa na concentração de 200 mmol L⁻¹, uma redução de 31% em relação a planta controle (**Figura 34**).

A redução do Ψ_o com o aumento da concentração de NaCl na água de irrigação é esperada, uma vez que espécies de Atriplex apresentam mecanismos de absorção e acúmulo dos íons de Na⁺ e Cl⁻ em caules e folhas em grandes vacúolos, reduzindo a toxidez dos mesmos e favorecendo a redução do Ψ_o (Barcena e Parea, 2016). Entretanto, nesta pesquisa, curiosamente, o Ψ_w não acompanhou essa redução do Ψ_o . Estes resultados corroboram com estudo de Lins *et al.*, (2018), no qual observaram que o Ψ_w das plantas de *A. nummularia* Lindl. variaram de -2,56 a -8,62 MPa, mas esse menor potencial foi observado no tratamento salino com 250 mmol de NaCl, e não no tratamento mais salino de 300 mmol de NaCl, enquanto o Ψ_o continuou reduzindo.

Diante disto, os autores atribuíram este comportamento, à menor atividade do íon sódio na água de irrigação com a concentração de 300 mmol NaCl, devido à maior

concentração de sais e formação de pares iônicos de baixa solubilidade na solução do solo (Lins *et al.*, 2018).

O Ψ_p apresentou diferença significativa ($p < 0,01$) com o incremento das concentrações de NaCl, apresentando comportamento linear ascendente, com um aumento de 49% nas plantas irrigadas com concentração de 200 mmol.L⁻¹ em relação a planta controle (Figura 35).

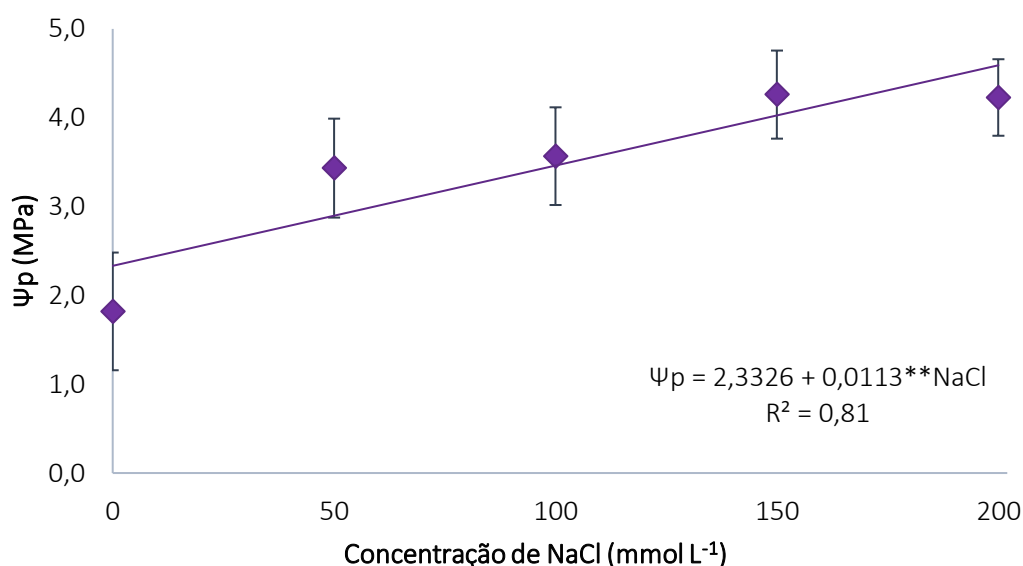


Figura 35 - Potencial de Pressão (Ψ_p) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg.kg⁻¹ de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)

É possível inferir que os sais acumulados nos vacúolos foram utilizados para promover a redução do potencial osmótico foliar mantendo o turgor e a expansão celular (Paulino *et al.*, 2020).

3.2.3.2. Parâmetros da Curva Pressão Volume (Curva PV)

Quando avalia-se os Parâmetros da Curva PV, observa-se o comportamento contrário ao Ψ_o obtido por osmometria, no qual, o Ψ_o^{100} , apresentou diferença significativa ($p < 0,01$) com o aumento das concentrações de NaCl, apresentando comportamento linear crescente, com valores mais negativos para as plantas controle e aumento de 47% nas plantas irrigadas com concentração de 200 mmol L⁻¹ em relação a planta controle (Figura 36).

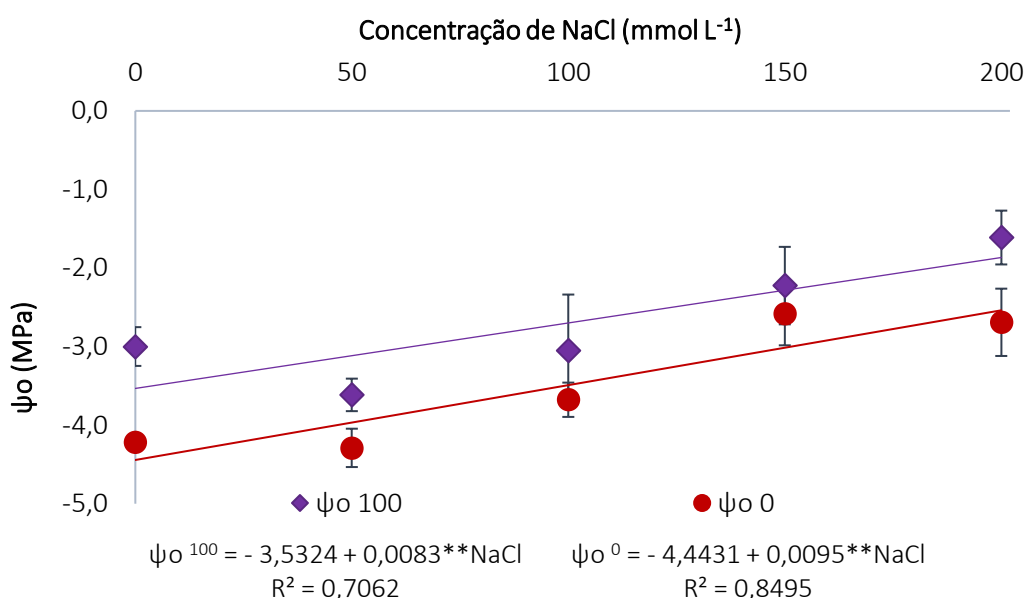


Figura 36 - Potencial Osmótico a Pleno e a Zero Turgor (Ψ_{o100}) e (Ψ_{o0}) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg kg⁻¹ de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)

Da mesma forma, o Ψ_{o0} , apresentou diferença significativa ($p < 0,01$) com o aumento das concentrações de NaCl, apresentando comportamento linear e valores mais negativos para as plantas controle, com aumento de 43% nas plantas irrigadas com concentração de 200 mmol L⁻¹ em relação a planta controle.

Bartlett et al. (2012), mostraram que o ponto de perda de turgor é derivado principalmente por diferenças no potencial osmótico devido à mudanças na concentração de soluto no simplasto, proporcionado pelo ajuste osmótico.

Desta forma, os resultados obtidos demonstram que o aumento das concentrações de NaCl das águas de irrigação, numa resposta intracelular não apresentaram reduções do Ψ_o proporcionado pela concentração de íons e solutos, indicando que estes foram destinados para outras estruturas, como os tricomas.

Flowers et al., (2015) relaram em sua pesquisa que a exclusão de íons tóxicos no citosol inicia-se quando a concentração citoplasmática atinge ≈ 100 a 200 mmol, nas quais as halófitas mantem suas funções essenciais sem ocorrer danos por toxidez.

O módulo de elasticidade (ϵ) também, apresentou diferença significativa ($p < 0,01$) com o aumento das concentrações de NaCl, apresentando comportamento linear e aumento de 62% nas plantas irrigadas com concentração de 200 mmol L⁻¹ em relação a planta controle (Figura 37).

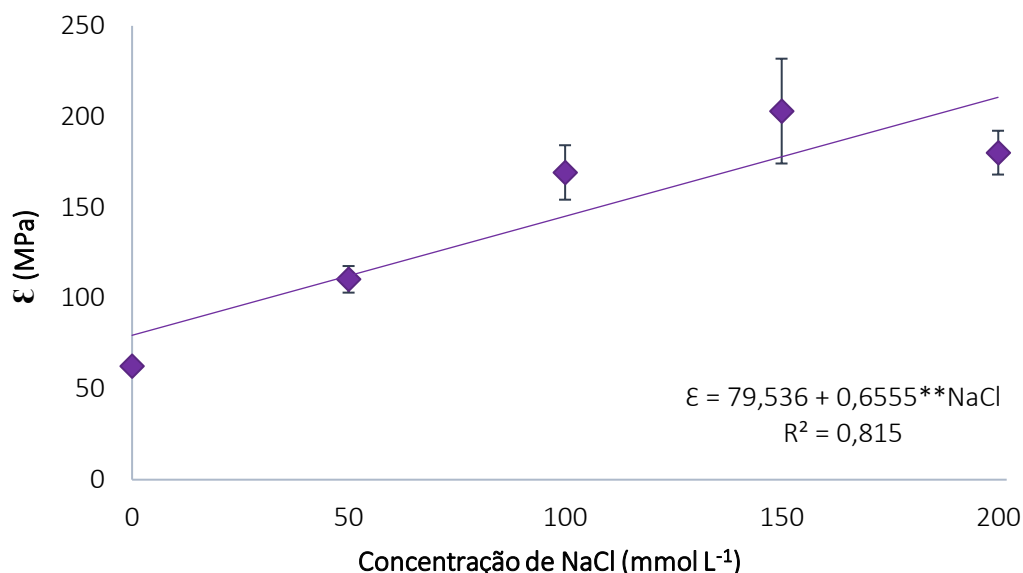


Figura 37 - Módulo de elasticidade (ϵ) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg.kg⁻¹ de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)

Assim, as paredes celulares tornaram-se mais rígidas com o incremento das concentrações salinas facilitando a variação no gradiente osmótico celular. Nguyen *et al.*, (2017) relatam que a variação no ϵ interfere nas relações hídricas celulares porque quanto mais rígida a parede celular, maior será a mudança na pressão de turgescência, assim, consegue manter o conteúdo de água mesmo no ponto de perda de turgescência.

3.2.3.3. Ajuste Osmótico por osmometria (AO_{osmometria}) e Curva PV (AO_{curva PV})

A avaliação do Ajuste Osmótico por osmometria (AO_{osmometria}) e Curva PV (AO_{Curva PV}) permite verificar que não houve ajuste intracelular nas plantas cultivadas uma vez que AO_{Curva PV} exibe valores negativos (**Tabela 4**).

Tabela 4 – Valores de Ajuste Osmótico por osmometria (AO_{osmometria}) e Curva PV (AO_{Curva PV}) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg.kg⁻¹ de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl.

Níveis de NaCl	AO (Osmometria)		AO (Curva PV)	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
50 mmol.L ⁻¹	1,03	± 0,15	-0,415	± 0,21
100 mmol.L ⁻¹	0,56	± 0,38	-0,83	± 0,61
150 mmol.L ⁻¹	0,74	± 0,32	-1,245	± 0,49
200 mmol.L ⁻¹	0,28	± 0,10	-1,66	± 0,34

Já no AO_{osmometria}, observa-se valores positivos, indicando o ajuste osmótico das plantas com maior eficiência para as doses de 50mmol.L⁻¹. Estes resultados, fornecem subsídios de que houve uma exclusão dos íons para estruturas dos tricomas localizadas na superfície foliar que foram contabilizadas através do processo de maceração.

Este processo foi observado também em pesquisas com a mesma espécie, na qual relatam uma subestimação do potencial osmótico causado pela fração apoplástica pode ser, especialmente em espécies halófitas com estruturas de exclusão de sais (Lins *et al.*, 2018; Paulino *et al.*, 2020). Os estudos ainda relatam que os solutos excluídos são utilizados pela espécie para manutenção de um gradiente hídrico favorável a absorção de água.

As propriedades envolvidas na tolerância à salinidade de espécies halófitas podem contribuir indiretamente para a tolerância aos metais pesados, uma vez que os metais pesados induzem toxicidade iônica, stress hídrico secundário e uma explosão oxidativa e os mecanismos adaptativos como a regulação eficiente da condutância estomática, o ajuste osmótico e a alta eficiência no uso da água podem ajudar na manutenção do estado hídrico da planta auxiliando na tolerância ao estresse causado pelos metais pesados (Lutts e Lefèvre, 2015).

A senescência induzida pelo estresse abiótico é retardada nas espécies halófitas em comparação com as glicófitas, e o gerenciamento eficiente do estresse oxidativo ajuda a manter a integridade da estrutura celular (Lutts e Lefèvre, 2015).

Diante disto, é possível observar que a *A. nummularia*, utilizou-se dos seus mecanismos adaptativos ao estresse salino para tolerar o nível de Cd presente no ambiente de cultivo, excluindo possivelmente elementos tóxicos, aumentando a rigidez da parede celular e promovendo a manutenção do turgor celular.

3.2.4. Densidade de tricomas, Teor de Sódio (Na⁺_{PA}), Cloro (Cl⁻_{PA}), Potássio (K⁺_{PA}) e Cádmio (Cd_{PA}) na Parte Aérea e Teor de Sódio (Na⁺_{VES}), Cloro (Cl⁻_{VES}), Potássio (K⁺_{VES}) e Cádmio (Cd_{VES}) na Vesícula do Experimento II

A densidade de tricomas apresentou incremento de 23,3 unidades de tricomas por mm², com o aumento das concentrações de NaCl, chegando a 12.864 und mm², na concentração de 200 mmol L⁻¹, cerca de 81% de tricomas a mais que a quantidade observada na planta controle, este resultado indica que a presença dos íons de Na⁺ e Cl⁻ no ambiente potencializam o surgimento de novas camadas de tricomas aumentando a

capacidade da espécie na tolerância a salinidade (**Figura 38**). O aumento dos tricomas com o incremento nas concentrações foram observadas em outros estudos (Paulino *et al.*, 2020)

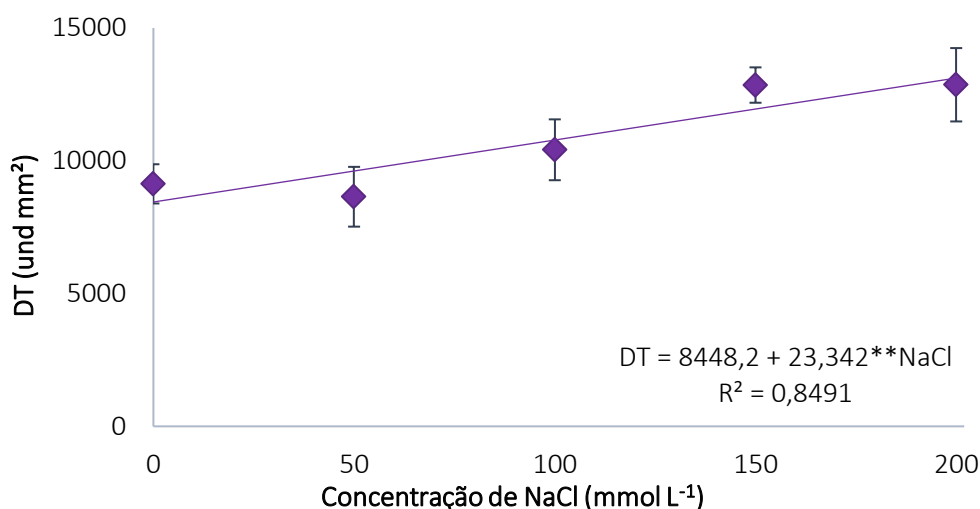


Figura 38 - Densidade de tricomas de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg kg⁻¹ de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p < 0,05$).

O teor Na^+_{PA} , apresentou diferença significativa ($p < 0,01$) com o aumento das concentrações de NaCl, apresentando comportamento linear e aumento de 55% nas plantas irrigadas com concentração de 200 mmol L⁻¹ em relação a planta controle, com acúmulo de 48,12 mg g⁻¹ (**Figura 39**).

Na vesícula o teor de Na^+_{VES} , apresentou diferença significativa ($p < 0,01$) com o aumento das concentrações de NaCl na água de irrigação, apresentando comportamento linear e aumento de 74% nas plantas irrigadas com concentração de 200 mmol L⁻¹ em relação a planta controle, com acúmulo de 24,99 mg g⁻¹ (**Figura 39**).

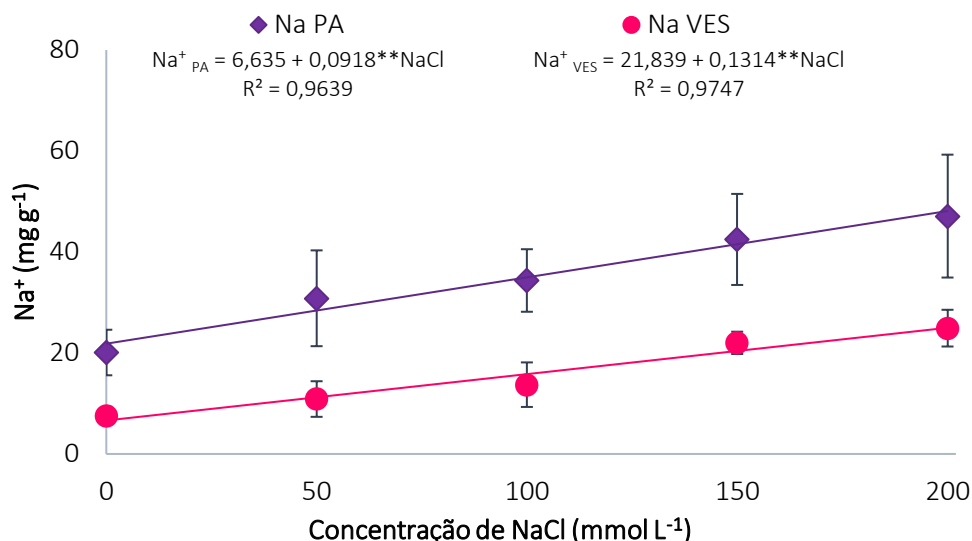


Figura 39 - Teor de Sódio (Na^+_{PA}) Parte Aérea e Vesícula (Na^+_{VES}) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg kg^{-1} de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p < 0,05$).

O teor de Cl^-_{PA} , apresentou diferença significativa ($p < 0,01$) com o incremento das concentrações de NaCl, apresentando comportamento linear e aumento de 53% nas plantas irrigadas com concentração de 200 mmol L^{-1} em relação a planta controle, com acúmulo de $274,01 \text{ mg g}^{-1}$. (Figura 40).

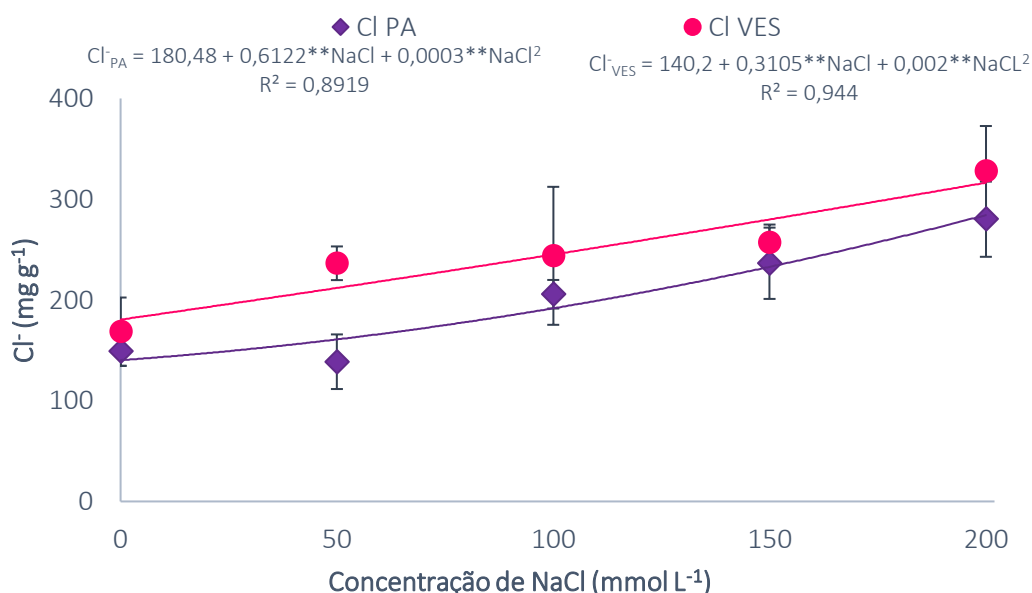


Figura 40 - Teor de Cloro (Cl^-_{PA}) Parte Aérea e (Cl^-_{VES}) Vesícula de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg kg^{-1} de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p < 0,05$).

O teor de Cl^-_{VES} , apresentou mesmo comportamento do Cl^-_{PA} , exibindo diferença significativa ($p < 0,01$) com o aumento das concentrações de NaCl na água de irrigação,

apresentando comportamento linear crescente, com aumento de 43% no teor das plantas irrigadas com concentração de 200 mmol L⁻¹ em relação a planta controle, com acúmulo de 314,74 mg g⁻¹(**Figura 40**).

Rémi Suaire et al. (2016) avaliando *Atriplex halimus* e *Atriplex hortensis* na bioacumulação de NaCl e metais residuais, cultivadas em sistema semi hidropônico, verificaram que a concentração de Na⁺ nas partes aéreas aumentou ao longo do gradiente de salinidade para ambas as plantas (de 19 para 53 mg g⁻¹ para *A. halimus* e de 20 para 60 mg g⁻¹ para *A. hortensis*), da mesma forma o Cl⁻ aumentou com o incremento da salinidade e 3 para 13 mg g⁻¹ para *A. halimus* e de 0 para 23 mg g⁻¹ para *A. hortensis*.

Houve uma correlação positiva significativa entre o teor de Na⁺ (r = 0,88) e Cl⁻ (r = 0,92) na parte aérea e vesícula, observando ainda que aproximadamente 45% do teor de Na⁺ foi excluído na vesícula enquanto o Cl⁻ apresentou maior teor nos tricomas do que na parte aérea apresentando cerca de 80% do seu conteúdo nessas estruturas (**Figura 41**).

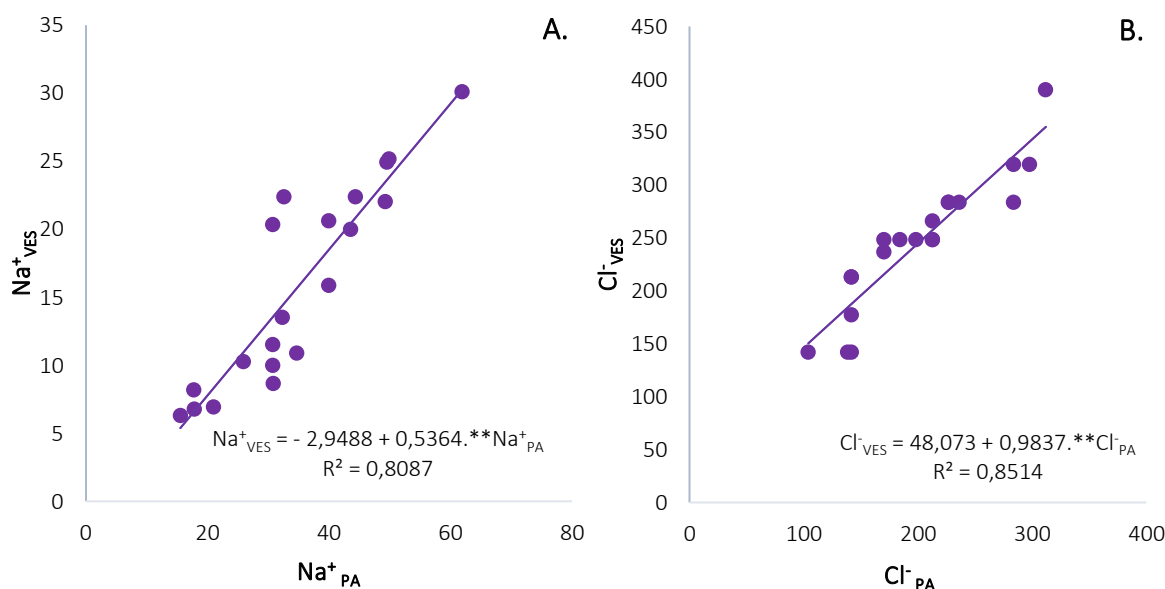


Figura 41 – Correlação entre (A) Teor de Sódio (Na⁺_{PA}) Parte Aérea e Vesícula (Na⁺_{VES}) e (B) Teor de Cloro (Cl_{PA}) Parte Aérea e (Cl_{VES}) Vesícula de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg kg⁻¹ de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl.

Os íons Na⁺ e Cl⁻ são predominantes em solos salinos, e sabe-se que o Na⁺ é um elemento extremamente tóxico para maioria das espécies de plantas. Entretanto, para algumas plantas, o íon Cl⁻ é mais tóxico que o Na⁺ e sua excreção é um mecanismo exclusivo das halófitas (Li et al. 2017).

Entretanto, os íons Cl^- pode apresentar um papel regulador na geração de turgor, estabilidade de enzimas, alteração no potencial de membrana, pH, equilíbrio de carga, controle de volume, osmorregulação e condutância estomática (Li et al. 2017).

Uma correlação negativa também é observada entre os dados obtidos do Ψ_o e os teores de Na^+ ($r = 0,88$) e Cl^- ($r = 0,79$) indicando que estes íons são os principais responsáveis pela redução do Ψ_o observadas (**Figura 42**).

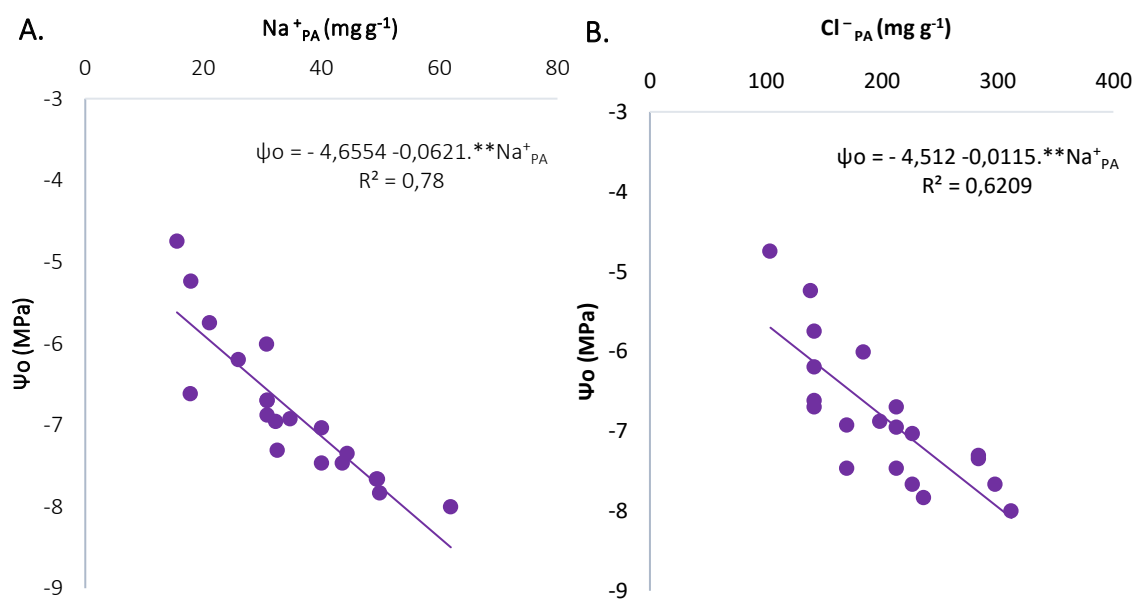


Figura 42 - Correlação entre (A) Teor de Sódio (Na^+_{PA}) Parte Aérea e Potencial Osmótico Foliar (Ψ_o) e e (B) Teor de Cloro (Cl^-_{PA}) Parte Aérea e Potencial Osmótico Foliar (Ψ_o) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg.kg $^{-1}$ de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl

Já teor de K^+_{PA} , apresentou diferença significativa ($p < 0,01$) com o aumento das concentrações de NaCl, apresentando comportamento quadrático com valor de mínimo nas plantas irrigadas com concentração de 117,63 mmol L $^{-1}$ em relação a planta controle, com acúmulo de 78,25 mg g $^{-1}$ (**Figura 43**)

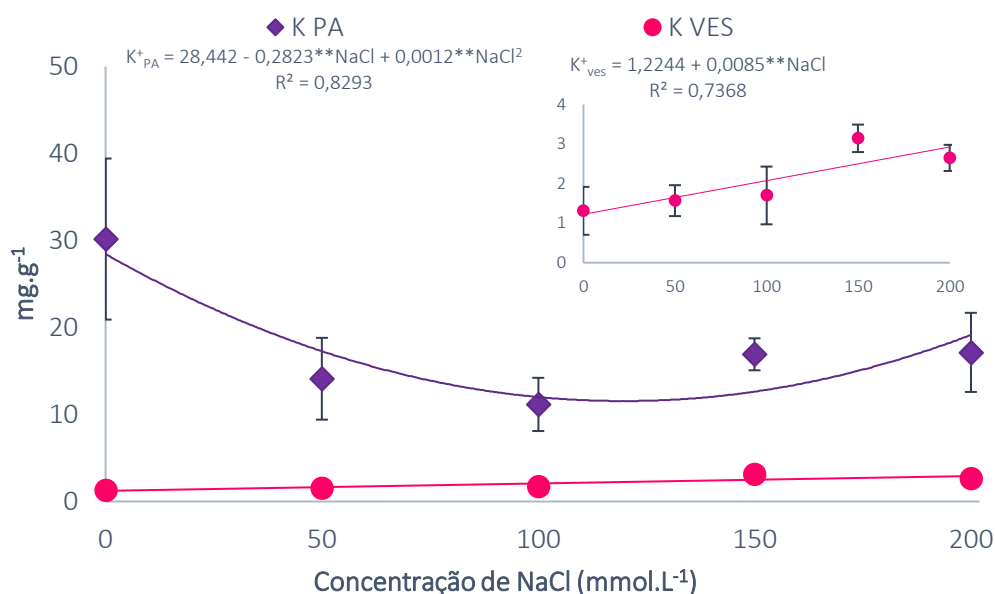


Figura 43 - Teor de Potássio (K^+_{PA}) na Parte Aérea e (K^+_{VES}) Vesícula de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg kg⁻¹ de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p < 0,05$).

Da mesma forma, o teor de K^+_{VES} , apresentou diferença significativa ($p < 0,01$) com o aumento das concentrações de NaCl na água de irrigação, apresentando comportamento linear ascendente com aumento de 58% no teor das plantas irrigadas com concentração de 200 mmol L⁻¹ em relação a planta controle, com acúmulo de 2,92 mg g⁻¹ (Figura 43).

O teor de Cd_{PA} , apresentou diferença significativa ($p < 0,01$) com o incremento das concentrações de NaCl, apresentando comportamento quadrático apresentando maior acúmulo de 86,99 mg kg⁻¹ na concentração de 147,66 mmol L⁻¹. Mesmo apresentando reduções após a dose de acúmulo máximo, até a maior concentração da água de irrigação estudada de 200 mmol L⁻¹ o acúmulo de Cd foi 38% superior as plantas controle (Figura 44).

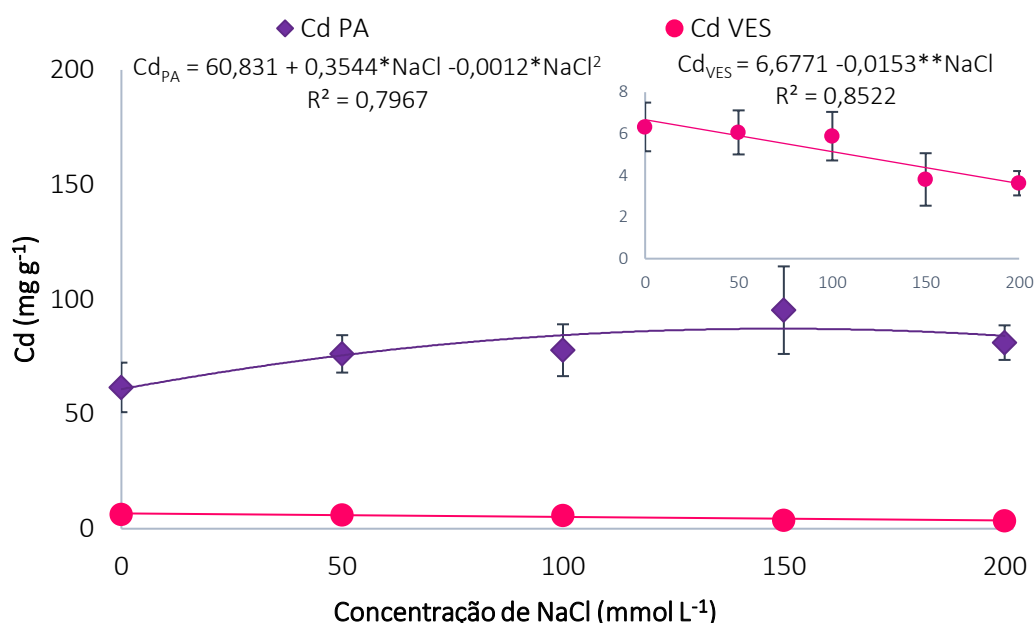


Figura 44 - Teor de Cádmio (Cd_{PA}) na Parte Aérea e (Cd_{VES}) vesícula de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg kg^{-1} de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p < 0,05$).

O Cd_{VES} , apresentou diferença significativa ($p < 0,01$) com o incremento das concentrações de NaCl as água de irrigação, exibindo comportamento linear decrescente, com redução de 46% no teor das plantas irrigadas com concentração de 200 mmol L^{-1} em relação a planta controle, com acúmulo de $3,62 \text{ mg g}^{-1}$ (**Figura 44**).

Shahrokh *et al.*, (2022) avaliando a eficácia de *A. halimus* na fitorremediação de solos contaminados por metais e afetados por sais verificaram que a maior concentração de Cd foi observada nas folhas, com $FT > 1$ em todos os casos indicando a efetiva absorção e translocação de Cd por *A. halimus*.

Salama *et al.*, (2022) avaliando a halófito *Salicornia fruticosa* em diferentes doses de Cd ($0, 25$ e $50 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) e crescentes concentrações de NaCl na solução nutritiva verificou que a adição do sal aumentou substancialmente a concentração de Cd nas partes aéreas.

Nesta pesquisa, observou-se que as concentrações de Cd a partir da dose de 100 mmol de NaCl não variou muito com o incremento das concentrações de NaCl, sugerindo que a espécie atingiu um limite em termos de acúmulo de Cd apesar da quantidade de NaCl.

Na concentração mais alta de CdCl_2 ($50 \text{ } \mu\text{M}$), os valores registrados não variaram muito daqueles do tratamento sem sal, sugerindo que todas as espécies atingiram um

limite em termos de acúmulo de Cd com base na quantidade administrada de NaCl (Lopez-Goldar et al., 2018). Em *Tamarix smyrnensis*, a excreção de Cd pelas glândulas salinas das folhas aumentou com o aumento da salinidade e a excreção máxima de Cd foi de 0,8 mg kg⁻¹ (Manousaki e Kalogerakis, 2008; Manousaki e Kalogerakis, 2011)

A excreção de sal através das glândulas salinas é considerada um mecanismo essencial que contribui para o aumento da tolerância das halófitas à salinidade (Manousaki, et al., 2008). O mecanismo de exclusão conferido a algumas halófitas são estruturas específicas de excreção de sal, denominadas glândulas salinas, que podem excretar o excesso de sal dos seus tecidos vegetais para aumentar a tolerância à salinidade (Meng et al., 2018).

Na *A. nummularia* essas estruturas localizadas na epiderme das folhas, que além da função de excreção estas estruturas contribuem para o desenvolvimento o de um gradiente de potencial hídrico favorável à absorção de água e manutenção do turgor celular (Lins et al., 2019; Paulino et al., 2020).

A seletividade é uma característica importante na excreção, pois uma exclusão aleatória ou não seletiva perturba o equilíbrio nutricional da planta (Manousaki e Kalogerakis, 2008). Nesta pesquisa pode-se verificar que, as vesículas salinas da *A. nummularia* também secretaram íons diferentes de sódio e cloreto, corroborando com estudo de Kahli et al., (2021), afirmando também que o conteúdo excretado nas vesículas depende dos componentes encontrados no ambiente radicular.

A excreção de elementos contaminantes é uma estratégia ideal para fitorremediação de solos contaminados através do bioprocessamento de absorção, translocação e excreção, facilitando o fitomanejo, com ações de lavagem e coleta das folhas, além disso, outra vantagem da fitoexcreção é evitar o maior acúmulo e toxicidade do Cd nos tecidos vegetais, podendo utilizar a espécie para remediação de solos mais contaminados (Dong et al., 2019).

O teor de Cd_R, apresentou diferença significativa (p<0,01) com o incremento das concentrações de NaCl, apresentando comportamento quadrático apresentando maior acúmulo de 66,42 mg kg⁻¹ na concentração de 84,87 mmol L⁻¹(Figura 45).

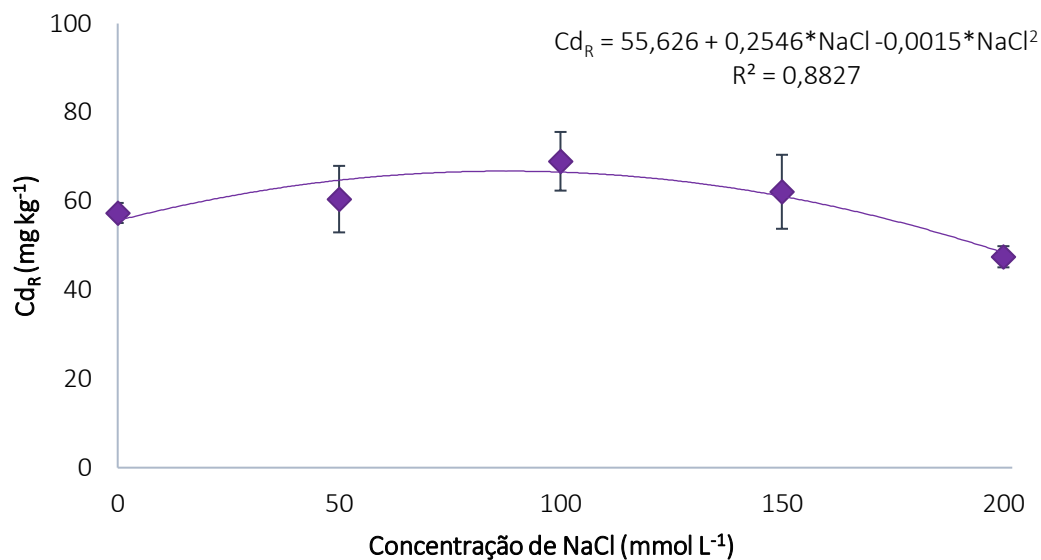


Figura 45 - Teor de Cádmio (Cd_R) na Raiz de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg kg^{-1} de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p < 0,05$).

Ishtiyag *et al.*, (2023) avaliando a *A. halimus* cultivada em solos com 25 mg kg^{-1} de Cd e crescentes concentrações de NaCl, verificaram que o acúmulo de Cd aumentou até $6,89$ e $7,41 \text{ mg kg}^{-1}$ nas raízes e $4,75$ e $6,97 \text{ mg kg}^{-1}$ na parte aérea com 1% e 3% de NaCl aos 120 dias após o transplântio, relatando que tolerância de *A. halimus* ao Cd pode ser atribuída ao seu maior sequestro nas raízes para aliviar a inibição da fotossíntese e aumento simultâneo da atividade enzimática antioxidante nas folhas.

Nesta pesquisa, entretanto, observou-se que o maior acúmulo de Cd se concentrou na parte aérea, observado também no fator de translocação que apresentou para todas as doses de NaCl valores maiores que 1, apresentando também indicativo a fitoextração (**Figura 46**).

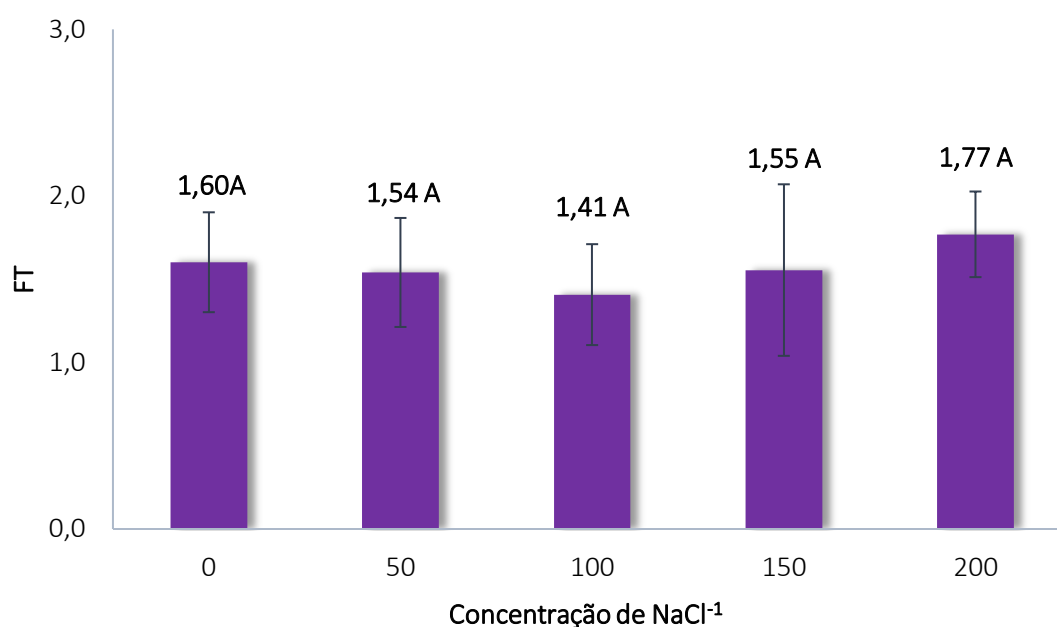


Figura 46 - Fator de Translocação (FT) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 30 mg kg⁻¹ de Cd e irrigada com concentrações crescentes de NaCl.

O aumento do teor de Cd na espécie estudada pode estar relacionada a maior disponibilização de Cd devido ao aumento de sua dessorção das partículas do solo favorecendo assim a entrada do Cd na planta (Nikalje e Suprasanna, 2018). Estudo com outra halófito, a *Solanum nigrum*, verificou-se também que a concentração de Cd na parte aérea e na raiz aumentou com a concentração de Cd no solo e foi ainda melhorada pela adição de sal (Rehman *et al.*, 2017).

4. CONCLUSÃO

A espécie *A. nummularia* Lindl. apresenta capacidade de acumular Cd na parte aérea e raiz, apresentando características de fitoestabilização na ausência de salinidade, e na presença de salinidade, de fitoextração.

A espécie apresenta alta tolerância ao Cd quando cultivada em solo sem salinidade até a dose de 50 mg kg⁻¹ de Cd. No solo salino, a dose de 30 mg kg⁻¹ de Cd, é dose limiar beneficiada pela salinidade do solo na fitoextração do metal.

A *A. nummularia* Lindl. utiliza mecanismos adaptativos ao estresse salino para tolerar doses de Cd, através da sua exclusão em tricomas vesiculares, aumento da rigidez da parede celular e promovendo um ajuste osmótico.

O incremento de NaCl ao solo contaminado com 30 mg kg⁻¹ de Cd afeta as variáveis fisiológicas da espécie, porém não afeta o desenvolvimento das raízes, mantendo sua extensão para absorção de água e elementos.

Os tricomas vesiculares presentes na *A. nummularia* Lindl., acumulam Cd auxiliando no desenvolvimento da espécie em solo contaminado e este acúmulo na presença de salinidade limitar-se até a dose de 30mg kg⁻¹.

A maior densidade de tricomas vesiculares por mm² da espécie de *A. nummularia* Lindl. foi observada em solos salino tratado com Cd, acumulando simultaneamente os íons de Na⁺, Cl⁻ e Cd, indicando que seus tricomas não possuem uma rígida seletividade iônica.

5. REFERÊNCIAS

- ALTAF, M. A. et al. Unraveling the mechanisms of cadmium toxicity in horticultural plants: Implications for plant health. **South African journal of botany**, v. 163, p. 433–442, 2023. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.10.064>>.
- AWA, S. H.; HADIBARATA, T. Removal of heavy metals in contaminated soil by phytoremediation mechanism: a review. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 231, n. 2, p. 47, 2020. DOI: <<https://doi.org/10.1007/s11270-020-4426-0>>.
- ACOSTA, J. A. et al. Phytoremediation of mine tailings with *Atriplex halimus* and organic/inorganic amendments: A five-year field case study. **Chemosphere**, v. 204, p. 71–78, 2018. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.04.027>>.
- AUDET, P.; CHAREST, C. Heavy metal phytoremediation from a meta-analytical perspective. **Environmental Pollution**, v. 147, n. 1, p. 231–237, 2007. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.08.011>>.
- BAKER, A. J. M. et al. Metal hyperaccumulator plants: A review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils. In: **Phytoremediation of contaminated soil and water**. 2020, p. 85–197.
- BÖHM, J. et al. Understanding the molecular basis of salt sequestration in epidermal bladder cells of *Chenopodium quinoa*. **Current Biology**, v. 28, n. 19, p. 3075–3085. e7, 2018. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.08.004>>.
- BANKAJI, R.M. et al. Accumulation potential of *Atriplex halimus* to zinc and lead combined with NaCl: Effects on physiological parameters and antioxidant enzymes activities. **South African Journal of Botany**, v. 123, p. 51–61, 2019. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.02.011>>.
- BARCENA, N. et al. Ion Accumulation, Water Relations and Osmotic Adjustment in *Atriplex argentina*, *A. crenatifolia*, *A. lampa*. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 6, p. 324–334, 2016. DOI: <<https://doi.org/10.17265/2161-6256/2016.05.004>>.
- BARTLETT, M. K. et al. The determinants of leaf turgor loss point and prediction of drought tolerance of species and biomes: a global meta-analysis. **Ecology letters**, v. 15, n. 5, p. 393–405, 2012. DOI: <<https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2012.01751.x>>.
- CLIFFORD, S. C. et al. The role of solute accumulation, osmotic adjustment and changes in cell wall elasticity in drought tolerance in *Ziziphus mauritiana* (Lamk.). **Journal of experimental botany**, v. 49, n. 323, p. 967–977, 1998. DOI: <<https://doi.org/10.1093/jxb/49.323.967>>.
- DAF. Department of Agriculture and Fisheries. Saltbush. Brisbane: Queensland Government, 2011.
- DOURADO, P. R. M. et al. Osmotic adjustment in cowpea plants: Interference of methods for estimating osmotic potential at full turgor. **Plant physiology and biochemistry**, v. 145, p. 114–119, 2019. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.10.020>>.
- DE SOUZA, E. R. et al. Biomass, anatomical changes and osmotic potential in *Atriplex nummularia* Lindl. cultivated in sodic saline soil under water stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 82, p. 20–27, 2012. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.03.007>>.

DE SOUZA, E. R. et al. Fitoextração de sais pela *Atriplex nummularia* Lindl. sob estresse hídrico em solo salino sódico. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 5, 2011. DOI: <<https://doi.org/10.1590/S1415-43662011000500007>>.

EISSA, M. A.; ABEED, A. H. A. Effect of compost and biochar on heavy metals phytostabilization by the halophytic plant Old Man Saltbush (*Atriplex nummularia* Lindl). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 2, p. 1353-1365, 2019. DOI: <<https://doi.org/10.1007/s11356-018-3627-1>>.

EMMS, J. Old man saltbush. Fact Sheet Index, Pastures Australia, 2008.

DE CASTRO, Luis Antônio Suita. Processamento de amostras para microscopia eletrônica de varredura. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, v. 1, p.17, 2002.

EMBRAPA. Sistema brasileiro de classificação de Solos. 3rd ed. Embrapa Solos, Rio de Janeiro, 2018.

FLOWERS, T. J.; COLMER, T. D. Salinity tolerance in halophytes. **New Phytologist**, v. 179, n. 4, p. 945-963, 2008. DOI: <<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02531.x>>.

FLOWERS, T. J.; COLMER, T. D. Plant salt tolerance: adaptations in halophytes. **Annals of Botany**, v. 115, n. 3, p. 327–331, 2015. DOI: <<https://doi.org/10.1093/aob/mcu267>>.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. Circular. **California Agricultural Experiment Station**, v. 347, n. 2, 1950. 32 p.

HUSSIN, S.; GEISLER, N.; KOYRO, H. W. Effect of NaCl salinity on *Atriplex nummularia* (L.) with special emphasis on carbon and nitrogen metabolism. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 35, p. 1025–1038, 2013. DOI: <<https://doi.org/10.1007/s11738-012-1141-5>>.

IAVICOLI, I.; LESO, V. R. In: NORDBERG, G. F.; COSTA, M. (Eds.). **Handbook on the Toxicology of Metals**. 5th ed. Volume II: Specific Metals. Academic Press, 2022. p. 691-728. DOI: <<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822946-0.00025-8>>.

ISHTIYAQ, S. et al. Physiological Responses and Adaptations of the Halophyte *Atriplex halimus* to Soil Contaminated with Cd, Ni, and NaCl. **Soil Systems**, v. 7, n. 2, p. 46–46, 2023. DOI: <<https://doi.org/10.3390/soilsystems7020046>>.

IUSS WORKING GROUP WRB. World reference base for soil resources. World Soil Resources Reports 106. FAO, Rome, 2015.

HAN, R. M. et al. NaCl differently interferes with Cd and Zn toxicities in the wetland halophyte species *Kosteletzkya virginica* (L.) Presl. **Plant Growth Regulation**, v. 68, n. 1, p. 97–109, 2012. DOI: <<https://doi.org/10.1007/s10725-012-9697-z>>.

HASSINE, A. B.; LUTTS, S. Differential responses of saltbush *Atriplex halimus* L. exposed to salinity and water stress in relation to senescing hormones abscisic acid and ethylene. **Journal of Plant Physiology**, v. 167, n. 17, p. 1448-1456, 2010. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.05.017>>.

KAHLI, H. et al. Characterization of cadmium accumulation and phytoextraction in three species of the genus *Atriplex* (*canescens*, *halimus* and *nummularia*) in the presence or absence of salt. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 166, p. 902-911, 2021. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.06.027>>.

LORETO, F.; VELIKOVA, V. Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes. **Plant Physiology**, v. 127, n. 4, p. 1781-1787, Dec. 2001. DOI: <<https://doi.org/10.1104/pp.010497>>.

LEFÈVRE, I. et al. Chloride salinity reduces cadmium accumulation by the Mediterranean halophyte species *Atriplex halimus* L. **Environmental and Experimental Botany**, v. 65, n. 1, p. 142–152, 2009. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2008.07.005>>.

LI, B.; TESTER, M.; GILLIHAM, M. Chloride on the Move. **Trends in Plant Science**, v. 22, n. 3, p. 236–248, 2017. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.12.004>>.

LINS, C. M. T. et al. Pressure-volume (P-V) curves in *Atriplex nummularia* Lindl. for evaluation of osmotic adjustment and water status under saline conditions. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 124, p. 155-159, 2018. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.01.014>>.

LUTTS, S.; LEFÈVRE, I. How can we take advantage of halophyte properties to cope with heavy metal toxicity in salt-affected areas? **Annals of Botany**, v. 115, n. 3, p. 509-528, 2015. DOI: <<https://doi.org/10.1093/aob/mcu264>>

MANOUSAKI, E.; KALOGERAKIS, N. Halophytes—An Emerging Trend in Phytoremediation. **International Journal of Phytoremediation**, v. 13, n. 10, p. 959-969, 2011. DOI: <<https://doi.org/10.1080/15226514.2010.532241>>.

MANOUSAKI, E. et al. Phytoextraction and phytoexcretion of Cd by the leaves of *Tamarix smyrnensis* growing on contaminated non-saline and saline soils. **Environmental Research**, v. 106, n. 3, p. 326–332, 2008. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.envres.2007.04.004>>.

MELO, H. F. et al. Water potential in soil and *Atriplex nummularia* (phytoremediator halophyte) under drought and salt stresses. **International Journal of Phytoremediation**, v. 20, n. 3, p. 249-255, 2018. DOI: <<https://doi.org/10.1080/15226514.2017.1374334>>.

MESNOUA, M. et al. Physiological and biochemical mechanisms preventing Cd-toxicity in the hyperaccumulator *Atriplex halimus* L. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 106, p. 30–38, 2016. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.04.041>>.

MOURA, E. S. R. et al. Phytoextraction of salts by *Atriplex Nummularia* Lindl. irrigated with reject brine under varying water availability. **International Journal of Phytoremediation**, v. 21, n. 9, p. 892-898, 2019. DOI: <<https://doi.org/10.1080/15226514.2019.1583633>>.

MENG, D. et al. Efeitos do potencial redox na solubilidade do cádmio no solo: uma visão da comunidade microbiana. **Revista de Ciências Ambientais**, v. 75, p. 224-232, 2019. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.jes.2018.03.032>>.

MARIEM, W. et al. How does NaCl improve tolerance to cadmium in the halophyte *Sesuvium portulacastrum*? **Chemosphere**, 2014, v. 117, p. 243-250. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.07.041>>.

NEDJIMI BOUZID. Heavy Metal Tolerance in Two Algerian Saltbushes: A Review on Plant Responses to Cadmium and Role of Calcium in Its Mitigation. **Springer eBooks**, p. 205–220, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-981-10-9044-8_9>.

NIKALJE, G. C.; SUPRASANNA, P. Coping with metal toxicity—cues from halophytes. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 777, 2018. DOI: <<https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00777>>.

NEDJIMI, B.; DAOUD, Y. Cadmium accumulation in *Atriplex halimus* subsp. *schweinfurthii* and its influence on growth, proline, root hydraulic conductivity and nutrient uptake. **Flora**, v. 204, n. 4, p. 316–324, 2009. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.flora.2008.03.004>>.

NEDJIMI, B. et al. Cd-Phytoextraction Potential of *Atriplex nummularia* Lindl. **Biology Bulletin**, v. 49, n. 5, p. 466-475, 2022. DOI: <<https://doi.org/10.1134/S1062359022050156>>.

NGUYEN, H. T. et al. Leaf water storage increases with salinity and aridity in the mangrove *Avicennia marina*: integration of leaf structure, osmotic adjustment and access to multiple water sources. **Plant, Cell & Environment**, v. 40, n. 8, p. 1576–1591, 2017. DOI: <<https://doi.org/10.1111/pce.12962>>.

NIU, L. et al. Cadmium tolerance and hyperaccumulation in plants – A proteomic perspective of phytoremediation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 256, p. 114882–114882, 2023. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.114882>>.

OLADOYE, P. O.; OLOWE, O. M.; ASEMOLOYE, M. D. Phytoremediation technology and food security impacts of heavy metal contaminated soils: A review of literature. **Chemosphere**, v. 288, p. 132555, 2022. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132555>>.

PAULINO, M. K. S. S. et al. Influence of vesicular trichomes of *Atriplex nummularia* on photosynthesis, osmotic adjustment, cell wall elasticity and enzymatic activity. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 155, p. 177-186, 2020. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.07.036>>.

PARVEZ, S. et al. Effect of salinity on physiological, biochemical and photostabilizing attributes of two genotypes of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) exposed to arsenic stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 187, p. 109814, 2020. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109814>>.

PRIYA, A. K. et al. Clean-Up of Heavy Metals from Contaminated Soil by Phytoremediation: A Multidisciplinary and Eco-Friendly Approach. **Tóxicos**, v. 11, n. 5, p. 422, 2023. DOI: <<https://doi.org/10.3390/toxics11050422>>.

PATEL, M. K. et al. Comparative metabolomics unveils the role of metabolites and metabolic pathways in the adaptive mechanisms of shrubby halophytes. **Environmental and Experimental Botany**, v. 202, p. 105030, 2022. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2022.105030>>.

RANGANI, J. et al. Coordinated Changes in Antioxidative Enzymes Protect the Photosynthetic Machinery from Salinity Induced Oxidative Damage and Confer Salt Tolerance in an Extreme Halophyte *Salvadora persica* L. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 2016. DOI: <<https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00050>>.

REHMAN, M. Z. u. et al. Remediation of heavy metal contaminated soils by using *Solanum nigrum*: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 143, p. 236-248, 2017. <<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.05.038>>.

SUAIRE, R. et al. Phytoextraction of Na⁺ and Cl⁻ by *Atriplex halimus* L. and *Atriplex hortensis* L.: A promising solution for remediation of road runoff contaminated with deicing salts. **Ecological Engineering**, v. 94, p. 182–189, 2016. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.05.055>>.

RUCIŃSKA-SOBKOWIAK, R. Water relations in plants subjected to heavy metal stresses. **Acta Physiologiae Plantarum/Acta Physiologiae Plantarum**, v. 38, n. 11, 2016. DOI: <<https://doi.org/10.1007/s11738-016-2277-5>>.

SHAHROKH, V. et al. Soil sodium, magnesium and potassium contents contribute to metals uptake and accumulation in leaves of *Atriplex halimus* in tailings ponds. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 10, n. 3, p. 107948–107948, 2022. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.107948>>.

SALAMA, F. et al. Cd Phytoextraction Potential in Halophyte *Salicornia fruticosa*: Salinity Impact. **Plants**, v. 11, n. 19, p. 2556–2556, 2022. DOI: <<https://doi.org/10.3390/plants11192556>>.

SCHOLANDER, P. F. et al. Sap Pressure in Vascular Plants. **Science**, v. 148, n. 3668, p. 339–346, 1965. DOI: <<https://doi.org/10.1126/science.148.3668.339>>.

SCHINDELIN, J. et al. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. **Nature Methods**, v. 9, n. 7, p. 676–682, 2012. DOI: <<https://doi.org/10.1038/nmeth.2019>>.

SOUZA, M. S. D. et al. Comparação de métodos de mensuração de área foliar para a cultura da melancia. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, p. 241–245, 2012. DOI: <<https://doi.org/10.1590/S1983-40632012000200016>>.

SANTOS, M. A. et al. Reclamation of Saline Soil under Association between *Atriplex nummularia* L. and Glycophytes Plants. **Agriculture**, v. 12, n. 8, p. 1124–1124, 2022. DOI: <<https://doi.org/10.3390/agriculture12081124>>.

SUBAŠIĆ, M. et al. Phytoremediation of Cadmium Polluted Soils: Current Status and Approaches for Enhancing. **Soil Systems**, v. 6, n. 1, p. 3–3, 2022. DOI: <<https://doi.org/10.3390/soilsystems6010003>>.

SAITO, T. et al. The Bulk Elastic Modulus and the Reversible Properties of Cell Walls in Developing Quercus Leaves. **Plant & Cell Physiology/Plant and Cell Physiology**, v. 47, n. 6, p. 715–725, 2006. DOI: <<https://doi.org/10.1093/pcp/pci042>>.

TEIXEIRA, Paulo César, et al. Manual de métodos de análise de solo. 2017.

TSUTSUMI, K. et al. Differential accumulation of glycinebetaine and choline monooxygenase in bladder hairs and lamina leaves of *Atriplex gmelini* under high salinity. **Journal of Plant Physiology**, v. 176, p. 101–107, 2015. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.12.009>>.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. Method 3050B: Acid Digestion of Sludges, Sediments, and Soils, Revision 2. Washington DC, 1996.

YAN, J. et al. Effect and mechanism of nano-materials on plant resistance to cadmium toxicity: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 266, p. 115576–115576, 2023. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115576>>.

ZHANG, S. et al. Salinity influences Cd accumulation and distribution characteristics in two contrasting halophytes, *Suaeda glauca* and *Limonium aureum*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 191, p. 110230, 2020. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110230>>.

ZHANG, S. et al. Strategy matters: Phytoremediation potential of native halophytes is jointly associated with their distinct salt tolerances. **Journal of Cleaner Production**, v. 425, p. 139060, 2023. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.139060>>.

ZULFIQAR, U. et al. Cadmium phytotoxicity, tolerance, and advanced remediation approaches in agricultural soils; a comprehensive review. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 773815, 2022. DOI: <<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.773815>>.

CAPÍTULO III

FITORREMEDIAÇÃO DE CHUMBO POR *Atriplex nummularia* EM AMBIENTE SALINO

PAULINO, MARTHA KATHARINNE SILVA SOUZA. MSc. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Junho de 2024. **Desempenho de *Atriplex nummularia* na fitoextração de metais pesados em ambiente salino.**

Orientador: Prof. Dr. Edivan Rodrigues de Souza

Co-orientadores: Dr^a. Cintia Maria Teixeira Lins

Prof. Dr. Clístenes Williams Araújo do Nascimento

RESUMO

A fitorremediação é um método promissor para recuperação de solos contaminados com metais pesados e salinidade, e plantas halófitas tem se destacado nas pesquisas como possíveis candidatas a recuperação destes solos. A *Atriplex nummularia* é uma halófito altamente adaptada a sobreviver em ambientes de alta salinidade, destacando-se nos programas de fitoextração de sais. Neste contexto, esta pesquisa objetivou avaliar o potencial fitorremediador da *A. nummularia* em solos contaminados por Pb na presença de salinidade, observando ainda o comportamento da espécie sob adição do sal de NaCl na tolerância e possível acúmulo deste metal. Para isto, foram realizados dois experimentos, em que no primeiro experimento (EXP I) avaliou-se a performance da *A. nummularia* Lindl. quanto à tolerância e acumulação de Pb, em seis concentrações distintas de 0, 100, 150, 200, 250 e 300 mg.kg⁻¹, em um Luvisolo de caráter Salino (LS) e Luvisolo de caráter Não Salino (LNS), em delineamento em blocos casualizados e esquema fatorial 6 x 2 com quatro repetições. O segundo experimento (EXP II) foi desenvolvido a partir dos resultados obtidos no EXP I, no qual, foi selecionada a maior dose do metal que, no LS apresentou maior Biomassa Seca da Parte Aérea (BMS_{PA}) em relação ao LN e, esta dose foi avaliada em LS acrescentado níveis de salinidade através da adição de NaCl via água de irrigação em cinco concentrações distintas (0, 50, 150, 200 e 250 mmol), para avaliar a influência das concentrações salinas na absorção e tolerância da espécie aos metais pesados, sendo avaliado em blocos casualizados com quatro repetições. Para avaliação das plantas, em ambos os experimentos, foram adotadas diversos parâmetros fisiológicos relacionados a relações hídricas (potencial hídrico, osmótico, pressão, teor relativo de água, ajustamento osmótico), avaliação fotossintética (fotossíntese líquida, condutância estomática, transpiração e eficiência do uso da água, fluorescência da clorofila), anatômicas (densidade de tricomas) e teor de Cd e solutos inorgânicos nos tecidos foliares e nas vesículas (Na⁺, K⁺, Cl⁻) foram adotadas para verificar o desempenho da espécie (tolerância e fitorremediação). A *A. nummularia* Lindl. conseguiu sobreviver até o final dos experimentos e acumulou Pb na parte aérea e raiz, apresentando acúmulo máximo na dose de 300mg kg⁻¹ de Pb, tanto nas plantas do LNS quanto do LS chegando a acumular 47,80 e 25,54 mg kg⁻¹, respectivamente na parte aérea, e 12,02 e 4,79 mg.kg⁻¹, respectivamente, na raiz. A espécie ainda apresentou potencial para programas de fitoextração. Os tricomas vesiculares não foram capazes de excluir o Pb. As doses crescentes de NaCl combinadas com Pb estimularam a densidade de tricomas vesiculares, porém reduziram a biomassa, juntamente com as trocas gasosas podendo este resultado ser atribuído a potencial toxidez causada pelo Pb. Por fim, a avaliação das relações hídricas, parece demonstrar uma maior contribuição de outros solutos na tolerância da espécie ao Pb do que a presença dos íons inorgânicos.

Palavras chaves: halófito; erva sal; metal pesado.

PAULINO, MARTHA KATHARINNE SILVA SOUZA. MSc. Rural Federal University of Pernambuco. 2024 June. **Performance of *Atriplex nummularia* in the phytoextraction of heavy metals in saline environment.**

Advisor: Prof. Dr. Edivan Rodrigues de Souza

Co-advisors: Dr^a. Cintia Maria Teixeira Lins

Prof. Dr. Clístenes Williams Araújo do Nascimento

ABSTRACT

Phytoremediation is a promising method for recovering soils contaminated with heavy metals and salinity, and halophyte plants have stood out in research as possible candidates for recovering these soils. *Atriplex nummularia* is a halophyte highly adapted to survive in high salinity environments, standing out in salt phytoextraction programs. In this context, this research aimed to evaluate the phytoremediation potential of *A. nummularia* in soils contaminated by Pb in the presence of salinity, also observing the behavior of the species under the addition of NaCl salt in resistance and possible accumulation of this metal. For this, two experiments were carried out, the first experiment (EXP I) evaluating the performance of *A. nummularia* in terms of Pb tolerance and accumulation, in six different concentrations of 0, 100, 150, 200, 250 and 300 mg kg⁻¹, in a Saline Luvisolo (SL) and a Non-Saline Luvisolo (NSL), in a randomized block design and a 6 x 2 factorial scheme with four replications. The second experiment (EXP II) was developed based on the results obtained in EXP I, in which the highest dose of metal was selected, which in LS presented the highest Dry Biomass of the Aerial Part (BMS_{PA}) in relation to LN and, this dose was evaluated in LS with added salinity levels through the addition of NaCl via irrigation water in five different concentrations (0, 50, 150, 200 and 250 mmol), to evaluate the influence of saline concentrations on the species' absorption and resistance to heavy metals. , being evaluated in randomized blocks with four replications. To evaluate the plants, in both experiments, several physiological parameters related to water relations (water potential, osmotic, pressure, relative water content, osmotic adjustment), anatomical (trichome density) and content of Cd and inorganic solutes were adopted. in leaf tissues and vesicles (Na⁺, K⁺, Cl⁻) were adopted to verify the performance of the species (resistance and phytoremediation). *A. nummularia* managed to survive until the end of the experiments and accumulated Pb in its plant tissues, showing maximum accumulation at a dose of 300mg kg⁻¹ of Pb applied to the cultivation environment, both in plants from LNS and LS, reaching 47.80 and 25.54 mg kg⁻¹, respectively in the aerial part, and 12.02 and 4.79 mg kg⁻¹, respectively, in the root. The species also showed potential for phytoextraction programs. Vesicular trichomes were not able to exclude Pb from their structures in any combination of treatments studied. The increasing doses of NaCl combined with Pb stimulated the density of vesicular trichomes, but reduced biomass, together with gas exchange, which could be attributed to potential toxicity caused by Pb. Finally, the assessment of water relations seems to demonstrate a greater contribution of compatible solutes to the species' resistance to Pb than the presence of inorganic ions.

Keywords: halophyte; salt herb; heavy metal.

1. INTRODUÇÃO

O acúmulo de metais pesados no solo e na água é um dos principais problemas causados por contaminantes inorgânicos, e sua presença em solos agrícolas tem impacto significativo na segurança alimentar e saúde humana (Oladoye *et al.*, 2022).

A fitorremediação tem sido considerada uma técnica promissora para solos poluídos por metais devido sua abordagem ecologicamente correta e econômica, além de poder ser utilizada sozinha ou de forma combinada com outras técnicas de remediação (Zhang *et al.*, 2023).

Dentre os metais pesados, o chumbo (Pb) é um elemento tóxico que se acumula nos solos e sedimentos. Mesmo não sendo essencial para as plantas, o Pb pode ser facilmente absorvido e acumulado em diferentes partes delas, e seu acúmulo acarreta vários sintomas de toxicidade, como da redução de crescimento, clorose, escurecimento do sistema radicular, além da inibição a fotossíntese, desbalanço hídrico e nutricional, entre outros (Sharma *et al.*, 2005; Kushwaha *et al.*, 2018).

Plantas halófitas, devido a sua tolerância a salinidade e seus mecanismos adaptativos utilizados para lidar com esse estresse, são ótimas candidatas a fitorremediação de metais pesados (Kachout *et al.*, 2023). Muitas destas plantas possuem a capacidade de absorver íons tóxicos da raiz e os transportar para as partes aéreas usando diferentes transportadores, que estão envolvidos na homeostase e na tolerância aos metais (Ganesh e Penna, 2018).

A espécie *A. nummularia* Lindl. é uma halófita, capaz de acumular íons tóxicos de Na^+ e Cl^- nos tecidos vegetais e se destaca por apresentar tolerância e capacidade de se desenvolver em condições adversas (De Souza *et al.*, 2011; Melo *et al.*, 2018). Isso ocorre devido ao seu eficiente mecanismo de ajuste osmótico, exclusão de elementos tóxicos, desintoxicação de EROs, entre outros (De Souza *et al.*, 2011; Lins *et al.*, 2018; Paulino *et al.*, 2020).

Neste contexto, os mecanismos adaptativos conferidos a *A. nummularia* Lindl. a tornam uma possível candidata a fitorremediação de metais pesados. Estudos recentes, observaram a capacidade da espécie em acumular Pb nos seus tecidos vegetais, principalmente da raiz (Merzougui *et al.*, 2022; Laghlimi *et al.*, 2022). Guda *et al.* (2018) também relatam que a *A. nummularia* Lindl. pode ser considerada um bioindicador da poluição por Pb, Cd, Co, Cr e Ag e um “filtro verde” adequado para reduzir a poluição dos solos.

Neste sentido, a pesquisa teve como objetivo avaliar o potencial de fitorremediação de Pb na presença de salinidade da espécie de *A. nummularia* Lindl. Lindl. verificando ainda a influência do NaCl na tolerância e acúmulo do metal através da avaliação de seus efeitos nas características de crescimento, anatômicas e fisiológicas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados nas estufas do Centro de Pesquisa Vegetal (CEPEVE) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), localizado no campus Sede em Recife-PE (8°04'03''; 34°55'00'').

A estrutura da estufa consistia em uma cobertura com filme plástico de difusão e laterais protegidas por tela anti-afídeo. Suas dimensões internas eram de 11 x 6m², totalizando 66 m². O piso e as bancadas internas eram de concreto, com um espaçamento de 1,5 metro entre eles.

2.2. Caracterização dos solos e layout das unidades experimentais

Foram coletadas amostras do horizonte B de solos no Perímetro Irrigado Manga de Baixo, localizado no município de Belém do São Francisco – PE. Os solos possuíam mesma ordem e classe textural, classificados como Luvisolos - SiBCS (Embrapa, 2018) e *Luvisols - WRB* (IUSS Working Group WRB, 2015) argilo siltoso e apresentavam caráter não salino (LNS) (CEes = 1,89dS/m) e salino (LS) (CEes = 14,23dS/m) conforme classificação de Richards (1969).

Os Luvisolos são comumente encontrados em áreas de clima seco e temperaturas variáveis. Esses solos ocupam grandes extensões nos estados do Ceará, Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte. As áreas onde predominam totalizam 98.938 km², representando 13,3% da região semiárida (Jacomine, 1996). Esses solos possuem um elevado potencial nutricional, e são amplamente utilizados na pecuária extensiva, no cultivo de palma forrageira e na agricultura de sequeiro (Leite, 2022).

Posteriormente os solos foram destorroados, peneirados (Ø 4 mm), homogeneizados e acondicionados em vasos. Para caracterização física e química (**Tabela 5** e **Tabela 6**) foram utilizadas subamostras passadas em peneira de malha de 2 mm.

Tabela 5- Caracterização química dos solos utilizados no experimento (I e II)

LUVISSOLO	CE	pH	Na	K	Ca	Mg	S	H+Al	CTC	V	PST	P
	dS.m ⁻¹	(H ₂ O)								%		
NÃO SALINO												
Média	1,89	7,19	0,28	0,4	6,5	1,9	9,1	0,49	9,6	95	3%	5,0
Desvio Padrão	±0,12	±0,04	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01
SALINO												
Média	14,23	6,21	1,11	0,13	15,90	4,3	21,4	1,07	22,6	95	5%	2,0
Desvio Padrão	±0,61	±0,04	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01	±0,01

CE: Condutividade elétrica; pH: potencial hidrogeniônico; CTC: Capacidade de troca de cátions; V= saturação por base;

As caracterizações físicas dos solos (Tabela 6), foram realizadas por meio de análises de granulometria, separando as frações em areia fina, areia grossa, silte e argila; argila dispersa em água pelo método do densímetro; densidade do solo pelo método da proveta e densidade de partículas pelo método do balão volumétrico (EMBRAPA, 2017).

Tabela 6 - Caracterização física dos solos utilizados no experimento (I e II)

LUVISSOLO	Ds	Dp	Pt	AT	AF	AG	Argila	Silte	Classe textural	ADA	GF
	g.cm ⁻³		%		g.kg ⁻¹						%
NÃO SALINO (LNS)											
Média	1,53	2,70	43,48	70,9	54,7	16,2	506,7	422,4	Argilo siltosa	124,93	70,42
Desvio Padrão	±0,01	±0,03	±0,01	±0,60	±0,70	±0,50	±1,20	±0,01		±0,01	±0,01
SALINO (LS)											
Média	1,68	2,74	38,94	63,0	48,9	14,1	462,9	474,1	Argilo siltosa	175,29	63,03
Desvio Padrão	±0,01	±0,03	±0,01	±0,80	±1,00	±0,50	±0,80	±0,01		±0,01	±0,01

Ds: Densidade do solo, pelo método da proveta; Dp: Densidade de partícula, pelo método do balão volumétrico; PT: Porosidade total; AT: Areia total; AG: Areia grossa; AF: areia fina; ADA: Argila dispersa em água; GF: Grau de floculação.

As unidades experimentais não possuíam drenagem, e eram compostos por vasos de polietileno, com 15cm de altura e capacidade de 5L, dispostos em fileiras com espaçamento de 30cm, preenchidos com os solos coletados.

2.3. Delineamento experimental e tratamentos

Dois experimentos foram conduzidos em delineamento em blocos casualizados. O experimento I (EXP I) consistiu em um teste de tolerância da *A. nummularia* Lindl. ao Pb contendo em seis concentrações distintas (0, 100, 150, 200, 250 e 300 mg kg⁻¹) em solos de mesma ordem e classe textural, porém um de caráter salino e outro não salino. As doses foram escolhidas com base nos valores limites de investigação do metal no solo segundo a Resolução CONAMA 420/2009 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (Conama, 2009) e em estudos com diferentes espécies de *Atriplex* (Manousaki; Kalogerakis, 2009; Zaier *et al*;2010; Bankaji *et al.*,2019).

Para o experimento II (EXP II), foi selecionado uma dose de Pb utilizando como indicador de tolerância a variável de biomassa seca da parte aérea. A dose selecionada foi a maior dose que no solo de caráter salino apresentou BMS_{PA} semelhante (não significativo) ao solo de caráter não salino. As plantas foram cultivadas no LS irrigado com quatro concentrações distintas de NaCl (50, 100, 150 e 200 mmol L⁻¹) com o objetivo de verificar a influência do incremento das concentrações salinas na absorção e tolerância da *A. nummularia* Lindl. aos metais pesados, conforme esquema abaixo (**Figura 47**).



Figura 47 - Ilustração esquemática: A. Experimento I e B. Experimento II

2.4. Cultivo da *Atriplex nummularia*

Mudas de *A. nummularia* Lindl. de ambos experimentos, foram propagadas por estaquia, utilizando uma única planta como matriz, cedidas pelo Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA), para minimizar a variabilidade genética.

O cultivo foi realizado inicialmente em sacos de polietileno contendo areia lavada como substrato e irrigadas diariamente com solução nutritiva de Hoagland, Arnon (1950) a ½ de força iônica. Após 60 dias após plantio, estando completamente enraizadas e aclimatadas, as mudas foram tiradas da areia lavada e transplantadas para os vasos de polietileno já caracterizados, onde permaneceram até o final do experimento.

2.5. Incubação das doses de chumbo

O solo foi contaminado artificialmente com a adição de soluções de Nitrato de Chumbo ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$), de forma a obter seis concentrações distintas: 0, 100, 150, 200, 250 e 300 mg kg⁻¹ de Pb no solo. Após a adição das soluções, a umidade do solo das unidades experimentais foi ajustada para 80% da capacidade máxima de retenção, a qual foi mantida através da reposição diária de água perdida por evapotranspiração. Esse manejo foi mantido por 30 dias com o objetivo de obter o equilíbrio químico.

2.5. Manejo da água

A irrigação foi baseada na água perdida por evapotranspiração, de modo a manter o solo a 80% da capacidade máxima de retenção, sendo a reposição realizada diariamente no final da tarde utilizando uma balança digital. Para o EXP I, a irrigação foi realizada diariamente com água de abastecimento local, com condutividade elétrica (CE) caracterizada, apresentando média de $\approx 0,07 \text{ dS.m}^{-1}$.

Para o EXP II, a irrigação inicialmente se deu através da aplicação de NaCl via água de irrigação de forma gradual e proporcional até atingir as concentrações de 0, 50, 100 150 e 200 mmol.L⁻¹.

2.6. Avaliações biométricas (Determinação da biomassa fresca e Seca da parte aérea, raiz e área foliar)

Após 30 dias da aplicação dos tratamentos em ambos os experimentos, as plantas foram cortadas próximo à superfície do solo. Em seguida, a parte aérea (caule e folhas) foi acondicionada em caixas de isopor com gelo e levada ao laboratório, no qual, determinou-se a massa fresca (MF) da parte aérea.

As raízes foram coletadas, retirando o excesso de solo e lavando-as em torneira com água corrente até a completa remoção do solo. Para evitar perdas de material, a lavagem foi feita com o auxílio de uma peneira de 2 mm. Após a lavagem, as raízes foram envolvidas em papel toalha para retirar o excesso de água e, em seguida, quantificou-se o peso fresco das raízes.

Para obtenção da massa seca (MS), parte aérea (folha + caule) e raízes foram acondicionadas em embalagem de papel e colocadas em estufa de circulação forçada com temperatura de 65 °C até adquirem peso constante.

A área foliar (AF) foi estimada com base no método dos discos foliares e consistiu na coleta de discos foliares de área conhecida (Área do disco $\approx 0,2 \text{ cm}^2$). Os discos foram acondicionados em embalagens de papel, levados para secagem em estufa (65° C por 72 horas) e pesados posteriormente obtendo-se a massa seca. A área foliar foi estimada pela equação 7 (Souza *et al.*, 2012).

$$AF = \frac{(MSF+MSD)*ADF}{MSD} \quad \text{Equação 7}$$

Em que:

AF = área foliar estimada (cm²);

MSF = massa seca das folhas (g);

MSD = massa seca dos discos (g);

ADF = área do disco foliar retirado da folha, neste caso 1,0 cm²;

2.7. Concentração de metais e solutos inorgânicos na planta

A determinação das concentrações de metais e solutos inorgânicos foram realizadas na parte aérea (folha + caule) e tricomas das folhas das plantas aos 30 dias após a imposição dos tratamentos de ambos os experimentos.

2.7.1. Remoção dos tricomas e medição das concentrações de Na⁺, K⁺ e Pb

Para a remoção dos tricomas, aproximadamente 1g de peso fresco das folhas foram coletados e submetidos a escovação usando uma escova de náilon, extraindo as estruturas das superfícies adaxial e abaxial das folhas em 20 mL de água deionizada, conforme descrito por Tsutsumi *et al.* (2015), obtendo uma solução com o conteúdo dos tricomas. As folhas escovadas foram secas em estufa a 80 °C por 72 h, e o peso seco (PS) foi determinado.

Para determinar a exclusão de cátions nestas estruturas, ao final de cada experimento, a solução obtida na extração dos tricomas foi levada a banho-maria a 90° C por 1h para extração dos elementos Na⁺ e K⁺ sendo determinados usando um fotômetro de chamas (Modelo: DM-64-5E, Digimed).

A mesma solução extraída foi utilizada para determinação de Pb nos tricomas foliares através da leitura por espectrometria de emissão ótica com plasma (ICP-OES/Optima 7000 Perkin Elmer).

2.7.2. Concentração de metais nos tecidos do foliares

Ao final de cada experimento, amostras da parte (folha + caule) e raiz das plantas foram coletadas e armazenadas em sacos de papel previamente identificados e colocadas para secar em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C até atingir peso constante, depois as amostras foram moídas utilizando em moinho de bolas (Modelo: R-TE-350, Tecnal).

Posteriormente, subamostras de 0,5 g do material vegetal foram digeridas com HNO₃ + H₂O₂ (3:1) num forno de micro-ondas (Milestone-Ethos Easy) a 180 °C por 10 minutos, de acordo com a metodologia 3050B modificada (USEPA, 1996).

Os extratos obtidos na digestão, foram filtrados ($\varnothing < 2,0 \mu\text{m}$) e seu volume completado até 25 mL em balões volumétricos com água ultrapura. As amostras foram armazenadas e armazenados a 4 °C para posterior análise por espectrometria de emissão ótica com plasma (ICP-OES/Optima 7000 Perkin Elmer).

2.8.4. Microscopia de varredura eletrônica da superfície da folha e concentração de metais nos tricomas

Ao final de ambos os experimentos, foi realizada uma caracterização da superfície foliar das plantas cultivadas através do Microscópio Eletrônico de Varredura.

A avaliação foi realizada conforme De castro, (2002), com modificações, no qual segmentos das folhas de *A. nummularia* Lindl. passaram por processo de fixação de suas estruturas com auxílio de solução tampão Karnovsky (Karnovsky 1965) até o processamento das amostras para análise. As amostras foram lavadas triplamente 24h antes da avaliação com tampão Cacodilato (Sodium cacodylate trihydrate), desidratado em série etílica crescente e levado à secagem em dissecador contendo sílica.

Posteriormente, para avaliação as amostras foram colocadas em *Stubs* com auxílio de fita de carbono (**Figura 5 A**) e coberta com uma fina lâmina de ouro em metalizador (Metalizer, 145 mod. Denton Desk II Sputter Coater, Torontech Group International, Markham, ON, Canada) (**Figura 5 B**). Após este procedimento as amostras foram levadas ao Microscópio Eletrônico de Varredura (Scanning Electron Microscope, 147 mod. JSM-5600LV, Jeol, Peabody, MA, USA) (**Figura 5 D**) onde foram fotomicrografadas bem como avaliado os elementos que se encontravam na superfície das através de Energia Dispersiva de Raio-X (EDX).

2.9. Densidade de tricomas

Para contabilização dos tricomas da superfície foliar foi realizada a observação da epiderme pela dissociação epidérmica das folhas de *A. nummularia* Lindl. da região do ápice, terço médio e base, na qual as folhas foram submersas em solução de hipoclorito de sódio a 60%, em seguida coradas com azul de metileno (1%) e fixadas nas lâminas com glicerina (50%).

As lâminas foram observadas em microscópio fotônico acoplado a uma câmera para a captura de imagens, que foram utilizadas para contabilizar a densidade de tricomas com auxílio do programa Image J, no qual as imagens foram processadas, tratadas e os tricomas contabilizados e divididos pela área visualizada (mm²) (Schneider *et al.*, 2021).

2.10 Avaliações das relações hídricas

2.10.1 Potencial Hídrico (Ψ_w)

A determinação do potencial hídrico foliar foi realizada ao final do Experimento II antes do amanhecer (predawn) aos 30 dias após o início da aplicação dos tratamentos. Ramos e folhas do terço médio de cada planta foram selecionadas e levadas a câmara de

pressão de Scholander (SCHOLANDER *et al.*, 1965), na qual as determinações foram realizadas. Para a leitura foi realizado um corte em bisel com auxílio de uma lâmina cortante, para restabelecimento do equilíbrio hídrico do pecíolo e auxílio de uma lupa para facilitar a visualização da extrusão da seiva. Após este procedimento o pecíolo foi posicionado na câmara e submetido a uma pressão de fluxo constante até visualização da primeira gota na superfície do corte, anotando-se, neste momento, o valor da pressão exercida em KPa.e convertido para Mpa.

2.10.2 Potencial osmótico (Ψ_o)

Para a determinação do potencial osmótico foi utilizado o material vegetal já coletado por ocasião da avaliação de potencial hídrico, realizado aos 30 dias de aplicação dos tratamentos. A amostra foi macerada em nitrogênio líquido, a seiva obtida nesse processo foi filtrada em tecido musseline e centrifugada a 10.000 g por 15 min a 4°C. O sobrenadante foi separado e uma alíquota de 10 μ L foi utilizada para a determinação da osmolalidade do tecido com osmômetro de pressão de vapor (Paulino *et al.*, 2020)

Os valores obtidos em mmol kg⁻¹ foram convertidos em potencial osmótico, por meio da equação de Van't Hoff (Equação 8).

$$\Psi_o = - RTC \quad \text{Equação 8}$$

Em que:

R= Constante geral dos gases (0,00831 kg MPa mol⁻¹ K⁻¹)

T= Temperatura em Kelvin (K)

C= Concentração do soluto (mol kg⁻¹)

2.10.3 Potencial de Pressão (Ψ_p)

A estimativa do potencial de pressão foi feita a partir dos valores obtidos nas determinações de potencial hídrico e potencial osmótico. Admitindo-se que o potencial hídrico é igual ao somatório do potencial osmótico e de pressão (Equação 9) possibilitando calcular o potencial de pressão a partir da Equação 10.

$$\Psi_w = \Psi_o + \Psi_p \quad \text{Equação 9}$$

$$\Psi_p = \Psi_w - \Psi_o \quad \text{Equação 10}$$

2.10.4 Construção da Curva Pressão-Volume (Curva PV)

A confecção da Curva PV foi realizada através das técnicas utilizadas por Fanjul; Barradas (1987) e adaptadas por Lins *et al.* (2018). Ao final do experimento II, foram selecionadas folhas e estas foram coletadas estando completamente submersas em água deionizada através de corte com auxílio de uma tesoura, os quais posteriormente passaram por todos os processos anotando o volume de seiva coletado e a pressão correspondente foram anotados para construção das Curvas PV.

2.10.4.1 Potencial osmótico a pleno turgor (Ψ_o^{100}) e Ajuste osmótico

O potencial osmótico a pleno turgor para este estudo foi obtido através de duas metodologias, a primeira através da osmometria e a segundo pela análise da Curva Pressão-Volume (Curva PV).

2.10.4.2 Potencial osmótico a pleno turgor obtido por osmometria

Para obtenção do potencial osmótico a pleno turgor por osmometria foram selecionadas e coletadas folhas das plantas de cada tratamento, as quais foram acondicionadas e transportadas para o laboratório de Física do Solo localizado no Departamento de Agronomia do Campus SEDE da Universidade Federal Rural de Pernambuco, onde foram submetidas a saturação ao escuro por um período de 24h para atingir o pleno turgor.

Passado esse tempo, o excesso de água na folha foi cuidadosamente retirado com o auxílio de papel toalha. Após esse processo, a folha foi macerada em nitrogênio líquido e a seiva extraída foi filtrada e centrifugada a 10.000 g por 15 minutos a 4 °C para leitura da osmolalidade em osmômetro por pressão de vapor pipetando-se uma alíquota de 10 μ L do sobrenadante derivado da centrifugação. As leituras obtidas no osmômetro por pressão de vapor são dadas em mmol kg⁻¹ e convertidos em MPa partir da equação de Van't Hoff, conforme Equação 02 já mencionada no subitem 6.7.2.

2.10.4.3 Potencial osmótico a pleno turgor obtido por Curva PV

A partir da construção das Curvas PV descrita no tópico 6.7.4 foi possível estimar o potencial osmótico a pleno turgor (Ψ_o^{100}). O ajuste das Curvas PV seguirá o modelo desenvolvido por Schulte and Hinckley (1985) e a equação desenvolvida para estimar o potencial osmótico a pleno turgor (Ψ_o^{100}) foi realizada a partir do prolongamento da

região linear, estimada através de regressão linear, da curva ao eixo Y conforme indicado na figura 4.

2.10.4.4 Cálculo do Ajuste Osmótico

De posse dos dados que foram obtidos nas análises anteriores o ajustamento osmótico foi estimado a partir da Equação 11 (BLUM, 1989).

$$AO_{total} = \Psi_o^{100}_{Controle} - \Psi_o^{100}_{Estressadas} \quad \text{Equação 11}$$

Em que:

AO_{total} é o ajustamento osmótico total;

$\Psi_o^{100}_{controle}$ é o potencial osmótico das plantas que não foram submetidas ao estresse salino a pleno turgor;

$\Psi_o^{100}_{estressadas}$ o potencial osmótico das plantas submetidas ao estresse salino e hídrico a pleno turgor.

2.10.5 Módulo de elasticidade

Através da Curva PV, além da estimativa do potencial osmótico a pleno turgor (Ψ_o^{100}) descrito anteriormente, também é possível obter também parâmetros como o potencial osmótico a zero turgor (Ψ_o^0) sendo estimado através da projeção do primeiro ponto de inflexão da curva no eixo Y, teor relativo de água no ponto de perda de turgor (TRA_o) derivado das coordenadas X e Y do primeiro ponto da região linear das curvas P-V, a fração de água apoplástica (AF) é obtida prolongando da região linear da curva P-V até o eixo X e o módulo de elasticidade (ε) estimado através da Equação 12 (Patakas e Noitsakis, 1999; Gambetta *et al.*, 2020; Candar *et al.*, 2023).

$$\varepsilon = \frac{(\Psi_o^{100} - \Psi_o^0) (1 - AF)}{(1 - TRA_o)} \quad \text{Equação 12}$$

2.10.6. Teor Relativo de Água (TRA)

A determinação do teor relativo de água foi realizada em folhas coletadas em ramos próximos aos coletados para determinação do potencial hídrico. Cinco discos foliares de 8 mm de diâmetro foram retirados das folhas coletadas e pesados em balança analítica obtendo-se a biomassa fresca (BMF) em grama.

Após à pesagem, os discos foram postos para saturar por 24 horas até atingir pleno turgor. Os discos completamente saturados foram pesados obtendo-se o peso da biomassa

túrgida (BMT). O peso de biomassa seca (BMS) foi obtido após secagem dos discos a 80°C em estufa de circulação forçada de ar por 48h. A determinação do TRA foi feita conforme proposto por Silveira et al. (2003) e calculado a partir da Equação 13.

$$TRA(\%) = \frac{BMF-BMS}{BMT-BMS} \times 100 \quad \text{Equação 13}$$

2.11 Avaliações fotossintéticas

2.11.1 Trocas Gasosas foliares

As avaliações das trocas gasosas das plantas foram realizadas aos 30 dias após a imposição dos tratamentos em ambos os experimentos com auxílio do Analisador Portátil de Gás Infravermelho (IRGA), modelo LICOR Li-6400XT. Através deste, foram avaliadas as variáveis: Fotossíntese líquida (*A*), condutância estomática (*gs*), a transpiração (*E*), calculando-se posteriormente a eficiência do uso da água (EUA - *A/E*).

Com intuito de padronização, as leituras foram realizadas entre 8 e 11h, com uma radiação fotossinteticamente ativa (RFA) de aproximadamente 1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, temperatura do bloco de 27°C, umidade relativa do ar de referência variável na faixa de 50 a 60% e a concentração de CO₂ do ar de referência de 400 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

2.11.2 Fluorescência da Clorofila *a*

As avaliações da fluorescência da clorofila *a* foram realizadas aos 30 dias após o início dos tratamentos em ambos os experimentos, sendo determinada através de fluorômetro portátil (Modelo Fluorpen FP 100) em folhas não destacadas, sadias e totalmente expandidas da região do terço médio das plantas. Foram amostradas folhas expostas ao sol de todos os indivíduos, selecionando-se sempre uma única folha por planta. Para avaliação as folhas amostradas foram submetidas ao escuro por um período de 30 minutos afim de promover a abertura dos centros de reação do Fotossistema II - FSII e após esse período, a fluorescência inicial (*F0*) foi determinada a partir da incidência de um pulso de luz modulada de baixa intensidade ($< 0,1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). A fluorescência máxima (*Fm*) foi obtida a partir da incidência de um pulso de luz saturante 0,3 s de duração. E a *Fv* foi determinada pela diferença entre *Fm* e *F0*. Por fim, a partir dos resultados de *Fv* e *Fm* obtêm-se a relação *Fv/Fm* conhecida como rendimento quântico.

2. 12. Análise de dados

O EXP I foi conduzido em delineamento em blocos casualizados, e analisado em esquema fatorial (2x6) relativo a dois Luvisolos (LNS e LS) e seis concentrações distintas de Pb (0, 100, 150, 200, 250 e 300 mg kg⁻¹), com 3 repetições totalizando 48 unidades experimentais. Já o EXP. II também seguiu o delineamento em blocos casualizados com plantas cultivadas no LS, com uma dose de Pb escolhida com base na Biomassa Seca da Parte aérea do EXP I, submetidas a irrigação com cinco concentrações distintas de NaCl (0, 50, 100, 150 e 200 mmol L⁻¹), e 4 repetições totalizando 20 unidades experimentais.

Os resultados obtidos foram tabulados e submetidos a análise de variância (ANOVA) com o teste F. As interações e fatores quantitativos avaliados que apresentaram diferença significativa de 5 ou 1%, por meio da ANOVA, foram desdobradas e submetidas a análise de regressão, verificando significância e melhor ajuste através da avaliação do coeficiente de regressão (R²). Os fatores qualitativos que apresentaram diferença significativa de 5 ou 1% foram submetidos a teste de média de Tukey. Foi realizado também avaliações das médias, medianas, modas e desvio padrão.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Avaliações do Experimento I

3.1.1. Desenvolvimento da espécie

As plantas do EXP I não apresentaram sintomas de clorose ou toxidez até o final do experimento. Visualmente as plantas cultivadas em LS apresentaram maior altura e biomassa, sem diferenciação no tamanho ou coloração de folhas (**Figura 48**).

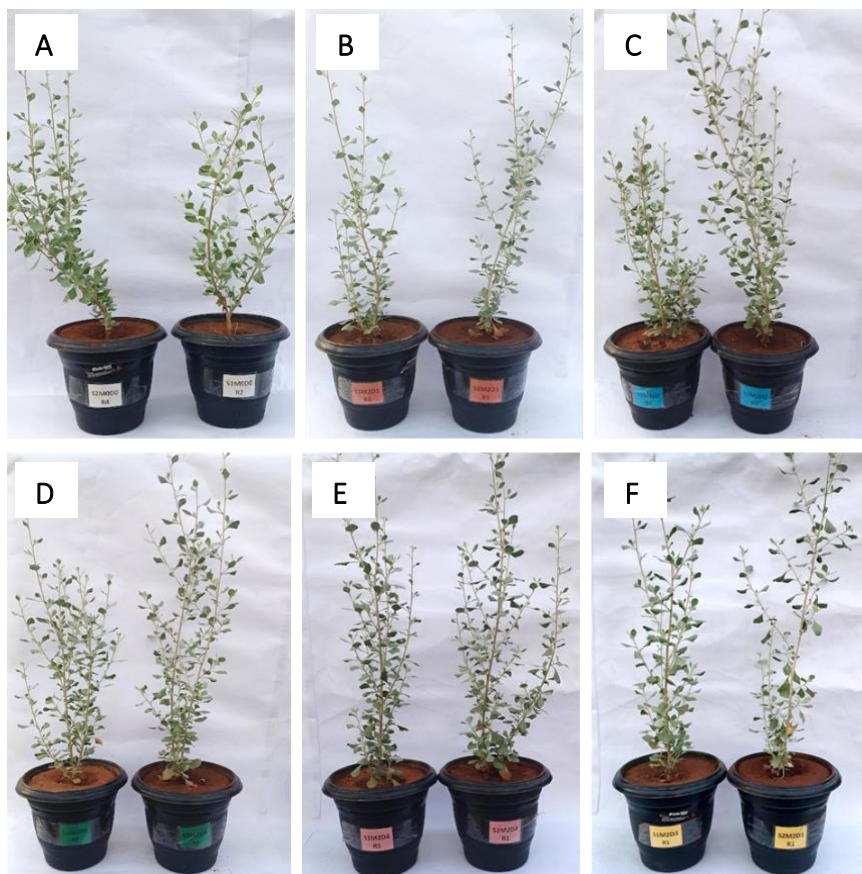


Figura 48 - *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (plantas a direita das fotos) e não salino (plantas a esquerda das fotos) contaminado com doses crescentes de Pb (A) 0 mg kg⁻¹; (B) 100 mg kg⁻¹; (C) 150 mg kg⁻¹; (D) 200 mg kg⁻¹; (E) 250 mg kg⁻¹; (F) 300 mg kg⁻¹;

3.1.2. Biomassa fresca (BMF_{PA}) e seca (BMS_{PA}) da parte aérea, Área foliar (AF) e Biomassa fresca (BMF_R) e seca (BMS_R) da raiz

A biomassa fresca da parte aérea (BMF_{PA}) das plantas cultivadas apresentaram diferença significativa ($p < 0,01$) para os fatores dose e solo, exibindo um comportamento linear crescente, com incremento de 46% de biomassa na dose de 300 mg kg⁻¹ de Pb em relação ao controle, sendo este aumento uma contribuição principalmente das plantas

cultivadas em LS que apresentou BMF_{PA} 11% maior que as cultivadas em LNS (**Figura 49**).

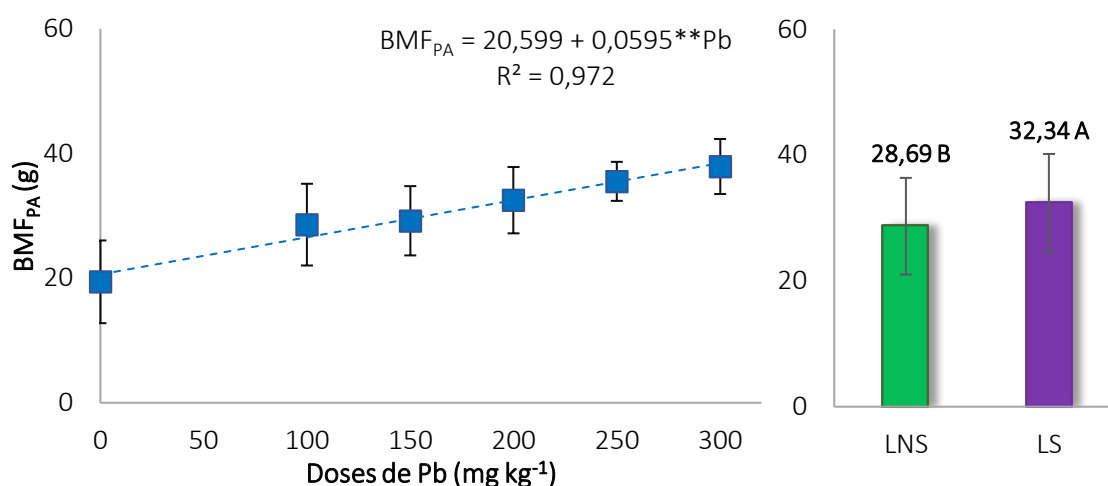


Figura 49 - Biomassa fresca da parte aérea (BMF_{PA}) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$). As médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

Da mesma forma, a biomassa seca da parte aérea (BMS_{PA}), variável escolhida para fundamentar o EXP II, apresentou diferença significativa ($p < 0,01$) apenas para o fator dose, com incremento de 22% entre a última dose de Pb (300 mg kg⁻¹) e o controle (**Figura 50**).

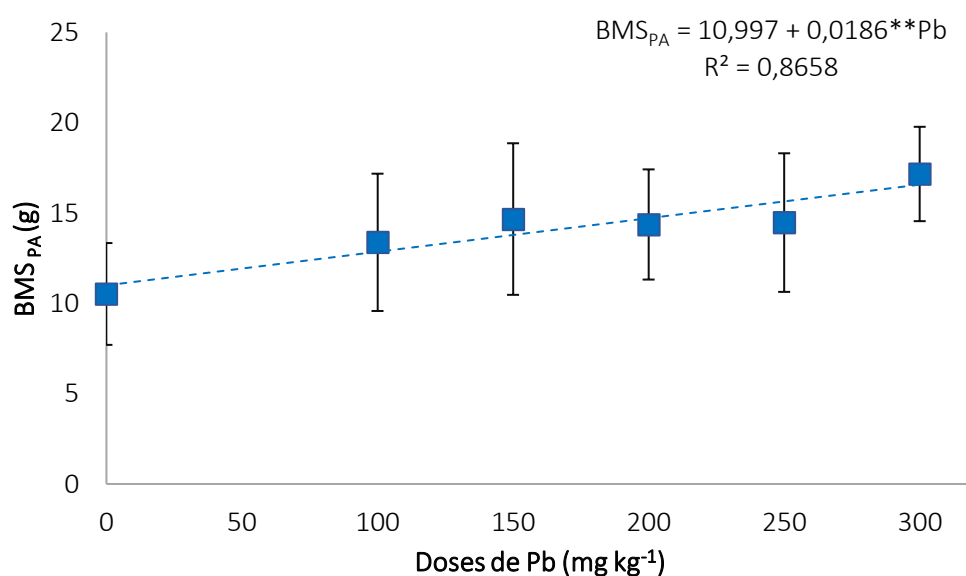


Figura 50 - Biomassa seca da raiz (BMS_{PA}) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).

Avaliando a área foliar (AF) das plantas, observa-se que a variável apresentou interação significativa ($p < 0,01$), exibindo um comportamento quadrático para as plantas cultivadas em LS, e valor de mínimo na dose de $81,72 \text{ mg kg}^{-1}$, com um total de 545 cm^2 (Figura 51).

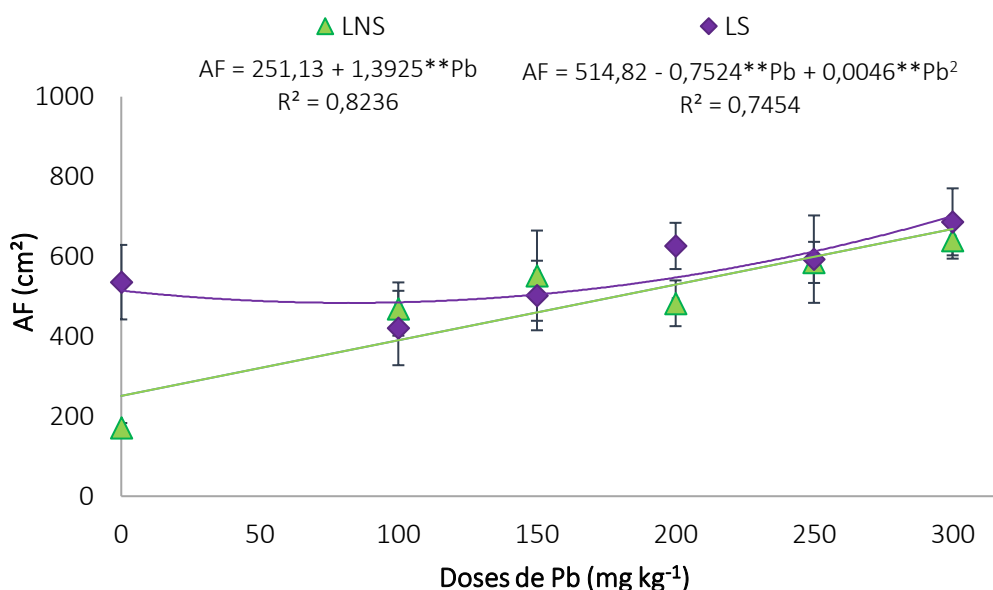


Figura 51 – Área Foliar (AF) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).

As plantas cultivadas em LNS, apresentaram comportamento linear crescente, com incremento de $1,39 \text{ cm}^2$ por unidade de dose de Pb, as plantas cultivadas na dose de 300 mg kg^{-1} produzindo uma área foliar de 669 cm^2 , cerca de 62% a mais que as plantas sem adição de chumbo (Figura 51).

A literatura cita vastamente, que certas doses de salinidade podem estimular o crescimento da espécie (De Souza *et al.*, 2012; Lins *et al.*, 2018; Paulino *et al.*, 2020). Além disso, a maior capacidade de retenção de água conferida a espécie sob salinidade (Melo *et al.*, 2018), pode justificar as maiores médias de BMF_{PA} observadas nas plantas cultivadas no LS.

Nesta pesquisa, observou-se também que apesar das plantas cultivadas em LS se sobressaírem as cultivadas no LNS quanto a BMF_{PA} e AF, o comportamento perante o incremento das doses de Pb foram os mesmos para BMF_{PA} e BMS_{PA} , e semelhante para AF, assim, seu crescimento possivelmente foi estimulado por outro fator, como a presença de nitrogênio.

O Pb por sua natureza tóxica, não seria capaz de promover este aumento, por outro lado, o sal utilizado para contaminação do solo apresenta nitrogênio em sua formulação que parece estimular o crescimento da *A. nummularia* Lindl. Desta forma, acredita-se que no momento da incubação do solo, a adição do nitrato, mesmo que pequena, pode ter estimulado o crescimento da espécie.

Alguns trabalhos relatam o melhor desenvolvimento da biomassa da *A. nummularia* Lindl. com a aplicação de doses de N, relatando ainda que o incremento destas doses pode estimular a absorção de Na^+ (Eissa e Ahmed, 2016; Cunha *et al.*, 2017).

Pérez *et al.* (2013) avaliando a extração de metais pesados da *A. halimus* em solos de mineração adicionando compostos orgânicos, ricos em N, verificaram também o maior desenvolvimento da biomassa da espécie, registrando que a aplicação de doses de esterco conseguiu retirar maior quantidade de metais ($\text{Cu} > \text{Zn} > \text{Cd}$) do solo acumulando-os na parte aérea, devido ao maior crescimento das plantas.

Eissa e Ahmed (2016), também avaliaram o desempenho de três espécies de *Atriplex* na fitoextração de metais com doses crescentes de N, porém observaram que a presença dos fertilizantes usados reduziu a disponibilidade dos metais e consequentemente sua absorção.

3.1.3. Avaliações das Relações Hídricas

3.1.3.1. Potencial Hídrico Foliar (Ψ_w), Potencial Osmótico (Ψ_o) e Potencial de Pressão (Ψ_p)

O Ψ_w não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) entre os fatores estudados. Já o Ψ_o apresentou interação significativa com um comportamento linear decrescente para as plantas cultivadas em LNS, reduzido 33% em sua última dose de Pb (300mg kg^{-1}) em relação as plantas sem adição de Pb (**Figura 52**).

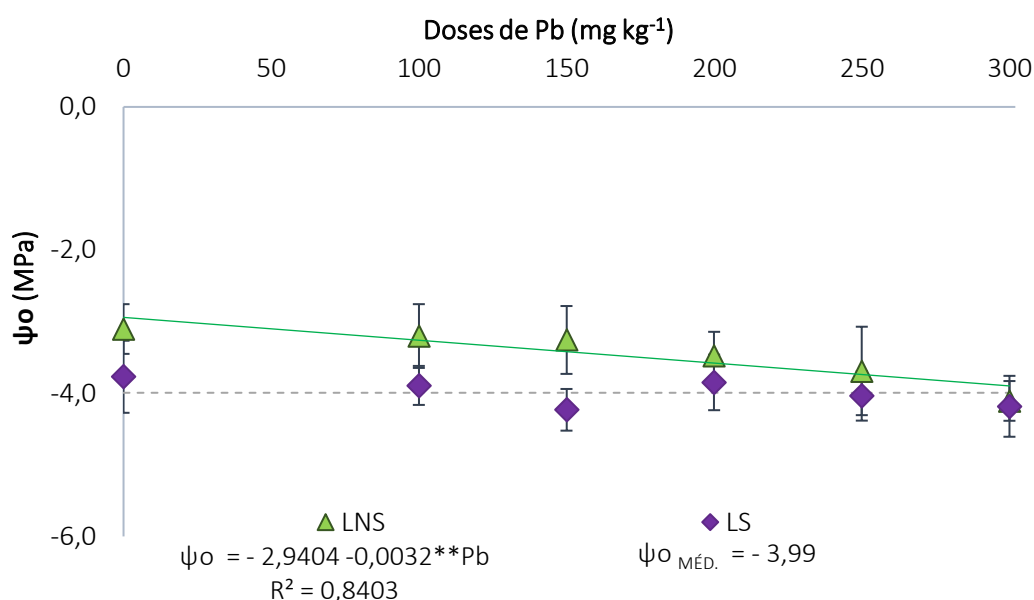


Figura 52 - Potencial osmótico foliar (ψ_o) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisolo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).

As plantas cultivadas em LS apresentou valores de Ψ_o mais negativos que as plantas sem a presença de salinidade, porém, não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) com o incremento das doses de Pb, com média de -3,99 Mpa.

A manutenção do Ψ_w de halofitas, mesmo com a adição de metais pesados, pode ser uma estratégia para favorecer a tolerância nesses ambientes, utilizando-se de seus mecanismos adaptativos para manutenção da capacidade hídrica (Singh et al., 2023).

A salinidade do solo é um fator que reduz a capacidade da planta em absorver água do solo, porém a *Atriplex* exibe mecanismos adaptativos que auxiliam a manter um gradiente favorável de absorção de água, reduzindo seu potencial osmótico através da síntese de solutos compatíveis e acúmulo de íons inorgânicos em suas vesículas epidérmicas e vacúolos (Melo et al., 2018; Lins et al., 2018).

Nesta pesquisa, o Ψ_o das plantas cultivadas em ambiente não salino também apresentou reduções, indicando um possível acúmulo de solutos com o incremento das doses de Pb. Merzougui, et al. (2022) avaliando a *A. nummularia* Lindl. crescendo numa área de mineração ativa no sudeste de Marrocos, verificaram uma correlação direta entre os altos níveis de chumbo no solo com o aumento das concentrações de prolina ($r = 0,949^{**}$), podendo este ser o principal soluto responsável pela diminuição do Ψ_o .

Além disso, foi verificado que o Pb provoca estresse oxidativo na espécie, levando a um potencial uso de compostos fenólicos para lidar com o efeito tóxico (Merzougui et al., 2024).

O ψ_p também apresentou interação significativa ($p < 0,01$), com as plantas cultivadas em LS, exibindo comportamento quadrático com o incremento das doses de Pb, atingindo seu valor de máximo 1,66 MPa na dose de $132,5 \text{ mg kg}^{-1}$, enquanto as plantas cultivadas em LNS não sofreram variação com as crescentes doses de Pb, apresentando média de 1,22MPa (**Figura 53**).

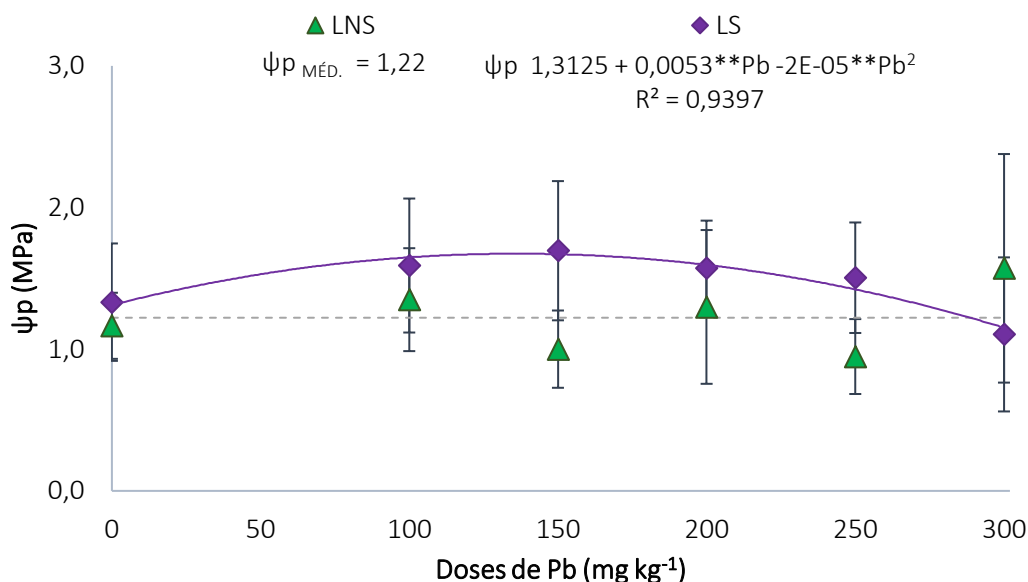


Figura 53 - Potencial de pressão (ψ_p) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).

O ψ_p indica a força de turgescência realizadas pelas células vegetais para manutenção do status hídrico das plantas, essa pressão celular rege o transporte de água através das membranas celulares vegetais (Yi *et al.*, 2022).

Plantas halofitas tendem a priorizar o acumular íons inorgânicos como Na^+ e Cl^- em vacúolos, devido seu menor gasto energético, auxiliando na redução do ψ_o e mantendo a capacidade de absorção de água em ambientes adversos (Shabala, 2013)

Além disso, é possível observar também o acúmulo de solutos orgânicos de baixo peso molecular, conhecidos como osmólitos, que além de promover melhora no status hídrico das plantas, protegem as estruturas subcelulares, macromoleculares e atenuam os danos oxidativos (Slama *et al.*, 2015).

Diante disto, é possível verificar que no LS, as plantas cultivadas sob a dose de Pb que apresentaram maior valor de ψ_p , necessitaram aumentar seu turgor possivelmente devido ao acúmulo de soluto, principalmente entre as doses de 100 e 150 mg kg^{-1} de Pb.

Por outro lado, a manutenção dos valores de ψ_p das plantas cultivadas em LNS demonstra que a presença dos solutos não foi suficiente para alterar o turgor celular, demonstrando que existe possivelmente uma diferenciação nos tipos de solutos acumulados pela espécie frente as características de solo (ausência e presença de salinidade).

3.1.3.2. Parâmetros da Curva Pressão Volume (Curva PV)

O Ψ_o^{100} apresentou diferença significativa ($p < 0,01$) apenas para o fator dose, com comportamento quadrático, com menor ψ_o^{100} (-3,46MPa) observada na dose de 162 mg kg⁻¹ (Figura 54).

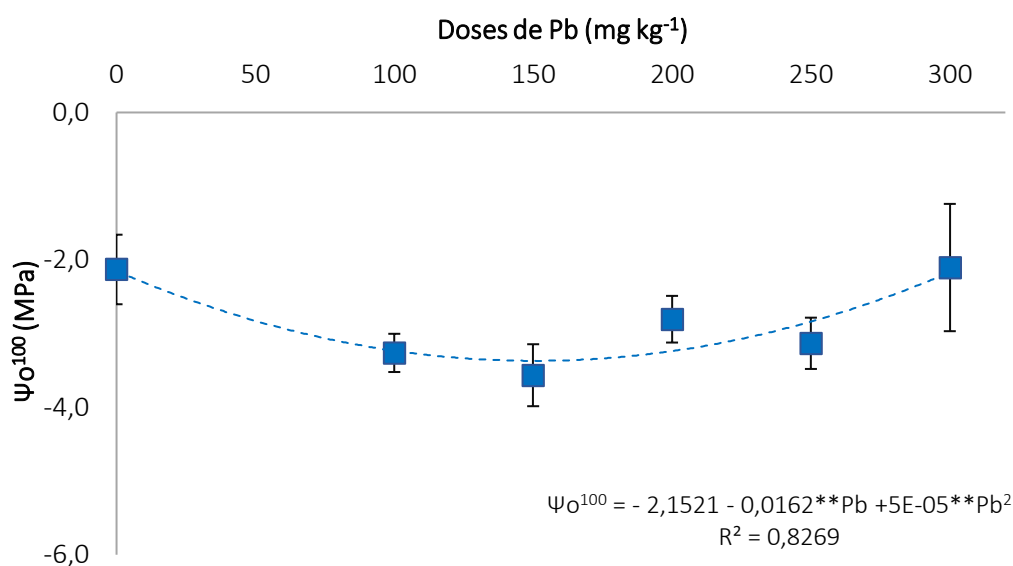


Figura 54 - Potencial Osmótico a Pleno Turgor (ψ_o^{100}) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvissoilo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).

Da mesma forma o Ψ_o^0 , apresentou diferença significativa apenas para o fator dose, exibindo comportamento quadrático, com valor de mínimo de -4,64 MPa, na dose de 125mg kg⁻¹ de Pb (Figura 55).

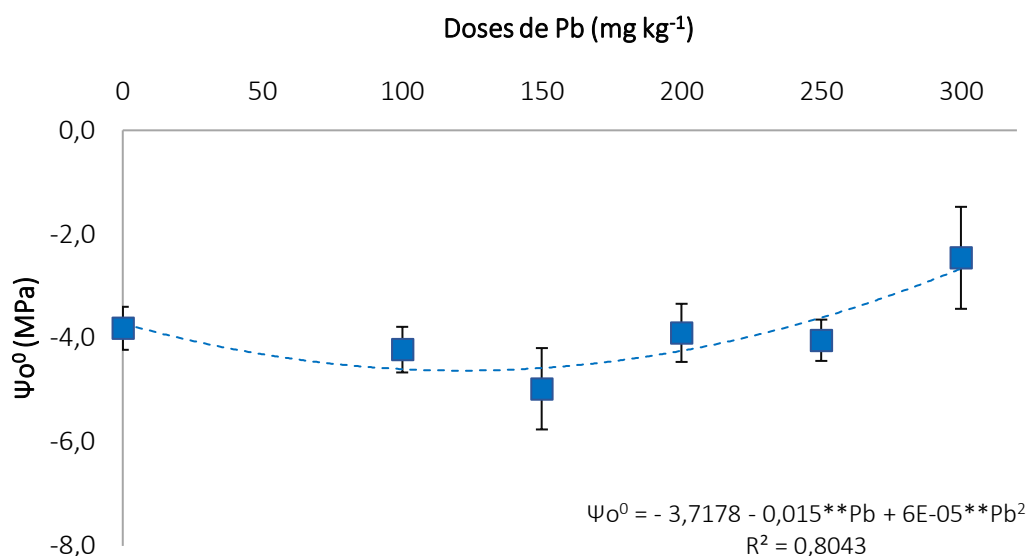


Figura 55 – Potencial Osmótico a Zero Turgor (ψ_o^0) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvissoilo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).

O Ψ_o^0 tem sido utilizado como indicador de tolerância ao estresse hídrico, no qual valores mais baixos de ponto de perda de turgescência indicam que as plantas possuem uma faixa mais ampla de Ψ_w dentro dos quais a folha permanece túrgida e mantém suas funções metabólicas (Pérez-Romero *et al.*, 2020).

Os elementos da Curva PV, são atribuídos a condições intracelulares das plantas, principalmente em espécies que possuem a contribuição dos elementos excluídos no tricomas na sua regulação osmótica (Lins *et al.*, 2018; Paulino *et al.*, 2020). Nesta pesquisa, os valores mais baixos de Ψ_o^0 observados se concentraram entre as doses de 100 e 150 mg kg⁻¹ de Pb, mesma faixa em que observou-se aumento do Ψ_p (nas plantas cultivadas no LS), apresentado na seção anterior, indicando novamente um potencial acúmulo de solutos, desta vez a nível intracelular.

O ϵ , apresentou interação significativa ($p < 0,01$), com as plantas cultivadas em LNS sem apresentar diferença com o incremento das doses de Pb, exibindo média de 9,58 MPa, e as plantas cultivadas em LS um comportamento quadrático com valor de máximo de 53,40 MPa na dose de 175,34 mg kg⁻¹ (Figura 56).

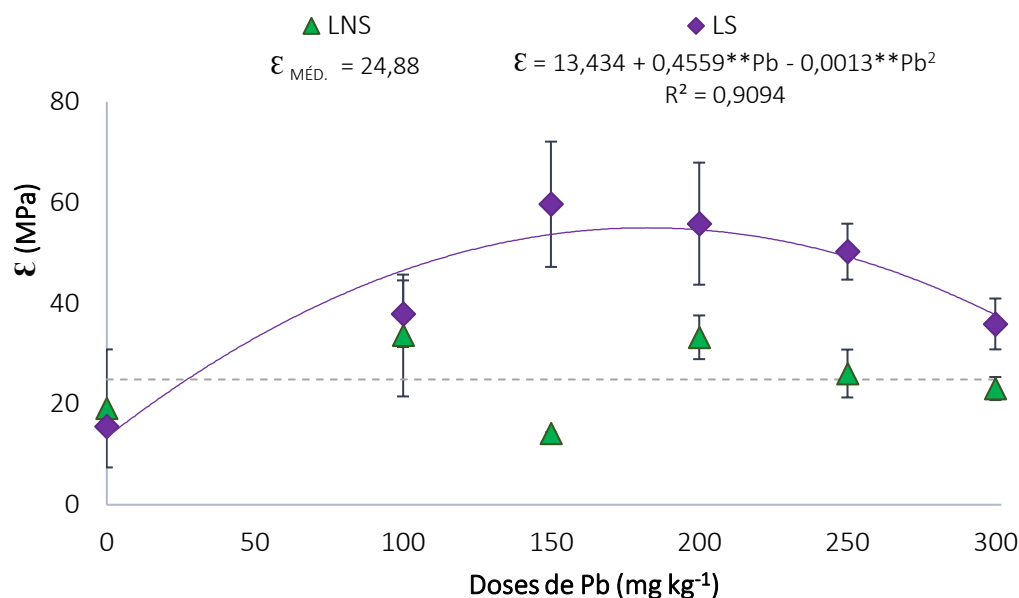


Figura 56 – Módulo de Elasticidade (ϵ) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisolo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).

Em ambientes salinos a redução da elasticidade da parede celular, ou seja, paredes celulares mais rígidas, podem ajudar a manter um Ψ_w mais baixo auxiliando na absorção de água (Hessini *et al.*, 2015).

Assim, o ϵ é frequentemente relacionado pressão de turgescência das células vegetais e rigidez das paredes celulares necessária para manutenção de baixos potenciais hídricos intracelular (Tsugawa *et al.*, 2022).

Além disso, paredes celulares podem imobilizar íons tóxicos de metais pesados, impedindo sua entrada no citoplasma e afetando a atividade metabólica intracelular (Shang *et al.*, 2020).

3.1.4. Avaliações fotossintéticas

Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para nenhum dos fatores estudados (dose, atributos do solo ou interação) referentes as trocas gasosas, fluorescência ou pigmentos fotossintéticos, mostrando que aparato fotossintético não sofreu nenhum dano com os tratamentos aplicados.

A toxicidade do Pb afeta negativamente a atividades fotossintéticas das plantas sendo relatados na literatura: inibindo a síntese de clorofila, prejudicando a absorção de elementos essenciais (Naz *et al.*, 2015); aumentando a resistência estomática e diminuindo a transpiração (Navabpour *et al.*, 2020); além de induzir o estresse oxidativo (Balakhnina e Nadezhkina, 2017). Entretanto, os dados obtidos na pesquisa demonstram

que a *A. nummularia* Lindl. apresentou tolerância ao Pb em solos na presença e ausência de salinidade até a dose de 300mg kg⁻¹ de Pb, não exibindo comprometimento das trocas gasosas.

3.1.5. Avaliações dos Solutos Inorgânicos

3.1.5.1. Teor de Sódio (Na⁺_{PA}), Cloro (Cl⁻_{PA}), Potássio (K⁺_{PA}) e Chumbo (Pb_{PA}) na Parte Aérea, Teor de Chumbo (Pb_R) na Raiz e Fator de Translocação (FT)

O Na⁺_{PA} apresentou interação significativa ($p < 0,01$), com as plantas cultivadas em LS exibindo comportamento linear crescente com o incremento das concentrações de Pb, aumentando 35% na última dose de 300 mg kg⁻¹ de Pb em relação as plantas controle (**Figura 57 A**). Já as plantas do LNS apresentaram um teor médio de 41,17 mg g⁻¹.

O teor de Cl⁻_{PA} apresentou interação significativa ($p < 0,01$) entre as plantas cultivadas em ambos os solos de características distintas. As do LNS apresentaram comportamento quadrático com o incremento das doses de Pb, com teor máximo de 105,1 mg g⁻¹, na dose de 159,17mg kg⁻¹ de Pb (**Figura 57 B**). Enquanto as plantas cultivadas no LS apresentaram comportamento linear quadrático com teor de 130,93 mg kg⁻¹ na maior dose de Pb (300mg kg⁻¹), 32% mais que as plantas controle.

O teor de K⁺_{PA}, da mesma forma apresentou interação significativa ($p < 0,01$) entre as plantas cultivadas no LNS e LS, exibindo para este último, um comportamento linear crescente com o incremento das doses de Pb, aumentando 59% o teor de K⁺_{PA} nas plantas cultivadas na maior dose (300 mg kg⁻¹) em relação à sem adição de Pb (**Figura 57 C**). O LNS exibiu comportamento quadrático com o aumento das doses, apresentando valor de mínimo de 16,11 mg g⁻¹ na dose de 60,17mg kg⁻¹ (**Figura 57 C**).

O teor de Pb_{PA}, também apresentou interação significativa ($p < 0,01$) entre as plantas cultivadas em solos de características distintas, exibindo comportamento linear crescente com o incremento das doses de Pb, tanto nas plantas do LNS quanto do LS chegando a acumular 47,80 mg kg⁻¹ e 25,54 mg kg⁻¹, respectivamente, nas plantas cultivadas na maior dose (300 mg kg⁻¹) (**Figura 57 D**).

Até a dose de 73,07 mg kg⁻¹ as plantas cultivadas no solo de caráter salino apresentaram maior acúmulo em relação as do não salino, posterior essa dose, o LNS sobressai o LS chegando a acumular 47% mais Pb na maior dose estudada (300 mg kg⁻¹) (**Figura 57 D**).

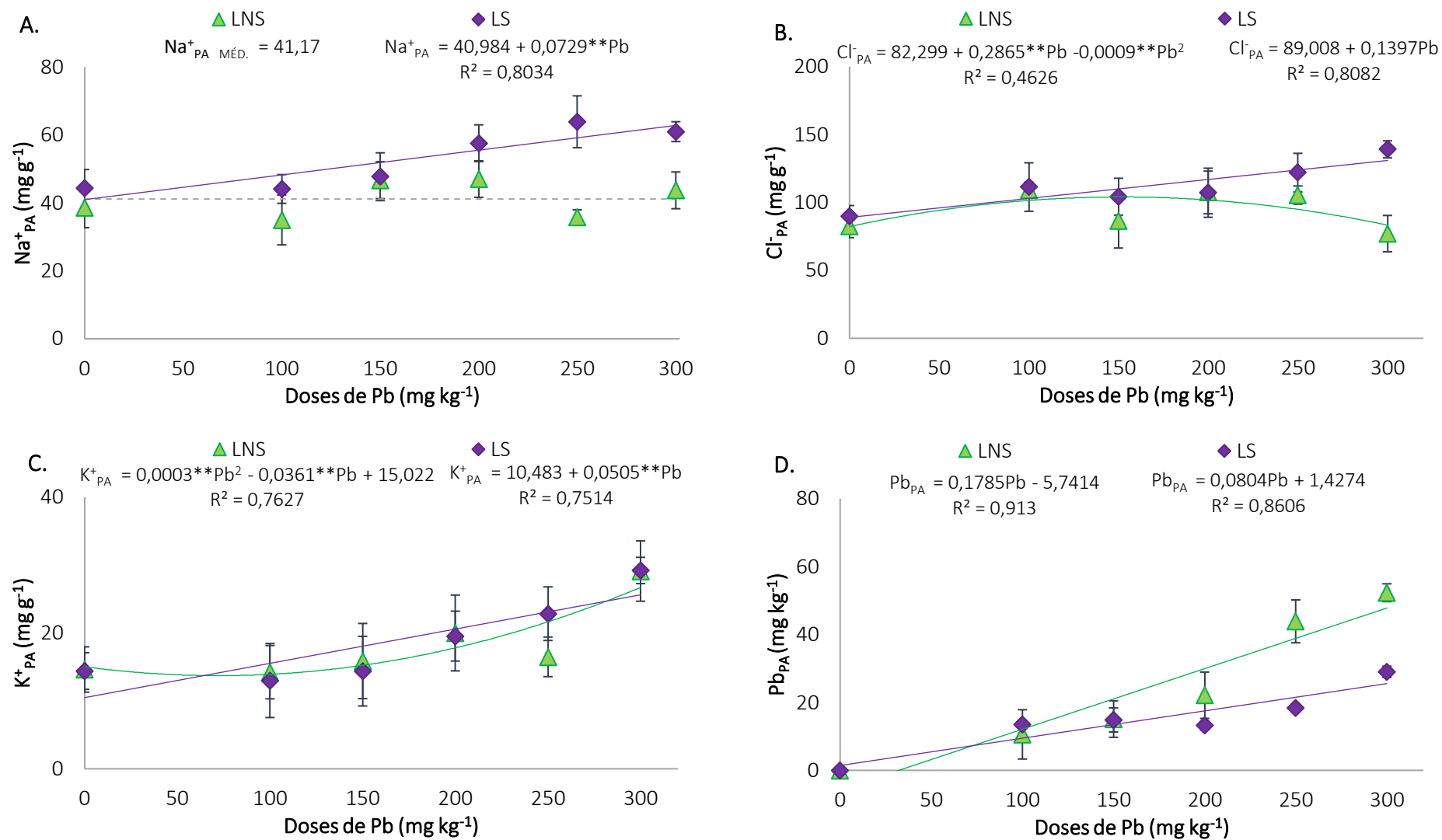


Figura 57 - Teor de Sódio (Na^+_{PA}), Cloro (Cl^-_{PA}), Potássio (K^+_{PA}) e Chumbo (Pb_{PA}) na Parte Aérea *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).

O teor de Pb_R também apresentou interação significativa ($p < 0,01$), com efeito linear entre as plantas cultivadas no LNS e LS, com acúmulo de 12,02 e 4,79 $mg\ kg^{-1}$ na dose de 300 $mg\ kg^{-1}$ de Pb (**Figura 58**).

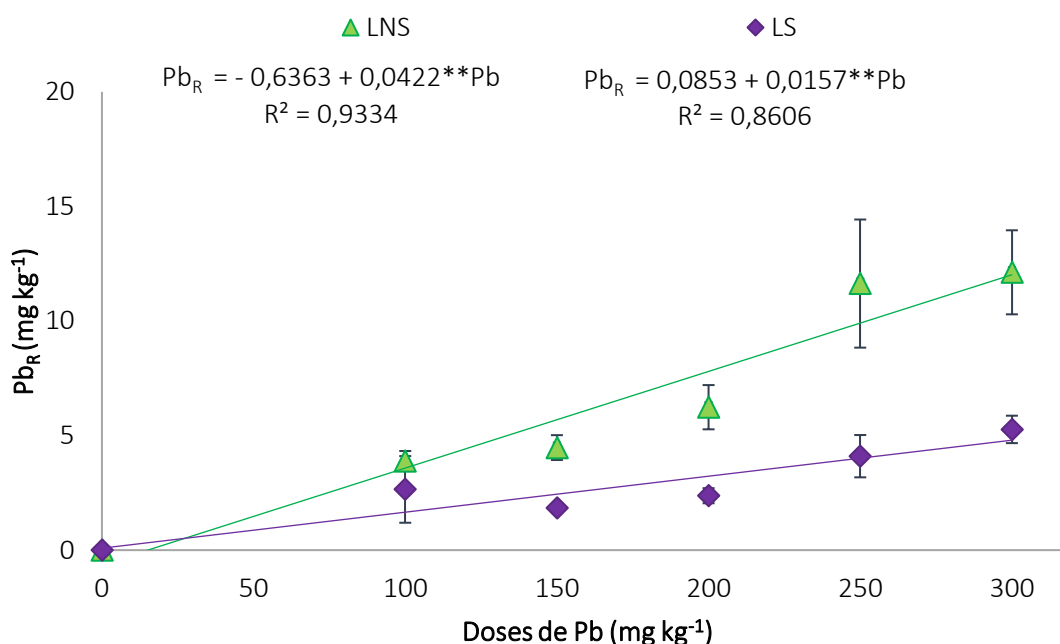


Figura 58 – Teor de Chumbo nas raízes (Pb_R) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvissolo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).

A partir da dose de 27,23 $mg\ kg^{-1}$ de Pb o LNS apresentou maiores acúmulos sucessivos em relação ao LS, apresentando cerca de 54, 57, 59, 60 e 60% mais Pb_R nas doses de 100, 150, 200, 250 e 300 $mg\ kg^{-1}$ respectivamente (**Figura 58**).

Bankaji *et al.*, (2019) avaliando a *A. halimus* verificaram que a exposição a 200 mmol de NaCl aumentou a concentração de Na^+ na parte aérea, porém não diferiu com o incremento das doses de Pb a solução nutritiva.

A *A. nummularia* Lindl. apresenta alta capacidade de acumular íons de Na^+ , Cl^- e K^+ em seus tecidos na presença de salinidade auxiliando nas pressões osmóticas (Moura *et al.*, 2019). Nesta pesquisa, observou-se este comportamento, além disso, verificou-se que o incremento das doses de Pb também provocaram o maior acúmulo desses íons nas plantas cultivadas em LS, possivelmente devido a alguma tentativa regulação osmótica causada pela presença de Pb.

Nas plantas cultivadas em LNS, o Na^+_{PA} não apresentou variação, porém, o teor de Cl^-_{PA} reduziu a partir da dose de 159,17 $mg\ kg^{-1}$ e o de K^+_{PA} aumentou a partir da dose

de 60mg kg^{-1} . Demonstrando que o incremento das doses de Pb apresentou diferentes interações com as características do solo.

Merzougui *et al.*, (2022) verificaram que a *A. nummularia* cultivada próximo a mina de galena desativada, cuja concentração de Pb no solo era de 200mg kg^{-1} , apresentaram maior acúmulo em suas folhas, de aproximadamente 250 mg kg^{-1} de Pb, aos 6 meses de estudo.

Quanto ao teor de Pb_{PA} e Pb_{R} , a maioria dos estudos com espécies de Atriplex e contaminação por Pb, relatam que a acumulação do elemento foi preferencialmente na raiz (Bankaji *et al.*, 2019; Laghlimi *et al.*, 2022; Ouaini *et al.*, 2023) o que diverge do encontrado nesta pesquisa.

Acredita-se que este comportamento contrário ocorreu devido a diferença entre os ambientes e o tempo de cultivo nas pesquisas apresentadas. Nesta pesquisa o cultivo de *A.nummularia* se deu em 30 dias em solos, enquanto os demais estudos avaliaram as espécies depois de 2 meses de cultivo em condições hidropônicas ou semi-hidropônicas, verificando que a resposta da espécie pode variar a partir das condições de tempo e ambiente.

Acosta *et al.*, (2018) avaliando a fitorremediação de rejeitos de minas com *A. halimus* após cinco anos de aplicação de resíduos de mármore (CaCO_3), chorume de suínos e a combinação de ambos, verificaram que os resíduos de mármore aumentaram a concentração de Pb nas folhas, acumulando-se em maior quantidade na parte aérea em comparação as raízes, conforme esta pesquisa.

Além disso, Ievinsh, (2023) relata que os sistemas experimentais baseados no solo parecem ser os mais confiáveis para avaliação do potencial de acumulação de Pb nas plantas, pois a extrapolação dos resultados obtidos em experimentos hidropônicos pode ser enganosa e não deve ser usada para estimar a capacidade de acumulação de Pb.

O fator de translocação (FT), apresentou valores maiores que 1 em todas as doses e combinações avaliadas (**Figura 59**).

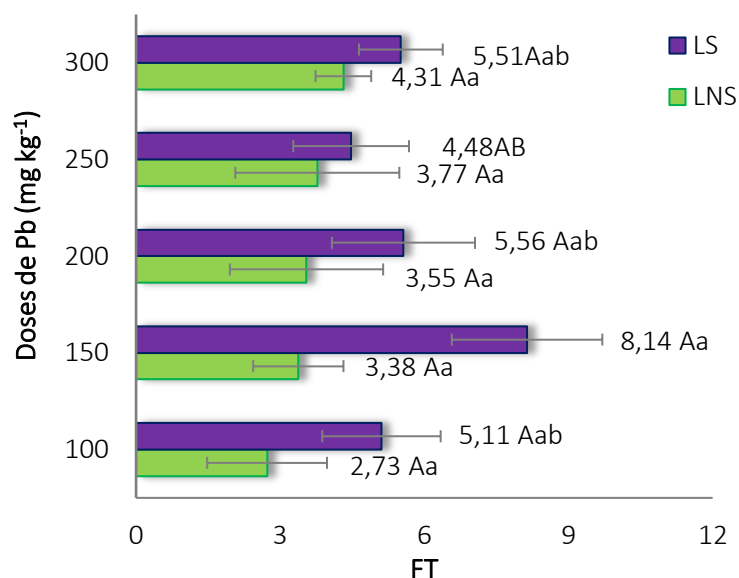


Figura 59 – Fator de translocação (FT) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisolo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb. As médias seguidas por letra iguais, maiúsculas entre as características do solo e minúsculas doses, não diferem pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

Os valores de FT das plantas cultivadas em LS foram maiores em relação a LNS, diferindo estatisticamente, nas doses de 100 e 150 mg kg⁻¹ e a maior translocação observada na pesquisa ocorreu na dose de 150 mg kg⁻¹ de Pb em LS e na dose de 300 mg kg⁻¹ de Pb em LNS

O Índice de tolerância, apresentou também valores maiores que 100 em todas as doses e combinações avaliadas, porém não diferiu estatisticamente entre as características de solo (**Figura 60**).

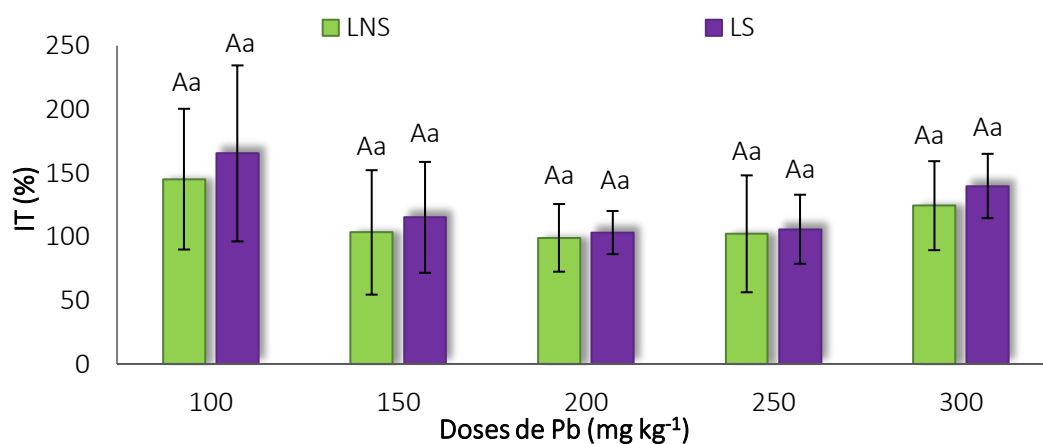


Figura 60 – Índice de Tolerância (IT) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisolo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb. As médias seguidas por letra iguais, maiúsculas entre as características do solo e minúsculas doses, não diferem pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

Avaliando o FT, um dos indicadores usados para verificar o potencial de fitoextração de espécies (Mendez e Maier, 2008), é possível observar que em todas as doses de Pb avaliadas, tanto na ausência, quanto na presença de salinidade foram maiores de 1, indicando possível potencial da espécie a programas de fitoextração.

Diante dos resultados observados, é possível verificar uma tolerância da *A. nummularia* Lindl. a contaminação de Pb, e que na presença de salinidade, a faixa entre 150 e 200 mg kg⁻¹ de Pb a espécie parece ativar mecanismos adaptativos na superação do estresse imposto o que não ocorre com tanta intensidade nas demais doses.

Os índices de tolerância (IT) têm sido úteis para caracterizar a tolerância das plantas aos metais pesados. Valores inferiores a 100% indicam uma diminuição líquida na biomassa e sugerem que as plantas estão estressadas com metal, da mesma forma, valores superiores a 100% indicam um aumento na biomassa das espécies e sugerem que as plantas expressam um efeito de diluição do crescimento (Audet e Charest, 2007; Bankaji et al., 2019).

Assim, além de apresentar FT propício para fitoextração as plantas de *A. nummularia* demonstraram boa tolerância ao Pb, através de altos IT devido ao aumento da biomassa da parte aérea com o incremento das doses de Pb.

Estes resultados indicam ainda que, com maior tempo de cultivo e condições favoráveis ao crescimento da espécie, a *A. nummularia*, possivelmente, tende se desenvolver bem a acumular mais Pb em seus tecidos vegetais seja na parte aérea ou raiz.

3.1.5.2. Caracterização e Densidade de Tricomas (DT)

Com as análises de anatomia realizadas foi possível verificar a estrutura e contabilizar os tricomas presentes nas superfícies abaxial e adaxial de *A. nummularia* Lindl. submetida aos diferentes tratamentos. De maneira geral observou-se maior densidade de tricomas na superfície adaxial das plantas e a presença de várias drusas em seu mesófilo (Figura 61).

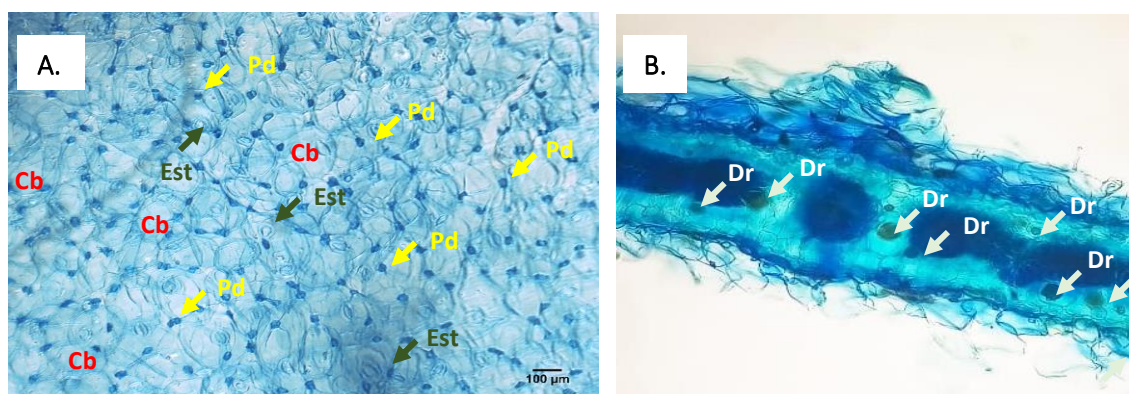


Figura 61 – (A) Lâmina foliar dissociada para contabilização da densidade de tricomas e (B) Corte transversal de folha de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisolo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Cd. Detalhes da estrutura dos estômatos “Est”, Drusas “Dr” e tricomas vesiculares: cabeça “Cb”, pedúnculo “Pd”.

A presença de drusas no mesófilo foliar foi comprovada também com a microscopia de varredura eletrônica (MEV) auxiliada pela emissão de energia dispersiva de raio X (EDX), através da identificação dos cristais formados principalmente por oxalato de cálcio, conforme identificado os elementos (Ca e O) pelas avaliações do EDX (Figura)

Drusa é um grupo de cristais de oxalato de cálcio, silicatos ou carbonatos presentes nas plantas. Słomka et al., (2020) avaliando a espécie *Arabidopsis arenosa*, submetida a estresse por metais pesados, verificaram um elevado número de cristais de oxalato em plantas cultivadas em ambiente poluído com metais pesados e relataram que tais estruturas que pode servir para desintoxicar não apenas Ca, mas também Zn, Cd e Pb.

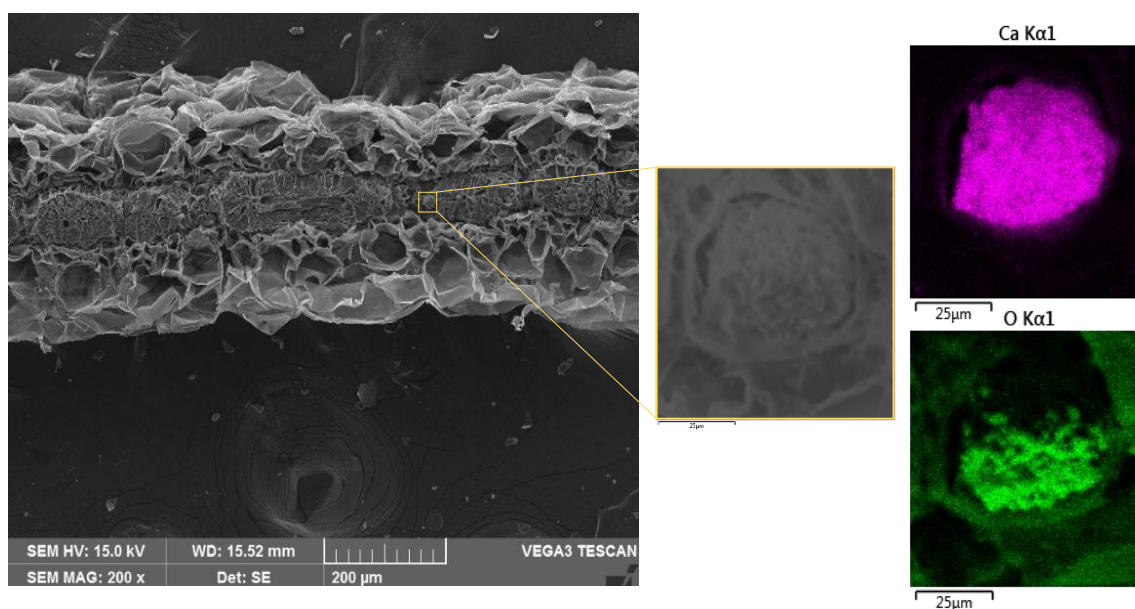


Figura 62 – Microfotografias de seção transversal de folhas de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisolo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb obtidas por microscopia de varredura eletrônica (MEV) e Mapas de distribuição de Ca e O em cristal de drusa, identificados com auxílio de emissão de energia dispersiva de raio X (EDX).

A formação de drusas aumentaram e acompanharam todos os tratamentos com Pb, observando a presença de cálcio como cristais de drusas feitos principalmente de oxalato de cálcio de acordo com os picos de Ca, O dos espectros de análise pontual de raios X (Figura 63).

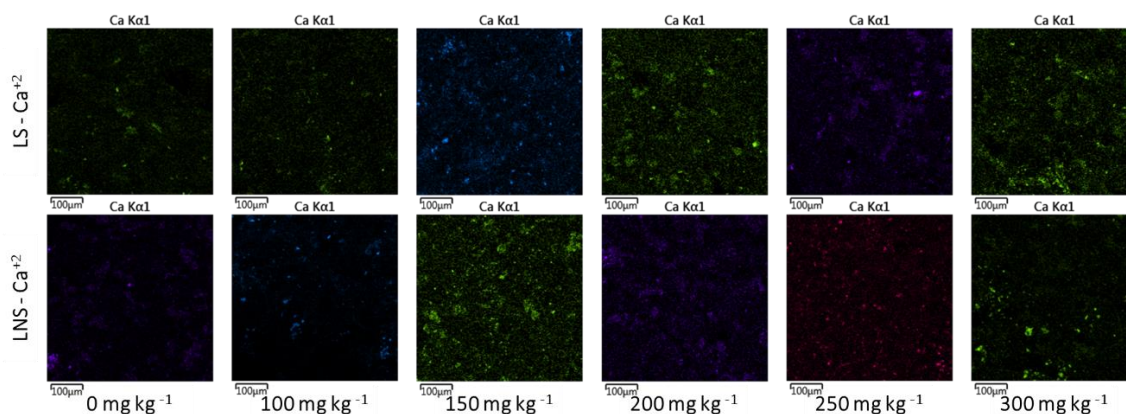


Figura 63 - Mapas de distribuição de Ca, obtidas com auxílio de emissão de energia dispersiva de raio X (EDX), da superfície foliar de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb.

A DT apresentou diferença significativa ($p < 0,01$) para o fator dose, reduzindo 13,82 unidade de tricomas por mm^2 , chegando a reduzir 28% na maior dose de Pb estudada (300 mg kg^{-1}) em relação as plantas controle (**Figura 64**).

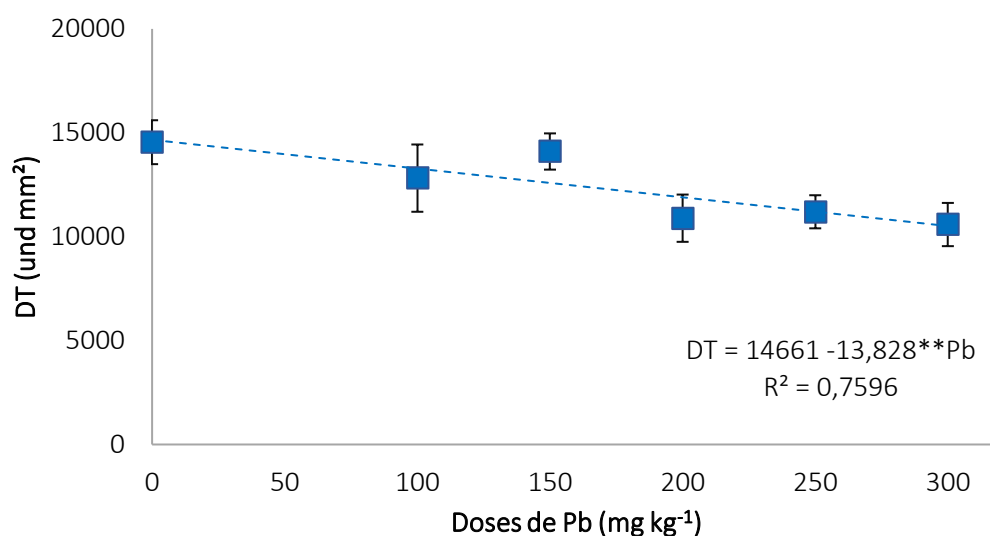


Figura 64 - Densidade de Tricomas (DT) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisso de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).

O aumento na densidade dos tricomas vesiculares estão normalmente associados a presença de salinidade no ambiente de cultivo, devido principalmente aos íons de Na^+ e Cl^- . Porém, nesta pesquisa não houve diferença estatística entre as características de presença e ausência de salinidade, podendo este comportamento está relacionado a outra interação ainda não estudada. Ademais, o incremento das doses de Pb, reduziram a DT,

induzindo a uma possível relação entre sua presença no ambiente de cultivo e estas estruturas.

3.1.5.3. Teor de Sódio (Na^+_{VES}), Cloro (Cl^-_{VES}), Potássio (K^+_{VES}) e Chumbo (Pb_{VES}) na Vesícula

O teor de Na^+_{VES} apresentou diferença significativa ($p < 0,01$) para os fatores dose e solo, exibindo comportamento linear decrescente com o incremento das doses de Pb, reduzindo 45% na maior dose (300 mg kg^{-1}) em relação as plantas sem adição de Pb (Figura 65).

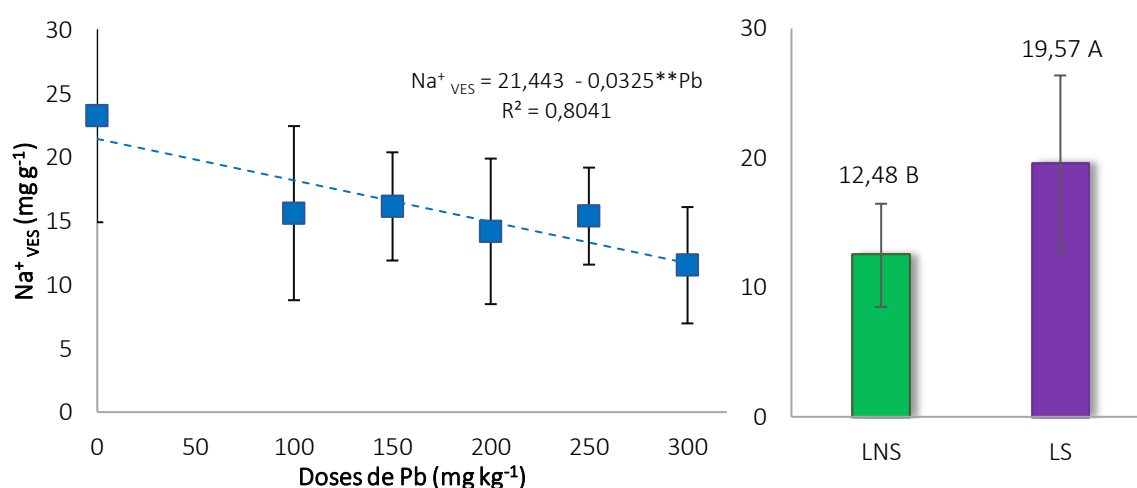


Figura 65 - Teor de Sódio nas vesículas (Na^+_{VES}) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisolo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$). As médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

Em relação ao fator solo, as plantas cultivadas no LS apresentou acúmulos de Na^+_{VES} 36% maior que as plantas do LNS (Figura 65). Da mesma forma que a DT, com o incremento das doses de Pb, o teor de Na^+_{VES} apresentou mesmo comportamento decrescente sugerindo que a presença do íon está relacionada com a densidade das glândulas epidérmicas.

O teor de Cl^-_{VES} apresentou diferença significativa ($p < 0,01$) apenas para o fator solo, no qual as plantas cultivadas em LS exibiu acúmulos 33% maior que as plantas do LNS (Figura 66 A).

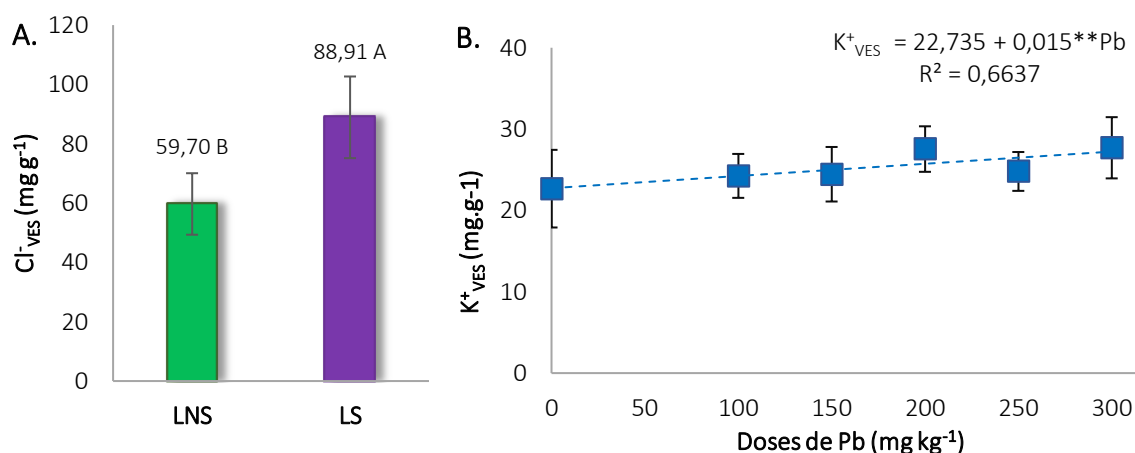


Figura 66 – (A) Teor de Cloro (Cl^-_{VES}) e (B) Potássio na vesícula (K^+_{VES}) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em Luvisolo de caráter salino (LS) e não salino (LNS) contaminado com doses crescentes de Pb. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$). As médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

Já o teor de K^+_{VES} apresentou diferença significativa ($p < 0,01$) apenas para o fator dose, exibindo crescimento linear com o incremento das dose de Pb, aumentando 16% do K^+_{VES} nas plantas cultivadas na dose de 300 mg kg^{-1} de Pb em relação aquelas sem adição do metal (**Figura 66 B**).

Não foi detectado acúmulo de Pb nas vesículas de *A. nummularia* Lindl. em nenhuma dose de Pb estudada, ou solo de caráter salino e não salino. Portanto, não houve exclusão do Pb nas vesículas epidérmicas, sugerindo uma seletividade destas estruturas referente ao elemento, visto que houve acúmulos significativos no seu tecido vegetal.

A retenção de íons nas glândulas de sal, alivia o acúmulo de sal nas células do mesofilo além de resultar em uma maior capacidade de absorção de água nas células exibindo folhas suculentas em ambientes salinos (Yuan *et al.*, 2016).

Nesta pesquisa, observou-se que as houera maior acúmulo no teor de Na^+_{VES} e Cl^-_{VES} nas plantas cultivadas em LS, porém curiosamente, com o incremento das concentrações de Pb esse acúmulo foi reduzido, dando espaço ao K^+_{VES} .

Guo *et al.*, (2020), estudando a resposta da *A. canescens* ao estresse hídrico, descobriram que a contribuição de K^+ para o Ψ_s é 9 e 7 vezes maior que a contribuição correspondente de Na^+ sob condições de controle e de seca, respectivamente, relatado ainda que o K^+_{VES} contribui para a ajuste osmótico e consequentemente tolerar o estresse hídrico.

O K^+ é um macronutriente essencial que participa de múltiplos processos fisiológicos e bioquímicos nas células vegetais (Martineau *et al.*, 2017), desta forma,

nesta pesquisa, com o aumento da concentração de Pb e a exclusão K^+ nas plantas de *A. nummularia* Lindl. indica que o Na^+ desempenhou um papel mais importante que o K^+ no interior da célula, auxiliando nos processos metabólicos e bom desenvolvimento da espécie.

3.2 Avaliações do Experimento II

3.2.1. Dose de Pb escolhida e Condutividade Elétrica do Extrato de Saturação Final

Com base nos valores de BMS_{PA} das plantas cultivadas no LS, observadas no EXP I, verificando que o incremento das doses de Pb aumentou a BMS_{PA} , cerca de 22% mais que aquelas cultivadas na ausência de Pb, optou-se por conduzir o EXP II com a dose de 300 $mg\ kg^{-1}$ de Pb. Portanto o solo de todos os tratamentos foi contaminado com 300 $mg\ kg^{-1}$ de Pb e a irrigação se deu com concentrações crescentes de NaCl.

A Condutividade Elétrica do Extrato de Saturação (CE_{ES}) Final, dos solos contaminado com 300 $mg\ kg^{-1}$ de Pb e concentrações crescente de NaCl, apresentaram diferença significativa ($p < 0,01$) com o incremento das concentrações apresentando CE_{ES} de 17, 20, 24, 28 e 31 $dS\ m^{-1}$ nas concentrações da água de irrigação de 0, 50, 100, 150 e 200 $mmol\ L^{-1}$ de NaCl respectivamente (**Figura 67**).

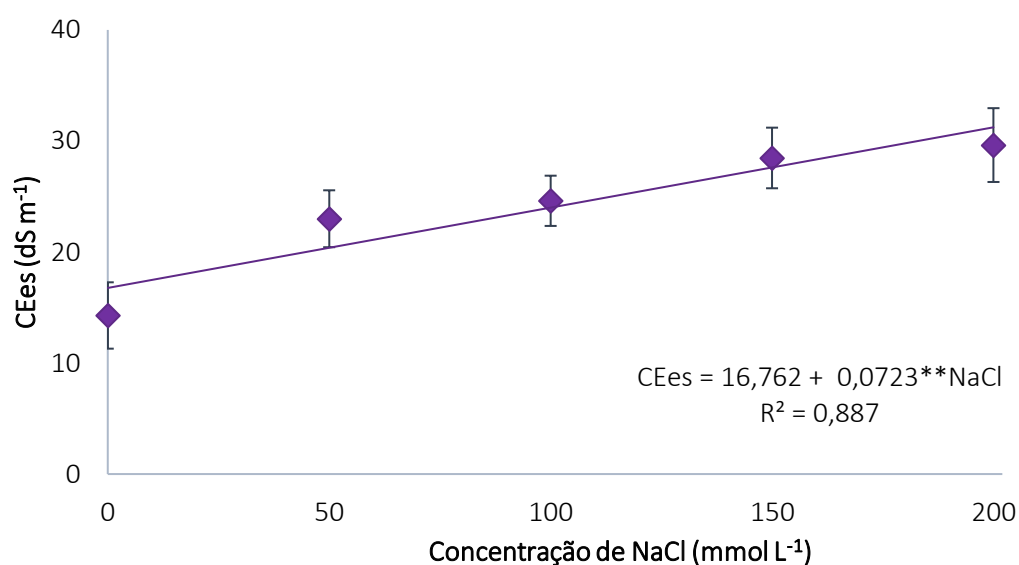


Figura 67 - Condutividade Elétrica Final do Extrato de Saturação (CE_{es}) do Luvisso de caráter salino (LS) utilizado no cultivo de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 300 $mg\ kg^{-1}$ de Pb e irrigada com concentrações crescentes de NaCl.

3.2.2. Biomassa fresca (BMF_{PA}) e seca (BMS_{PA}) da parte aérea, Área foliar (AF) e Biomassa fresca (BMF_R) e seca (BMS_R) da raiz

De maneira geral, as plantas do EXP II sobreviveram até o final do experimento, exibindo visualmente uma redução da sua altura e biomassa com o incremento das doses de NaCl, sem sintomas de toxidez (**Figura 68**).

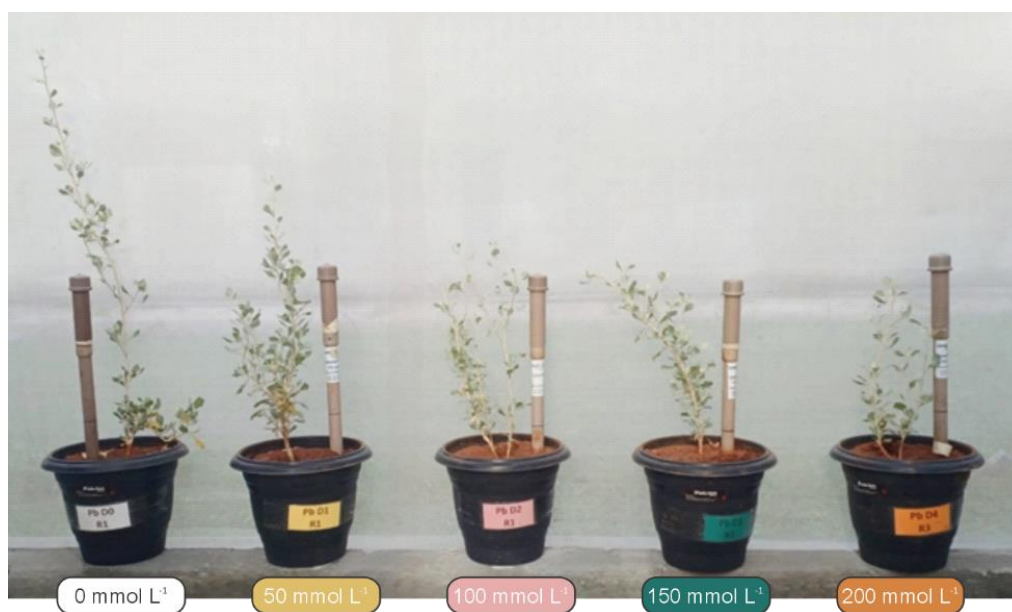


Figura 68 – Plantas de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 300 mg kg⁻¹ de Pb e irrigada com concentrações crescentes de NaCl.

A BMF_{PA} apresentou diferença significativa ($p < 0,01$) com o incremento das concentrações de NaCl, reduzindo 51% da biomassa na última concentração (200 mmol L⁻¹) em relação as plantas sem adição de NaCl na água de irrigação (**Figura 69**).

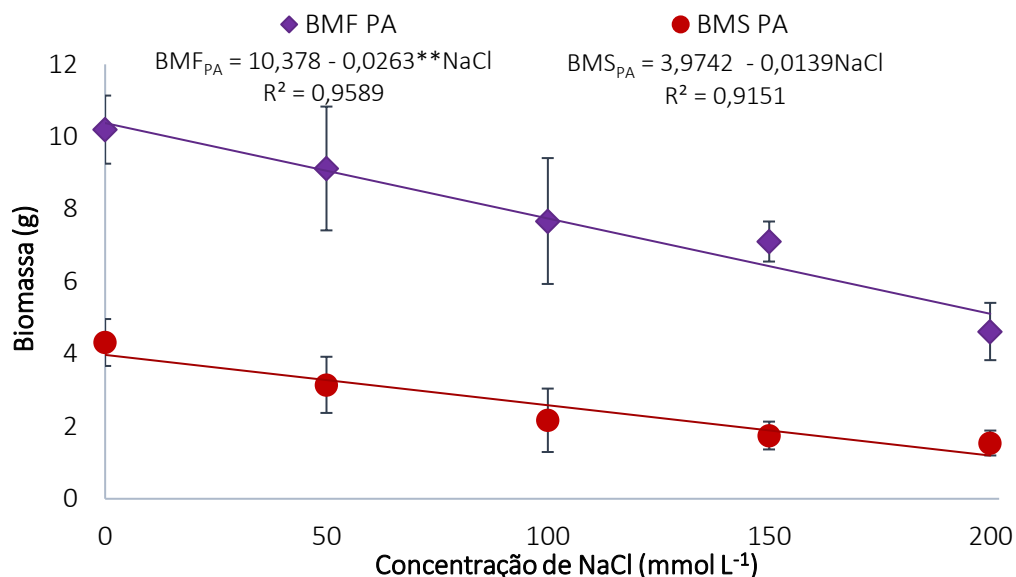


Figura 69 - (A) Biomassa fresca da parte aérea (BMF_{PA}) e (B) Biomassa seca da parte aérea (BMS_{PA}) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 300 mg kg⁻¹ de Pb e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** (p ≤ 0,01) e * (p ≤ 0,05)

A BMS_{PA} também apresentou diferença significativa (p < 0,01) com o incremento das concentrações de NaCl, reduzindo 70% da BMS_{PA} na concentração de 200 mmol L⁻¹ em relação as plantas sem adição de NaCl na água de irrigação (**Figura 69**). Não houve diferença significativa (p > 0,05) para a variável área foliar (AF).

Para as raízes, tanto a BMF_R quando a BMS_R não apresentou diferença significativa (p > 0,05) com o incremento das concentrações de NaCl, indicando a capacidade da espécie em manter a absorção de água e nutrientes.

A *A. nummularia* Lindl. é conhecida por aumentar sua biomassa na presença de NaCl. Geissler *et al.*, (2015) verificaram que a espécie exibiu crescimento ótimo e aumento da biomassa entre 100 e 300 mmol de NaCl. Benzarti *et al.* (2014) também observaram que a *A. portulacoides* apresentou maior crescimento na concentração de 200 mmol de NaCl.

Além disso, Bankaji *et al.*, (2019) avaliando a espécie *A. halimus*, em condições hidropônicas, verificaram que mesmo com aplicação de 600 µmol de Pb isoladamente a solução nutritiva ou em combinação com 200 mmol de NaCl, o crescimento da espécie não foi alterado.

Nesta pesquisa, mesmo as plantas não apresentando sintomas visíveis de toxidez por chumbo, observou-se que a contaminação simultânea (metal + salinidade) restringiu o crescimento, entretanto não verificou-se redução da AF, inferindo que as plantas mantiveram sua área para bom desempenho das trocas gasosas.

É importante salientar que o solo o qual a *A. nummularia* foi cultivada já apresentava uma salinidade inicial de $\approx 14 \text{ dS m}^{-1}$, e a irrigação com crescentes soluções de NaCl, aumentaram substancialmente a salinidade do solo, chegando a aproximadamente 30 dS m^{-1} conforme apresentado na **Figura 67**.

English e Colmer, (2013) relatam que espécies halófitas podem ser mais susceptíveis à salinidade na fase de muda em comparação à maturidade, já que plantas maduras possuem raiz mais larga auxiliando na absorção e eficiência no uso da água em condições de alto teor de sal. Assim, talvez a idade das plantas de *Atriplex*, utilizadas nessa pesquisa (2 meses) tenham sido um fator limitante ao bom desenvolvimento no ambiente contaminado.

3.2.3. Avaliações das Relações Hídricas

3.2.3.1. Potencial Hídrico Foliar (Ψ_w), Potencial Osmótico (Ψ_o) e Potencial de Pressão (Ψ_p)

O Ψ_w e Ψ_o não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) com o incremento das concentrações de NaCl, apenas o Ψ_p foi significativo ($p < 0,01$) com comportamento linear crescente aumentando 23% o Ψ_p nas plantas irrigadas com a última concentração estudada (200 mmol L^{-1}) em relação ao controle (**Figura 70**).

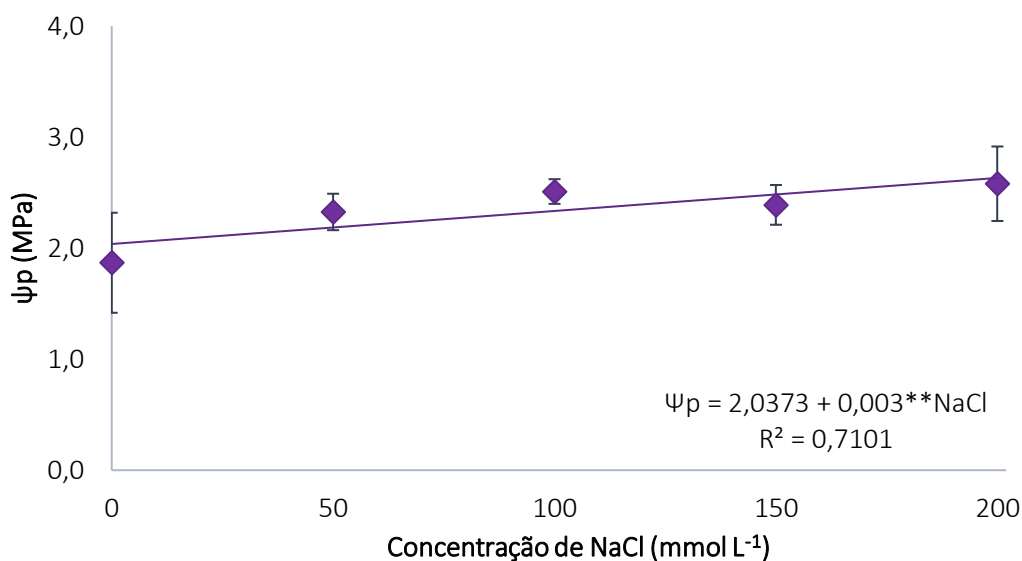


Figura 70 – Potencial de pressão (ψ_p) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 300 mg kg^{-1} de Pb e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).

Ainda dentro das relações hídricas avaliadas, não foram observadas diferenças significativas ($p>0,05$) também para as variáveis de teor relativo de água (TRA) e suculência foliar (SF).

O aumento do Ψ_p com o incremento da concentração de NaCl, sem apresentar reduções significativas do Ψ_w ou Ψ_o , pode ser resultado distúrbios na parede celular vegetal.

Bankaji *et al.*, (2019) avaliando a *A. halimus* cultivadas em condições hidropônicas na presença de diferentes doses de Pb, na presença e ausência de salinidade, verificaram uma redução significativa no teor relativo de água e sugerindo que a perturbação induzida pelo metal no estado da água estava ligada à toxicidade iônica e não ao ambiente osmótico.

Além disso, alguns estudos relatam o aumento de solutos compatíveis principalmente de prolina nas plantas cultivadas em ambientes contaminados por chumbo. Relatando que as melhorias fisiológicas das plantas pareciam estar relacionadas aos níveis mais elevados de produção de prolina (Singh *et al.*, 2015; Ullah *et al.*, 2019; Chaturvedi *et al.*, 2019; Spormann *et al.*, 2023).

Assim, as respostas sob as relações hídricas encontradas nesta pesquisa, podem também ser resposta de uma toxicidade do Pb sob as plantas de *A. nummularia* Lindl., e o incremento osmótico das soluções de irrigação possivelmente não conseguiram ser acessados pela espécie.

3.2.3.2. Parâmetros da Curva Pressão Volume (Curva PV)

Os parâmetros da Curva PV em relação ao potencial osmótico também não apresentaram diferença significativa, apenas o ϵ apresentou diferença estatística ($p<0,01$) com o aumento das concentrações de NaCl, exibindo comportamento quadrático com maior ϵ de 72,63 MPa, na dose de 145,53 mmol L⁻¹ (**Figura 71**).

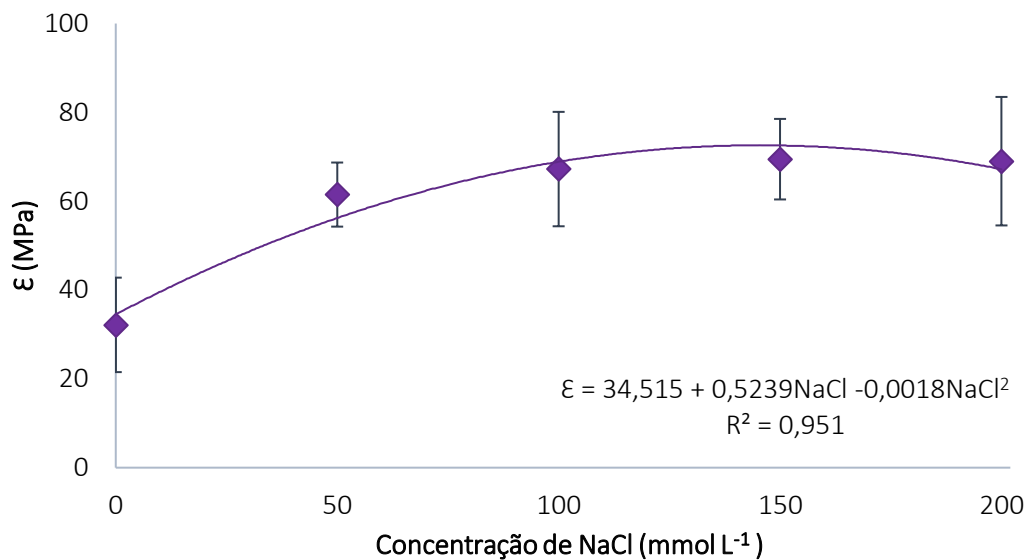


Figura 71 – Módulo de Elasticidade (ϵ) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 300 mg.kg⁻¹ de Pb e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)

Benzarti *et al.*, (2014) avaliando a *A. portulacoides* sob crescentes doses de NaCl verificaram o aumento do ϵ com o incremento da salinidade, relatando que em espécies que acumulam concentrações altas de solutos, uma parede celular rígida mantém a integridade celular e auxilia na manutenção de um Ψ_w mais baixo em qualquer volume.

Diante disto, as plantas que se desenvolve em ambiente salino, respondem diminuindo o Ψ_o e aumentando o ϵ , reduzindo o Ψ_w e aumentando o fluxo de água sem gerar grandes perdas do conteúdo relativo de água (Touchette *et al.*, 2009).

Neste estudo, observou-se que o ϵ apresentou aumentos com o incremento da concentração de NaCl, porém a partir da dose de 145,53 mmol L⁻¹ a parede celular voltou a ficar mais elástica com o incremento das doses, como se o sal não fizesse mais esse efeito de enrijecimento da parede celular relatado na literatura, validando ainda a hipótese de que o incremento osmótico das soluções de irrigação possivelmente não foi acessado pela *A. nummularia* Lindl.

Além disso, a presença do Pb também pode reduzir a plasticidade da parede celular vegetal com o aumento das concentrações de osmólitos, principalmente a prolina, acentuando a influência do Pb na pressão do turgor (Pourrut *et al.*, 2011).

3.2.4 Avaliações fotossintéticas

3.2.4.1 Trocas Gasosas foliares

A fotossíntese líquida (A) apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) com o aumento das concentrações de NaCl, exibindo comportamento linear decrescente, com redução de 37% entre as plantas controle e as irrigadas com 200mmol L^{-1} de NaCl (**Figura 72 A**).

A condutância estomática (gs) apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) com o incremento das concentrações do sal, exibindo comportamento linear decrescente, reduzindo 44% nas irrigadas com 200mmol L^{-1} de NaCl em relação ao controle (**Figura 72 B**).

Da mesma forma, a transpiração (E) apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) com o aumento das concentrações de NaCl, exibindo comportamento linear, com redução de 54% nas irrigadas com 200mmol L^{-1} de NaCl em relação as plantas controle (**Figura 72 C**).

A eficiência do uso da água EUA também não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) com o incremento das concentrações de NaCl, exibindo média 0,53 (**Figura 72 D**).

Como relatado anteriormente, a *A. nummularia* Lindl. costuma apresentar bom desempenho quando cultivada entre as doses de 100 a 300mmol de NaCl (Hassine; Lutts, 2010; Rangani *et al*, 2016; Melo *et al.*, 2018; Parvez *et al.*, 2020). Entretanto, quando cultivada com 300mg kg^{-1} de Pb, conforme esta pesquisa, mesmo não mostrando sinais visíveis de toxidez, as trocas gasosas avaliadas apresentaram uma significativa redução com o incremento das concentrações de NaCl.

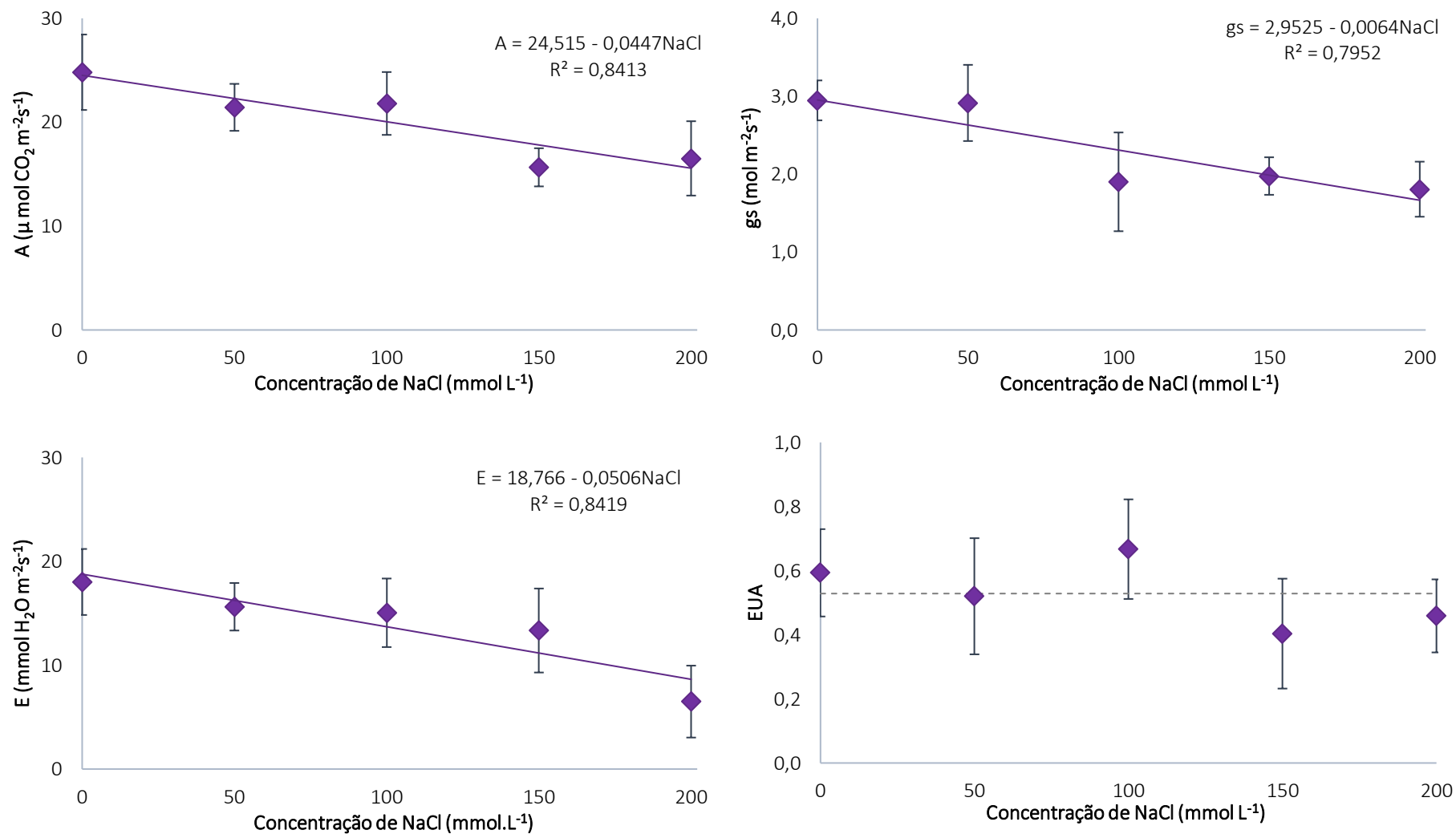


Figura 72 – Trocas gasosas foliares, (A) Fotossíntese líquida (A), (B) condutância estomática (gs), (C) transpiração (E), e (D) eficiência do uso da água (EUA). *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 300 mg kg⁻¹ de Pb e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$).

Além disso, a manutenção dos valores da EUA sugere que a espécie usou de seus mecanismos adaptativos para superação do estresse imposto, reduzindo a condutância estomática e consequentemente a transpiração, evitando a perda de água.

O excesso de NaCl pode afetar o desempenho fotossintético das plantas, e este resultado está relacionado a alterações na eficiência da maquinaria fotoquímica do fotossistema II (PSII) (Pérez-Romero *et al.*, 2020).

Entretanto, nesta pesquisa, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para as variáveis de fluorescência e pigmentos fotossintéticos, indicando a integridade e funcionalidade do aparato fotoquímico da *A. nummularia* Lindl. sob salinidade e 300mg kg⁻¹ de Pb. Ou seja, mesmo com as reduções de trocas gasosas e biomassa observadas a espécie foi capaz de adaptar-se e sobreviver as condições impostas.

3.2.5. Avaliações dos Solutos Inorgânicos

3.2.5.1. Teor de Sódio (Na⁺_{PA}), Cloro (Cl_{PA}), Potássio (K⁺_{PA}) e Cádmio (Cd_{PA}) na Parte Aérea, Teor de Cádmio (Cd_R) na Raiz e Fator de Translocação (FT)

O Na⁺_{PA} e Na⁺_{VES} apresentaram diferença significativa ($p < 0,01$) com o aumento da concentração de NaCl, exibindo comportamento linear crescente em ambas as variáveis, o acúmulo de Na⁺_{PA} nas plantas irrigadas com a maior concentração de NaCl chegou a 37,85 mg g⁻¹, 49% mais do que as plantas cultivadas sem adição de NaCl na água de irrigação (**Figura 73**).

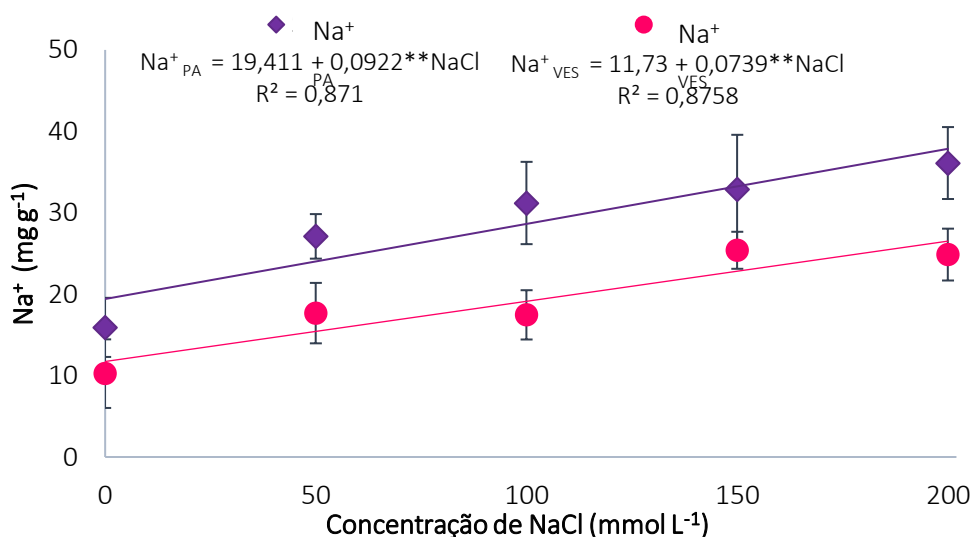


Figura 73 – Teor de sódio na vesícula (Na⁺_{VES}) e na parte aérea (Na⁺_{PA}) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 300 mg kg⁻¹ de Pb e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)

Da mesma forma, o teor de Na^+_{VES} apresentou um acúmulo de $26,52 \text{ mg g}^{-1}$ nas plantas irrigadas com a maior concentração de NaCl^{-1} , acumulando 58% mais do que as plantas controle. Não observou-se diferença significativa ($p > 0,05$) para os teores de K^+ e Cl^- , nas vesículas ou parte aérea.

Observou-se também uma correlação positiva significativa entre o teor de Na^+ ($r = 0,90$) na parte aérea e vesícula, e que aproximadamente 33% do teor de Na^+ foi excluído na vesícula (**Figura 74**), indicando que o aumento do teor de Na^+ na parte aérea foi influenciado pela maior exclusão do íon nas vesículas.

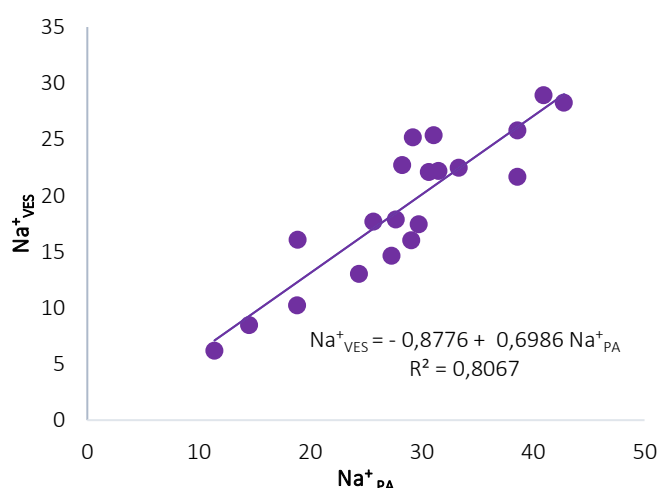


Figura 74 - Correlação entre Teor de Sódio (Na^+_{PA}) Parte Aérea e Vesícula (Na^+_{VES}) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 300 mg.kg^{-1} de Pb e irrigada com concentrações crescentes de NaCl.

Benzarti et al. (2014) estudando o efeito da alta salinidade em *A. portulacoides*, verificaram que à medida que a concentração de sal aumentou, aumentou-se também a captura de Na^+ nos tecidos vegetais da espécie, relatando ainda que o Na^+ e o Cl^- contribuíram em até 80% para Ψ_o na concentração de 1000 mmol de NaCl.

Nesta pesquisa, não observou-se a influência dos íons acima citados no Ψ_o , mesmo com o incremento de NaCl. Apesar disso, foi constatado o aumento dos teores de Na^+ nos tecidos vegetais da *A. nummularia*, porém os teores de Cl^- não sofreram alterações.

Os íons cloreto pode ser considerados um ligante seletivo para metais pesados Usman et al., (2005), mostraram que a salinidade do NaCl causou grande diminuição nas proporções de $\text{Pb}^{2+} / \text{Pb}_T$ e aumento nas proporções $\text{PbCl}^+ / \text{Pb}_T$ apresentando aumento da porcentagem estimada de PbCl^+ de 2% para 29%.

Desta forma, nesta pesquisa, o Cl, assim como o Pb pode ter reduzido a disponibilidade pela sua precipitação como PbCl.

O teor de Pb_{PA}, apresentou diferença significativa (p<0,05) com o incremento das doses de NaCl, exibindo comportamento quadrático com valor de maior acúmulo de 38,59mg.kg⁻¹ na dose de 47,2 mg.kg⁻¹ de Pb (**Figura 75**)

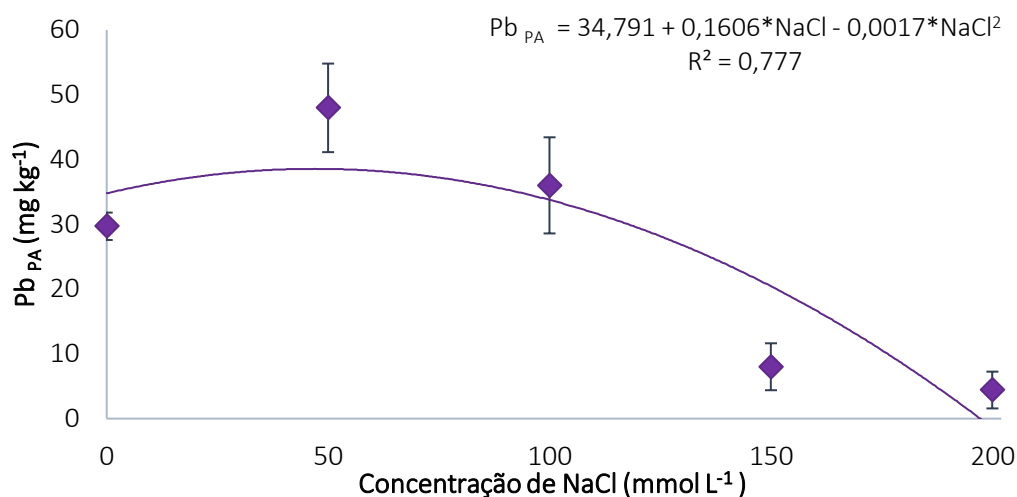


Figura 75 – Teor de Chumbo na Parte Aérea (Pb_{PA}) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 300 mg.kg⁻¹ de Pb e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** (p ≤ 0,01) e * (p ≤ 0,05).

O teor de Pb_R, apresentou diferença significativa (p<0,05) com o incremento das doses de NaCl, exibindo comportamento quadrático com valor de maior acúmulo de 7,23 mg.kg⁻¹ na dose de 48,5 mg.kg⁻¹ de Pb (**Figura 76**).

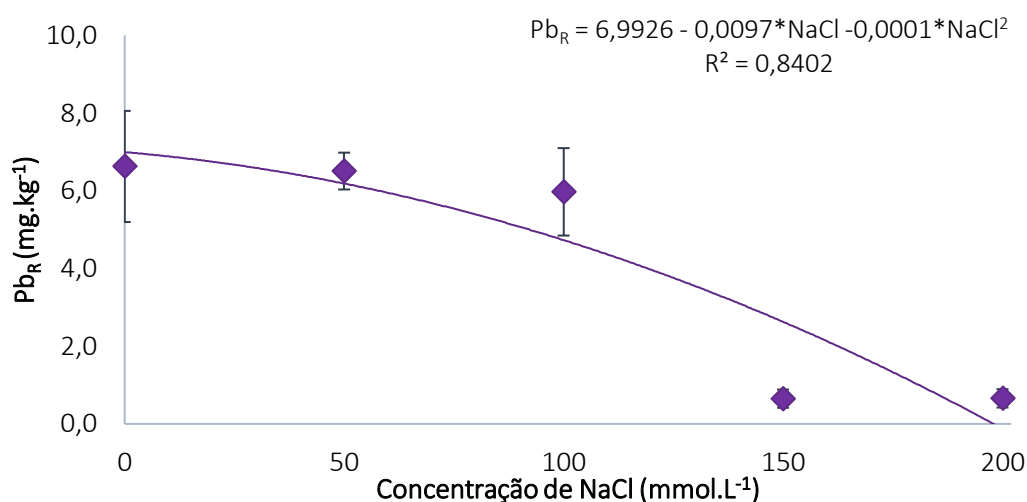


Figura 76 - Teor de Chumbo na Raiz (Pb_R) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 300 mg.kg⁻¹ de Pb e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** (p ≤ 0,01) e * (p ≤ 0,05)

Nesta pesquisa, verificou-se que aumento das concentrações de NaCl influenciaram na absorção de Pb, reduzindo de acúmulo do metal com o incremento das concentrações.

Ouaini *et al.*, 2023 estudando a *A. canescens*, em condições semi-hidropônica, verificaram que 500mmol L⁻¹ de NaCl combinado com 800, 1.600 e 2.400 ppm de Pb, estimulou o acúmulo do metal na raiz, com teores de 8, 12 e 15mg kg⁻¹ respectivamente.

Manousaki e Kalogerakis, (2009), estudando a *A. halimus*, relatam que a salinidade não influenciou de forma clara a absorção de Pb e atribuíram isto a baixa mobilidade do elemento no solo e tecidos vegetais, por ser extremamente insolúvel na faixa normal de o pH do solo e sua translocação limitada por ligação nas superfícies das raízes e nas paredes celulares.

Divergindo do estudo citado acima, nesta pesquisa observou-se que a salinidade apresentou a capacidade de aumentar a translocação de Pb para a parte aérea conforme observado nos valores de FT.

O FT apresentou dados muito maiores que 1, faixa de FT que indica que a espécie é apta para fitoextração. Nesta pesquisa, a *A. nummularia* Lindl. na presença de doses crescentes de salinidade apresentou alta aptidão a fitoextração de Pb (**Figura 77**).

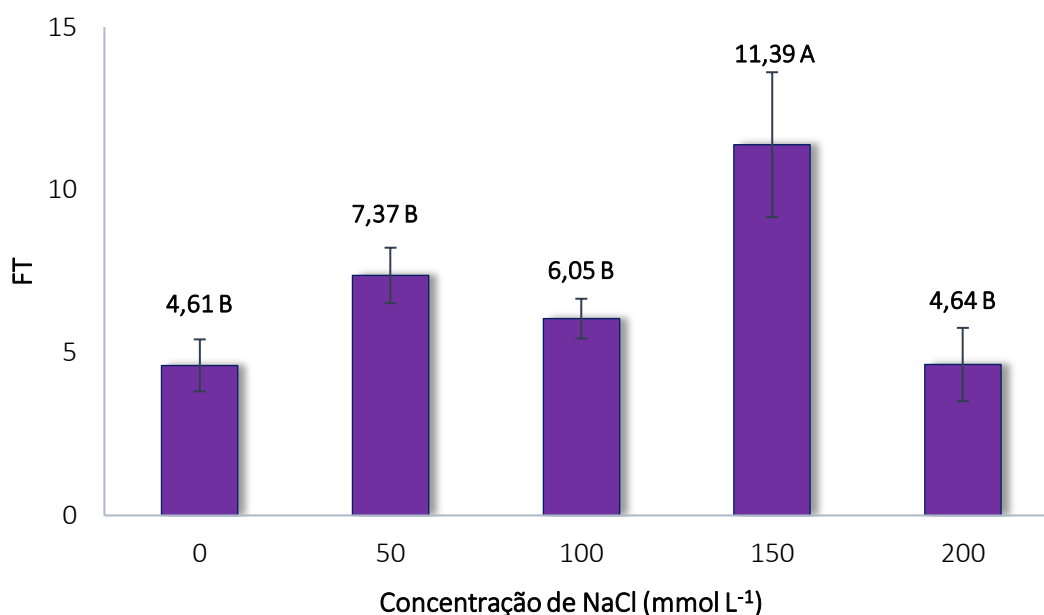


Figura 77 – Fator de translocação (FT) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com 300 mg kg⁻¹ de Pb e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** (p ≤ 0,01) e * (p ≤ 0,05)

Manousaki et al. (2008) avaliando a halófito *Tamarix smyrnensis*, relatam que a salinidade demonstra ser um fator chave na translocação de metais das raízes para as

partes aéreas das plantas, atribuindo ainda a capacidade excretar o excesso de metais na superfície da folha como um possível mecanismo de desintoxicação auxiliado pela salinidade.

Conforme relatado anteriormente a presença de cloreto no ambiente de cultivo, apresenta-se como um ligante capaz de se combinar-se com o Pb para formar complexos inorgânicos como o $PbCl_2$. Atrelado a isto sugere-se que o movimento ascendente do composto através do xilema, pode ser facilitado devido à sua menor troca catiônica, sendo facilmente transportados através do xilema para a parte aérea, em vez de serem retidos nas raízes (Xiong e Feng, 2001).

3.2.6. Caracterização e Densidade de Tricomas (DT)

A DT das plantas de *A. nummularia* Lindl. apresentou diferença significativa ($p < 0,01$), aumentando 25,23 unidade de tricomas por mm^2 , com densidade 37% maior na concentração de $200 mmol.L^{-1}$ NaCl em relação as plantas controle (Figura 78).

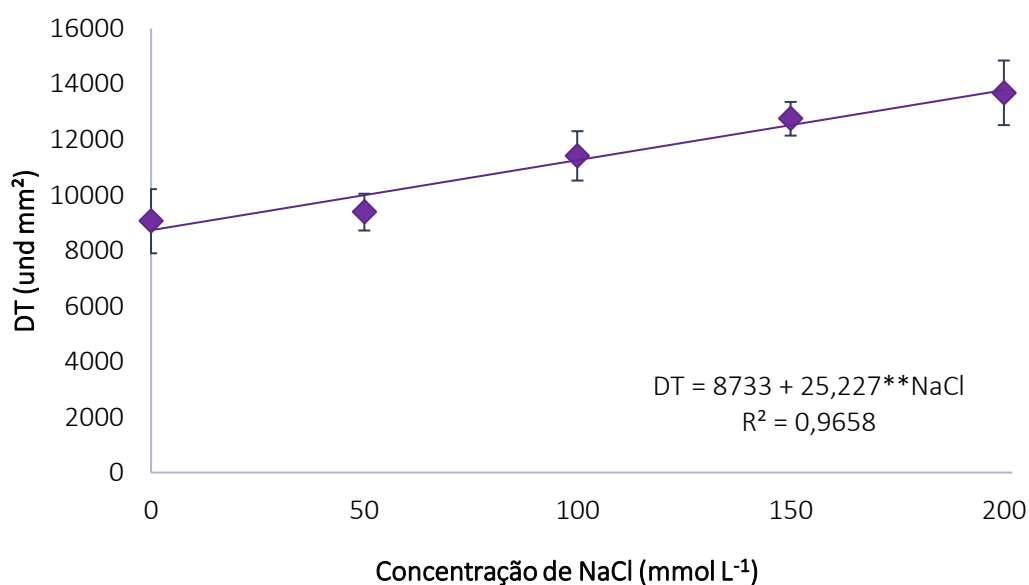


Figura 78 – Densidade de Tricomas (DT) de *A. nummularia* Lindl. cultivada em solo contaminado com $300 mg kg^{-1}$ de Pb e irrigada com concentrações crescentes de NaCl. Significância dos coeficientes de regressão: ** ($p \leq 0,01$) e * ($p \leq 0,05$)

O aumento da densidade de tricomas na espécie com o aumento da concentração de NaCl na água de irrigação é observada também por Paulino et al. (2020).

Além disso, observou-se, nesta pesquisa, que a dose de Pb escolhida não influenciou no comportamento da DT e que esta deve estar atrelada a presença de Na^+ na parte aérea que também apresentou comportamento linear crescente com o incremento das concentrações de NaCl, tanto para parte aérea quanto na vesícula.

4. CONCLUSÕES

A *A. nummularia* Lindl. conseguiu sobreviver até o final dos experimentos e acumulou Pb nos tecidos vegetais.

A espécie apresentou potencial para programas de fitoextração em todos os tratamentos aplicados, principalmente nas plantas cultivadas na presença de salinidade.

Os tricomas vesiculares não foram capazes de excluir o Pb em suas estruturas em nenhuma combinação dos tratamentos estudados. Além disso, a exclusão de K^+ foi maior nessas estruturas do que o Na^+ com o incremento das doses de Pb, indicando que o Na^+ desempenhou um papel mais importante no interior da célula.

Com o aumento da concentração de Pb, o K^+ nas plantas de *A. nummularia* parece desempenhar um papel mais importante que o Na^+ auxiliando nos processos metabólicos e bom desenvolvimento da espécie.

As crescentes doses de NaCl combinadas com 300mg kg^{-1} de Pb estimularam a densidade de tricomas vesiculares, porém reduziram a biomassa, juntamente com as trocas gasosas podendo este resultado ser atribuído a potencial toxidez causada pelo Pb.

Além disso, a avaliação das relações hídricas, parece demonstrar uma maior contribuição de solutos compatíveis na tolerância da espécie ao Pb do que a presença dos íons inorgânicos.

5. REFERÊNCIAS

- ACOSTA, J. A. et al. Phytoremediation of mine tailings with *Atriplex halimus* and organic/inorganic amendments: A five-year field case study. **Chemosphere**, v. 204, p. 71–78, 2018. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.04.027>>.
- KUSHWAHA, A. et al. A critical review on speciation, mobilization and toxicity of lead in soil-microbe-plant system and bioremediation strategies. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 147, p. 1035–1045, 2018. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.09.049>>.
- AUDET, P.; CHAREST, C. Heavy metal phytoremediation from a meta-analytical perspective. **Environmental Pollution**, v. 147, n. 1, p. 231-237, 2007. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.08.011>>.
- BALAKHNINA, T. I.; NADEZHKINA, E. S. Effect of selenium on growth and antioxidant capacity of *Triticum aestivum* L. during development of lead-induced oxidative stress. **Russian Journal of Plant Physiology**, 2017, 64: 215-223. DOI: <<https://doi.org/10.1134/S1021443717010022>>.
- BANKAJI, M. et al. Accumulation potential of *Atriplex halimus* to zinc and lead combined with NaCl: Effects on physiological parameters and antioxidant enzymes activities. **South African Journal of Botany**, v. 123, p. 51–61, 2019. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.02.011>>.
- BENZARTI M. et al. Effect of high salinity on *Atriplex portulacoides*: Growth, leaf water relations and solute accumulation in relation with osmotic adjustment. **South African Journal of Botany**, v. 95, p. 70–77, 2014. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2014.08.009>>.
- CANDAR, S. et al. Variations of chlorophyll, proline, and abscisic acid (aba) contents in grapevines (*Vitis Vinifera* L.) Under water deficit conditions. **Erwerbs-Obstbau**, v. 65, n. 6, p. 1965-1977, 2023. DOI: <<https://doi.org/10.1007/s10341-023-00875-y>>.
- CHATURVEDI, R. et al. EDTA-assisted metal uptake in *Raphanus sativus* L. and *Brassica oleracea* L.: Assessment of toxicity and food safety. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 2019, 103: 490-495. DOI: <<https://doi.org/10.1007/s00128-019-02651-9>>.
- DE SOUZA, E. R. et al. Biomass, anatomical changes and osmotic potential in *Atriplex nummularia* Lindl. cultivated in sodic saline soil under water stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 82, p. 20-27, 2012. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.03.007>>.
- DE SOUZA, E. R. et al. Fitoextração de sais pela *Atriplex nummularia* Lindl. sob estresse hídrico em solo salino sódico. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 5, 2011. DOI: <<https://doi.org/10.1590/S1415-43662011000500007>>.
- EISSA, M. A. Effect of sugarcane vinasse and EDTA on cadmium phytoextraction by two saltbush plants. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p. 10247-10254, 2016. DOI: <<https://doi.org/10.1007/s11356-016-6261-9>>.
- EMBRAPA. SUITA, L. A. Processamento de amostras para microscopia eletrônica de varredura. Embrapa Clima Temperado-Fôlder/Folheto/Cartilha (INFOTECA-E), 2002.

ENGLISH, J. P.; COLMER, T. D. Tolerance of extreme salinity in two stem-succulent halophytes (*Tecticornia* species). **Functional Plant Biology**, v. 40, n. 9, p. 897-912, 2013. DOI: <<https://doi.org/10.1071/FP12304>>.

GAMBETTA, G. A., et al. The physiology of drought stress in grapevine: towards an integrative definition of drought tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 71, n. 16, p. 4658-4676, 2020. DOI: <<https://doi.org/10.1093/jxb/eraa313>>.

GEISSLER, N. et al. Elevated atmospheric CO₂ concentration leads to different salt resistance mechanisms in a C₃ (*Chenopodium quinoa*) and a C₄ (*Atriplex nummularia*) halophyte. **Environmental and Experimental Botany**, v. 118, p. 67-77, 2015. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.06.003>>.

GUDA, M. A.; MUTALG, N. H.; KADHIM, K. The potential use of *Atriplex nummularia* plant as contamination indicators of heavy metal in different soils. 2018.

GUO, H. et al. Sodium chloride facilitates the secretohalophyte *Atriplex canescens* adaptation to drought stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 150, p. 99-108, 2020. DOI: <<https://doi.org.ez19.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.plaphy.2020.02.018>>.

HASSINE, A. B.; LUTTS, S. Differential responses of saltbush *Atriplex halimus* L. exposed to salinity and water stress in relation to senescing hormones abscisic acid and ethylene. **Journal of Plant Physiology**, v. 167, n. 17, p. 1448-1456, 2010. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.05.017>>.

HESSINI, K., et al. How Does Salinity Duration Affect Growth and Productivity of Cultivated Barley? **Agronomy Journal**, v. 107, n. 1, p. 174-180, 2015. DOI: <<https://doi.org/10.2134/agronj14.0281>>.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. Circular. California Agricultural Experiment Station, v. 347, n. 2, 1950. 32 p.

IEVINSH, G. Phytoremediation of Lead: From Fundamentals to Application. In: **Lead Toxicity: Challenges and Solution**, 2023, p. 91-116. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-031-37327-5_5>.

KACHOUT, S. S. et al. Potential of halophytic plant *Atriplex hortensis* for phytoremediation of metal-contaminated soils in the mine of Tamra. **Soil and Sediment Contamination: An International Journal**, v. 33, n. 2, p. 139-154, 2023. DOI: <<https://doi.org/10.1080/15320383.2023.2185469>>.

LAGHLIMI, M. et al. Influence of compost and chemical fertilizer on multi-metal contaminated mine tailings phytostabilization by *Atriplex nummularia*. **Ecological Engineering & Environmental Technology**, v. 23, n. 6, p. 204-215, 2022. DOI: <<https://doi.org/10.12912/27197050/152915>>.

LINS, C. M. T. et al. Pressure-volume (P-V) curves in *Atriplex nummularia* Lindl. for evaluation of osmotic adjustment and water status under saline conditions. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 124, p. 155-159, 2018. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.01.014>>.

MANOUSAKI, E. et al. Phytoextraction and phytoexcretion of Cd by the leaves of *Tamarix smyrnensis* growing on contaminated non-saline and saline soils. **Environmental Research**, v. 106, n. 3, p. 326-332, 2008. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.envres.2007.04.004>>.

MANOUSAKI, E.; KALOGERAKIS, N. Phytoextraction of Pb and Cd by the Mediterranean saltbush (*Atriplex halimus* L.): metal uptake in relation to salinity. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 16, p. 844–854, 2009. DOI: <<https://doi.org/10.1007/s11356-009-0224-3>>.

MARTINEAU, E. et al. The effects of potassium nutrition on water use in field-grown maize (*Zea mays* L.). **Environmental and Experimental Botany**, v. 134, p. 62-71, 2017. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2016.11.004>>.

MELO, H. F. et al. Water potential in soil and *Atriplex nummularia* (phytoremediator halophyte) under drought and salt stresses. **International Journal of Phytoremediation**, v. 20, n. 3, p. 249-255, 2018. DOI: <<https://doi.org/10.1080/15226514.2017.1374334>>.

MERZOUGUI, A. et al. Lead uptake, flavonoids, and proline relationship in *Atriplex nummularia* growing in a galena mining area. **Mediterranean Journal of Chemistry**, v. 12, n. 1, p. 11–18, 2022. DOI: <<http://dx.doi.org/10.13171/mjc0>>.

MENDEZ, M. O.; MAIER, R. M. Phytostabilization of mine tailings in arid and semiarid environments—An emerging remediation technology. **Environmental Health Perspectives**, v. 116, n. 3, p. 278-283, 2008. DOI: <<https://doi.org/10.1289/ehp.10608>>.

MOURA, E. S. R. et al. Phytoextraction of salts by *Atriplex Nummularia* Lindl. irrigated with reject brine under varying water availability. **International Journal of Phytoremediation**, v. 21, n. 9, p. 892-898, 2019. DOI: <<https://doi.org/10.1080/15226514.2019.1583633>>.

NAVABPOUR, S. et al. Lead-induced oxidative stress and role of antioxidant defense in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 26, p. 793-802, 2020. DOI: <10.1007/s12298-020-00777-3>.

ALIA, N. et al. Toxicity and bioaccumulation of heavy metals in spinach (*Spinacia oleracea*) grown in a controlled environment. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 12, n. 7, p. 7400-7416, 2015. DOI: <<https://doi.org/10.3390/ijerph120707400>>.

NIKALJE, G. C.; SUPRASANNA P. Coping With Metal Toxicity – Cues From Halophytes. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, 2018. DOI: <<https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00777>>.

OLADOYE, P. O.; OLOWE, O. M.; ASEMOLOYE, M. D. Phytoremediation technology and food security impacts of heavy metal contaminated soils: A review of literature. **Chemosphere**, v. 288, p. 132555, 2022. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132555>>.

OUAINI, A. et al. Influence of combined stress by salinity (NaCl) and heavy metals (Pb(NO₃)₂) on the proline, chlorophyll and lead accumulation in the tissues of the *Atriplex canescens* (Pursh) Nutt. **Agricultural Science and Technology**, v. 15, n. 2, p. 67–75, 2023. DOI: <10.15547/ast.2023.02.018>.

PAN, Y. et al. A fotossíntese, homeostase Na⁺/K⁺ e ajuste osmótico de *Atriplex canescens* em resposta à salinidade. **Fronteiras em Ciência das Plantas**, v. 7, p. 848, 2016.

PARVEZ, S. et al. Effect of salinity on physiological, biochemical and photostabilizing attributes of two genotypes of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) exposed to arsenic stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 187, p. 109814, 2020. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109814>>.

PAULINO, M. K. S. S. et al. Influence of vesicular trichomes of *Atriplex nummularia* on photosynthesis, osmotic adjustment, cell wall elasticity and enzymatic activity. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 155, p. 177-186, 2020. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.07.036>>.

PÉREZ-ESTEBAN, J. et al. Bioavailability and extraction of heavy metals from contaminated soil by *Atriplex halimus*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 88, p. 53–59, 2013. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2011.12.003>>.

PÉREZ-ROMERO, J. A. et al. Importance of physiological traits vulnerability in determine halophytes tolerance to salinity excess: a comparative assessment in *Atriplex halimus*. **Plants**, 2020, v. 9, n. 6, p. 690.

POURRUT, B. et al. Lead uptake, toxicity, and detoxification in plants. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 213, 2011, p. 113-136. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4419-9860-6_4>.

RANGANI, J. et al. Coordinated Changes in Antioxidative Enzymes Protect the Photosynthetic Machinery from Salinity Induced Oxidative Damage and Confer Salt Tolerance in an Extreme Halophyte *Salvadora persica* L. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 2016. DOI: <<https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00050>>.

SCHOLANDER, P. F. et al. Sap Pressure in Vascular Plants. **Science**, v. 148, n. 3668, p. 339–346, 1965. DOI: <<https://doi.org/10.1126/science.148.3668.339>>.

SHABALA, S. Learning from halophytes: physiological basis and strategies to improve abiotic stress tolerance in crops. **Annals of Botany**, v. 112, n. 7, p. 1209-1221, 2013. DOI: <<https://doi.org/10.1093/aob/mct205>>.

SHARMA, P.; DUBEY, R. S. Lead toxicity in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 17, p. 35-52, 2005.

SINGH, S. et al. Morpho-anatomical and biochemical adapting strategies of maize (*Zea mays* L.) seedlings against lead and chromium stresses. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 4, n. 3, p. 286-295, 2015. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2015.03.004>>.

SLAMA, I. et al. Diversity, distribution and roles of osmoprotective compounds accumulated in halophytes under abiotic stress. **Annals of Botany**, v. 115, n. 3, p. 433-447, 2015. DOI: <<https://doi.org/10.1093/aob/mcu239>>.

SLÓMKA, A. et al. The unusual property of the sand violet, *Viola rupestris*, to cope with heavy metal toxicity. **Flora**, v. 271, p. 151663, 2020. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.flora.2020.151663>>.

SOUZA, M. S. D. et al. Comparação de métodos de mensuração de área foliar para a cultura da melancia. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, p. 241-245, 2012. DOI: <<https://doi.org/10.1590/S1983-40632012000200016>>.

SPORMANN, S. et al. Accumulation of Proline in Plants under Contaminated Soils—Are We on the Same Page? **Antioxidants**, v. 12, n. 3, p. 666–666, 2023. DOI: <<https://doi.org/10.3390/antiox12030666>>.

TOUCHETTE, B. W. et al. Tolerance and avoidance: Two contrasting physiological responses to salt stress in mature marsh halophytes *Juncus roemerianus* Scheele and *Spartina alterniflora* Loisel. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 380, p. 106-112, 2009. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.jembe.2009.08.015>>.

TSUGAWA, S. et al. Elastic shell theory for plant cell wall stiffness reveals contributions of cell wall elasticity and turgor pressure in AFM measurement. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, 2022. DOI: <<https://doi.org/10.1038/s41598-022-16880-2>>.

TSUTSUMI, K. et al. Differential accumulation of glycinebetaine and choline monooxygenase in bladder hairs and lamina leaves of *Atriplex gmelini* under high salinity. **Journal of Plant Physiology**, v. 176, p. 101-107, 2015. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.12.009>>.

ULLAH, R. et al. Phytoremediation of Lead and Chromium Contaminated Soil Improves with the Endogenous Phenolics and Proline Production in *Parthenium*, *Cannabis*, *Euphorbia*, and *Rumex* Species. **Water, Air, and Soil Pollution/Water, Air & Soil Pollution**, v. 230, n. 2, 2019. DOI: <<https://doi.org/10.1007/s11270-019-4089-x>>.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. Method 3050B: Acid Digestion of Sludges, Sediments, and Soils, Revision 2. Washington DC, 1996.

USMAN, A. R. A.; KUZUYAKOV, Y.; STAHR, K. Effect of Immobilizing Substances and Salinity on Heavy Metals Availability to Wheat Grown on Sewage Sludge-Contaminated Soil. **Soil and Sediment Contamination: An International Journal**, v. 14, n. 4, p. 329–344, 2005. DOI: <<https://doi.org/10.1080/15320380590954051>>.

XIONG, Z. T.; FENG, T. Enhanced Accumulation of Lead in *Brassica pekinensis* by Soil-Applied Chloride Salts. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 67, p. 67–74, 2001. DOI: <<https://doi.org/10.1007/s001280092>>.

YI, H.; CHEN, Y.; ANDERSON, C. T. Turgor pressure change in stomatal guard cells arises from interactions between water influx and mechanical responses of their cell walls. **Quantitative Plant Biology**, v. 3, 2022. DOI: <<https://doi.org/10.1017/qpb.2022.8>>.

YUAN, F. et al. The transcriptome of NaCl-treated *Limonium bicolor* leaves reveals the genes controlling salt secretion of salt gland. **Plant Molecular Biology**, v. 91, n. 3, p. 241–256, 2016. DOI: <<https://doi.org/10.1007/s11103-016-0460-0>>.

ZHANG, S. et al. Strategy matters: Phytoremediation potential of native halophytes is jointly associated with their distinct salt tolerances. **Journal of Cleaner Production**, v. 425, p. 139060, 2023. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.139060>>.

COSIDERAÇÕES FINAIS

A *Atriplex nummularia* é vastamente conhecida pela fitorremediação de sais no solo, esta pesquisa mostrou que essa capacidade também é alcançada para metais pesados como o Cd e Pb, demonstrando um comportamento variável podendo fitoextrair ou fitoestabilizar a depender do ambiente de cultivo e tipo metal.

Estudos com a espécie, na fitorremediação de metais pesado no solo são escassos concentrado em cultivos hidropônicos, assim, a pesquisa abordou variáveis ainda não avaliadas nesta dinâmica, explorando respostas fisiológicas adaptativas da *A. nummularia*, além disso, verificou como a salinidade influencia neste processo.

A avaliação da fitorremediação da *A. nummularia* em diferentes concentrações salinas ainda não foi abordado na literatura, bem como a avaliação de suas relações hídricas e exclusão de íons metálicos em seus tricomas vesiculares nessas condições (solo + metal pesado + salinidade crescente), tornando esta pesquisa inédita e uma forte contribuição para o estado da arte.

Assim, com a pesquisa, a compreensão dos mecanismos adaptativos utilizados pela *A. nummularia* na tolerância e exclusão de metais pesados nos tricomas vesiculares, contribui na identificação de mais uma espécie de potencial fitorremediador em solos poluídos, e de mecanismos de tolerância ao metal aliado a salinidade, apresentando também subsídios para estudos futuros de melhoramento genético de plantas tolerantes.