

Capítulo 6

Impacto do excesso de cobre e zinco no solo sobre videiras e plantas de cobertura

Vítor Gabriel Ambrosini
Hilda Hildebrand Soriani
Daniel José Rosa
Tadeu Luis Tiecher
Eduardo Giroto
Daniela Guimarães Simão
George Wellington Bastos de Melo
Jovani Zalamena
Gustavo Brunetto

Resumo - As frequentes aplicações de fungicidas com Cu ou Zn na composição em videiras têm causado o acúmulo desses metais pesados em solos de vinhedos. O Cu e Zn são micronutrientes que fazem parte de diversos compostos orgânicos e atuam em vários processos biológicos do organismo vegetal. No entanto, o excesso desses metais pesados no solo e, conseqüentemente, nos tecidos vegetais pode provocar sintomas de toxidez, como inibição da absorção de nutrientes, alteração em processos fisiológicos e bioquímicos, e danos na estrutura do sistema radicular, prejudicando o crescimento e o desenvolvimento das plantas. Em vinhedos do Sul do Brasil, os sintomas de toxidez por Cu e Zn têm sido observados em videiras jovens recém transplantadas e em plantas de cobertura do solo, como a aveia preta. A toxidez por esses metais pesados em videiras pode retardar o início do seu período produtivo, atrasando o estabelecimento das mudas no campo. Em plantas de cobertura do solo, a toxidez pode reduzir a biomassa ou mesmo causar a morte das plantas, deixando o solo descoberto e, assim, prejudicando a ciclagem de nutrientes e aumentando o potencial de erosão hídrica. Em função dessa problemática, este capítulo abordará a absorção, transporte e acúmulo de Cu e Zn em plantas, as conseqüências disso sobre os parâmetros fisiológicos, bioquímicos e sobre a estrutura do sistema radicular, com apresentação de resultados de pesquisas realizadas até o momento, especialmente no Sul do Brasil, e de perspectivas para estudos futuros.

Palavras-chave: toxidez, estado nutricional, parâmetros fisiológicos, anatomia e morfologia de raízes, vinhedo.

1 Introdução

As áreas utilizadas para o cultivo da videira na região Sul do Brasil apresentam, em geral, altos índices pluviométricos, com elevada umidade relativa do ar e altas temperaturas durante o ciclo produtivo (TONIETTO, 2007). Essas condições predispõem as videiras a várias doenças fúngicas, especialmente nas folhas e nos cachos, capazes de causar danos severos à cultura, com conseqüente perda de produtividade e de qualidade dos frutos (JERMINI et al., 2010). Com o intuito de prevenir e/ou controlar essas doenças, as videiras são submetidas a aplicações sucessivas de fungicidas, sendo muitos deles cúpricos, como a calda bordalesa $[\text{Ca}(\text{OH})_2 + \text{CuSO}_4]$, e outros com Zn na sua composição, como o Mancozeb, além

do uso de fertilizantes orgânicos que contribuem para o acúmulo desses elementos no solo (COUTO et al., 2015).

Em função da unidirecionalidade da aplicação dos fungicidas, do escoamento dos elementos químicos nas superfícies das folhas via água da chuva e da deposição de folhas senescentes ou galhos na superfície do solo, o Cu e o Zn podem se acumular em solos de vinhedos ao longo dos anos, principalmente nas camadas mais superficiais do solo, com conseqüente aumento da disponibilidade às plantas, que causará toxidez às videiras e plantas de cobertura de vinhedos (BRUNETTO et al., 2014; COUTO et al., 2015). A toxidez ocasionada nas plantas de cobertura do solo, como a aveia preta (*Avena strigosa* Schreb.), também pode causar prejuízos ao cultivo das videiras, uma vez que a redução da biomassa ou, até mesmo, a morte dessas plantas deixa o solo descoberto, ocasionando a menor ciclagem de nutrientes e o aumento do potencial de erosão (SANTOS et al., 2004).

É importante ressaltar que tanto o Cu quanto o Zn são micronutrientes e, portanto, essenciais para o crescimento e desenvolvimento da planta. O Cu é um elemento que faz parte de vários compostos orgânicos, como proteínas e enzimas vitais ao metabolismo vegetal, atuando no controle da síntese de DNA e RNA, e participando de vários processos fisiológicos, como fotossíntese, respiração e metabolismo de carboidratos, lipídeos e do nitrogênio (KABATA-PENDIAS, 2010; BROADLEY et al., 2012). O Zn é um elemento requerido de forma catalítica e estrutural por muitas enzimas, como a desidrogenase alcoólica, anidrase carbônica, a superóxido dismutase, atua na síntese de proteínas, no metabolismo de carboidratos e ainda pode ser requerido para a biossíntese de clorofila (KABATA-PENDIAS, 2010; BROADLEY et al., 2012). Apesar da essencialidade, o excesso destes metais pode causar toxidez e prejudicar o desenvolvimento das plantas.

O termo estresse pode ser definido como um estado de tensão de um organismo capaz de provocar mudanças nas respostas e no comportamento em virtude de uma sobrecarga (BARCELÓ; POSCHENRIEDER, 1992) ou, ainda, como condições externas que afetam negativamente o crescimento e desenvolvimento ou a produtividade da planta (SHINOZAKI et al., 2015). Os níveis de estresse causados pela toxidez por metais pesados são dependentes da intensidade de exposição, da duração e da sensibilidade da planta ao estresse, além da combinação com outros agentes estressantes (SHINOZAKI et al., 2015). O estresse por metais pesados pode ser por deficiência (elementos essenciais) ou por toxidez (elementos essenciais e não essenciais), que ocorrem quando o teor de determinado metal pesado está abaixo ou acima da faixa ótima para a planta (Figura 1). Inicialmente, em resposta ao estresse, a planta entra na fase de alarme, que causará uma reação de redução reversível do seu crescimento, podendo entrar em fase de resistência e, assim, continuar o seu desenvolvimento. Porém, em caso de estresse muito severo, seja por grave deficiência ou toxidez, a planta pode entrar em fase de esgotamento, resultando em queda na resistência e, então, morte (BARCELÓ; POSCHENRIEDER, 1992; SHINOZAKI et al., 2015).

Fisiologicamente, o excesso de Cu e Zn provoca aumento na síntese de proteínas e enzimas envolvidas na defesa aos danos oxidativos (YANG et al., 2011), alteração no transporte de elétrons da fotossíntese e fotoinibição (CAMBROLLÉ et al., 2015). Ainda, o estresse por Cu e Zn pode danificar a estrutura das raízes (AMBROSINI et al., 2015; BOCHICCHIO et al., 2015), o que pode reduzir a absorção de água e nutrientes minerais do solo e, assim, diminuir o crescimento das plantas (TOSELLI et al., 2009; AMBROSINI et al., 2016). A deficiência de outros elementos essenciais,

como Fe ou Mg, por interferência na absorção, translocação e utilização, causa sintoma de clorose nas folhas jovens (YANG et al., 2011).

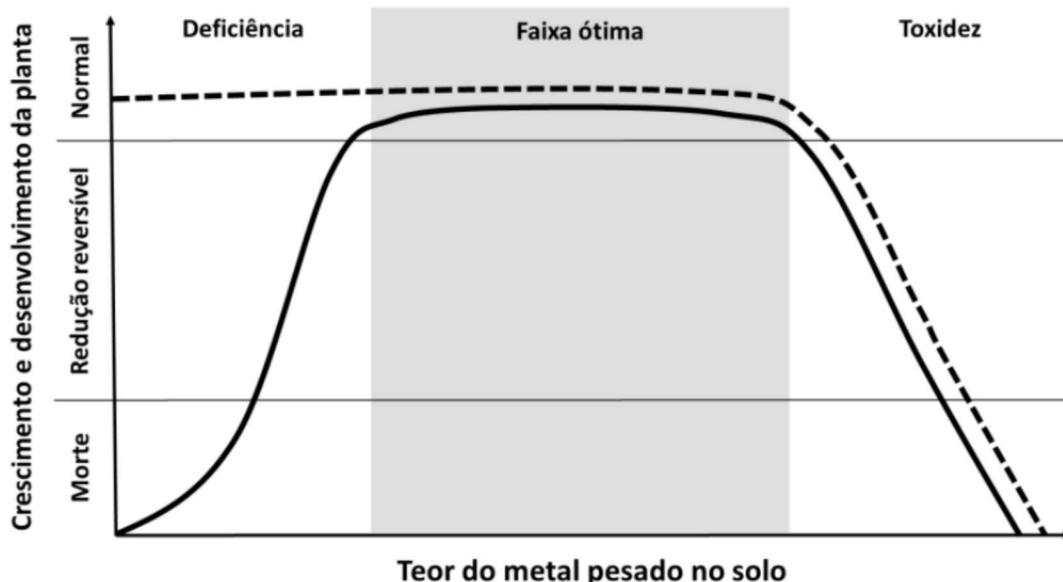


Figura 1 - Crescimento e desenvolvimento da planta em faixas de deficiência, ótima e de toxidez por metais pesados no solo. A linha tracejada corresponde à resposta a elementos não essenciais, e a linha contínua à elementos essenciais. Adaptado de Kabata-Pendias (2010).

Assim, neste capítulo serão abordados os mecanismos de absorção, transporte e acúmulo de Cu e Zn em videiras e plantas de cobertura do solo de vinhedos, além dos efeitos do excesso desses dois metais pesados no solo e nos tecidos vegetais sobre a fisiologia e bioquímica das plantas, bem como sobre a estrutura do sistema radicular.

2 Absorção, transporte e acúmulo de Cu e Zn em plantas

A absorção, a distribuição e o acúmulo de metais pesados, entre eles Cu e Zn, em plantas são realizados por meio de transportadores de membrana, que, por sua vez, são essenciais para os processos de homeostase e tolerância ou detoxificação desses metais (ARBAOUI et al., 2014). Os transportadores de metais nas plantas estão presentes na membrana plasmática das células da epiderme e do córtex das raízes, incluindo os pelos radiculares, ou mesmo em outros órgãos da planta, e também nas membranas de organelas celulares, como o vacúolo (GROTZ; GUERINOT, 2006; MARSCHNER, 2012; ARBAOUI et al., 2014). Ainda existem muitas dúvidas em relação à caracterização destes transportadores, principalmente no caso específico de Cu e Zn, mas sabe-se que existem diversas famílias de carregadores, com função e atuação diferentes, que podem ser específicas para determinados nutrientes, podendo variar de acordo com a disponibilidade do mesmo no solo e com o local de ação na planta (GROTZ; GUERINOT, 2006; ARBAOUI et al., 2014).

A absorção de Cu ocorre predominante na forma de Cu^{2+} ou Cu^+ , sendo mediada por transportadores de membranas, especialmente os da família COPT (proteína transportadora de Cu – do inglês: *copper transporter protein*) e por ATPases de

metais pesados, proteínas que atuam como transportadores de membrana (YRUELA, 2005; 2009; GROTZ; GUERINOT, 2006). Entre os transportadores da família COPT, o COPT1 é o membro que melhor a caracteriza, estando localizado na membrana plasmática e sendo responsável pela entrada de Cu na célula, do exterior para citoplasma, com alta expressão em plantas sob condições de baixa disponibilidade de Cu no solo e sendo pouco expresso quando há alta concentração deste metal (YRUELA, 2009). As ATPases de metais pesados não são exclusivos para Cu, sendo responsáveis pelo transporte de diversos metais através de membranas celulares (GROTZ; GUERINOT, 2006; YRUELA, 2009). As ATPases de metais pesados utilizam ATP para bombear íons através das membranas, enquanto os transportadores COPT1 não usam ATP para importar Cu para o citoplasma (YRUELA, 2005; 2009).

As ATPases de metais pesados são divididas em dois grupos: as que transportam cátions monovalentes, como Cu^+ e Ag^+ , e as que transportam cátions divalentes, como Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} e Co^{2+} (YRUELA, 2009). Membros da família das ATPases de metais pesados podem estar presentes em diferentes órgãos da planta, como raízes, folhas, flores, pólen e tecidos vasculares, e ter diferentes localizações na célula, como na membrana plasmática, em membranas dos tilacoides, nos cloroplastos, sendo fundamentais para a homeostase do Cu na planta (YRUELA, 2009).

O Zn é absorvido a partir da solução do solo, principalmente como Zn^{2+} , por transportadores de membranas, especialmente os da família ZIP (do inglês: *Zinc-Iron-regulated transporter Protein*), os da família CDF (facilitador da difusão de cátion – do inglês: *cation diffusion facilitator*) também conhecidas como MTP (*Metal Tolerance Protein*), e por ATPases de metais pesados (GROTZ; GUERINOT, 2006). Os membros da família ZIP também estariam relacionados com absorção de Fe (GROTZ et al., 1998; GROTZ; GUERINOT, 2006) e de Cu (GROTZ; GUERINOT, 2006; YRUELA, 2009). Os transportadores ZIP estão localizados na membrana plasmática, tanto em raízes quanto na parte aérea, sendo responsáveis pelo transporte de Zn para o citoplasma, especialmente em condições de deficiência deste metal (GROTZ; GUERINOT, 2006).

Os membros da família CDF são responsáveis pelo transporte de metais para organelas, como o vacúolo, e pelo efluxo para o meio extracelular, sendo muito importantes para evitar a toxidez por Zn (GROTZ; GUERINOT, 2006). Os transportadores da família das ATPases de metais pesados atuam em diferentes órgãos da planta e podem ter localizações distintas nas células, atuando da mesma maneira como ocorre com o Cu e, assim, tendo papel fundamental na homeostase do Zn na planta (GROTZ; GUERINOT, 2006; YRUELA, 2009).

Os transportadores de membrana, tanto para o Cu quanto para o Zn, podem ter função de transporte para dentro do citoplasma, o que acontece especialmente em condições de baixa disponibilidade desses nutrientes, de realocação desses metais dentro da célula ou de distribuição para diferentes órgãos da planta, o que acontece para manter a homeostase e evitar a toxidez na planta (GROTZ; GUERINOT, 2006; YRUELA, 2009).

Em estudos com videiras e aveia preta, em solos com altos teores de Cu e Zn, observa-se o acúmulo preferencial desses metais nas raízes, sendo considerada pequena a quantidade transportada para a parte aérea (GIROTTI et al., 2014; MIOTTO et al., 2014; GUIMARÃES et al., 2016; TIECHER et al., 2016a; 2016b; AMBROSINI et al., 2016). Nesse sentido, como ressaltado em outros estudos, a concentração de Cu e Zn nas raízes parece ser um indicador sensível ao acúmulo

desses elementos no solo (BRUN et al., 2001; McBRIDE, 2001; CHAIGNON; HINSINGER, 2003; CHAIGNON et al., 2003). Porém, a concentração de Cu nas raízes parece não representar de forma adequada o efeito de determinada concentração de Cu no solo sobre a planta, presumivelmente devido ao controle eficaz do transporte de Cu das raízes para a parte aérea.

A distribuição de Cu e Zn na planta pode ser definida, ainda, por mecanismos que não envolvem transportadores de membrana, por exemplo: para Kopittke et al. (2014), um importante mecanismo que determina o potencial de toxidez e a distribuição de determinado metal ocorre pela força de ligação pelo qual interage com ligantes duros (do inglês: *hard ligands*) nos tecidos vegetais – compostos com baixa polaridade, alta eletronegatividade, pequenos raios e que dificilmente são oxidáveis; sendo representados nas raízes principalmente por grupos carboxílicos do ácido poligalacturônico. O Cu, quando comparado ao Zn, apresenta maior afinidade por esses ligantes e, por isso, fica localizado em maior quantidade nas raízes, enquanto o Zn é transportado com maior facilidade para a parte aérea (KOPITTKKE et al., 2014). Sendo assim, o controle eficaz do transporte de Cu para a parte aérea, como mencionado no parágrafo anterior, pode estar relacionado com a interação deste metal com os ligantes duros presentes nas raízes.

O controle do transporte dos metais para a parte aérea é importante porque, em espécies sensíveis, concentrações nos tecidos entre 15-20 mg kg⁻¹ de Cu e 150-200 mg kg⁻¹ de Zn podem provocar redução do crescimento das plantas (Figura 2) devido a diversas alterações no metabolismo (KABATA-PENDIAS, 2010). Apesar disso, concentrações superiores a estas são frequentemente relatadas, tanto em condições de campo quanto em estudos de casa de vegetação (CAMBROLLÉ et al., 2012; GIROTTO et al., 2013; MIOTTO et al., 2014; TIECHER et al., 2016a; 2016b; AMBROSINI et al., 2016).



Figura 2 - Redução do crescimento de videiras jovens pela adição de Cu e Zn no solo.

Foto: Tadeu Luis Tiecher.

Altos teores de Cu e Zn nos tecidos das plantas induzem mudanças nas propriedades de membrana, o que afeta a função dos transportadores de membrana e de canais iônicos (DEVI; PRASAD, 1999; JANICKA-RUSSAK et al., 2008), como as proteínas tipo ZIP que contribuem para o transporte de Zn para dentro das células, e as bombas de ATPases, importantes no transporte de metais pesados ligados a fitoquelatinas para o interior do vacúolo (PRADO, 2013). Estes efeitos ocasionam um aumento da permeabilidade não-específica da membrana, que pode ser responsável pelos desequilíbrios nas concentrações de nutrientes em plantas cultivadas em ambientes com altos teores de elementos potencialmente tóxicos (CAMBROLLÉ et al., 2013a; 2013b).

3 Efeitos do excesso de Cu e Zn sobre parâmetros fisiológicos e bioquímicos de plantas

Alguns distúrbios fisiológicos e bioquímicos são frequentemente associados ao aumento dos teores de Cu e Zn em solos e nas plantas (CAMBROLLÉ et al., 2012; MATEOS-NARANJO et al., 2013; TIECHER et al., 2016a). A alta concentração de Cu na planta pode inibir o seu crescimento por interferência em processos celulares importantes, como a estrutura da cromatina, a síntese de proteínas e a atividade de enzimas nos processos de fotossíntese e respiração (YRUELA, 2005; GRATÃO et al., 2005). No caso do Zn, o aumento da sua concentração na planta pode reduzir a eficiência fotossintética pela inibição da biossíntese de clorofila e diminuição da assimilação de carbono (CHEN et al., 2008; DHIR et al., 2008). Além disso, a toxicidade de Zn pode afetar negativamente a cadeia de transporte de elétrons (MAGALHÃES et al., 2004), além da absorção e translocação de nutrientes (JIANG; WANG, 2008; WANG et al., 2009).

Os sintomas de toxidez causados pelo excesso de Cu e Zn são expressados no organismo vegetal devido a uma gama de interações que ocorrem em nível molecular e celular. Um sintoma bastante comum é a clorose (Figura 3), observada quando há redução do conteúdo de clorofilas nas folhas jovens (YANG et al., 2011). Em trabalhos com diferentes espécies, como feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* (L.) DC.), milho (*Zea mays* L.) e aveia preta (*Avena strigosa* Schreb.) cultivados em solos com altos teores de Cu e Zn, foram observados decréscimos nos teores de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenóides (SANTANA et al., 2015; TIECHER et al., 2016a; 2016b). Videiras submetidas a altas concentrações de Cu também apresentaram redução acentuada de pigmentos fotossintéticos (CAMBROLLÉ et al., 2013b; ROSA et al., 2014). A diminuição destes pigmentos pode ser atribuída ao efeito adverso do excesso desses metais no transporte de elétrons na fotossíntese, causando diminuição da síntese ou o incremento da degradação de clorofila (CAMBROLLÉ et al., 2012; TIECHER et al., 2016a), possivelmente por fotoxidação. Esta é uma estratégia de defesa, pois a planta diminui a captação de energia ao reduzir os teores destes pigmentos, não havendo a necessidade da dissipação da mesma através de outros mecanismos. Contudo, há uma grande redução da energia destinada à fotoquímica e, conseqüentemente, redução na formação de moléculas necessárias ao ciclo de Calvin, afetando o crescimento das plantas (ZENGIN; MUNZUROGLU, 2005; TAIZ; ZEIGER, 2013).



Figura 3 - Folhas de videira: à esquerda, sintoma de clorose causado por excesso de Cu; à direita, folha em condição de baixo teor de Cu, sem clorose.
Foto: Lessandro De Conti.

Plantas cultivadas em solos com altos teores de Cu e Zn geralmente apresentam aumento significativo na emissão da fluorescência pelas moléculas de clorofila das antenas que foram excitadas pela luz, antes da transferência da energia para os centros de reação dos fotossistemas (PS) (TANYOLAÇ et al., 2007). Isso acontece porque o excesso desses metais pesados nas plantas pode comprometer os centros de reação do PSII, ou a transferência da energia de excitação do complexo antena para os centros de reação pode estar prejudicada (BOLHAR-NORDENKAMPF et al., 1989). Geralmente, a emissão da fluorescência é alterada por estresses do ambiente que causam alterações estruturais nos pigmentos fotossintéticos do PSII (CAMPOSTRINI, 2001), como a substituição do Mg pelos metais Cu e Zn na molécula de clorofila, quando estes estão presentes em altas concentrações nos tecidos (ZVEZDANOVIC et al., 2007).

Em condições de estresse, as plantas podem apresentar também redução acentuada na eficiência quântica máxima do PSII (F_v/F_m). O decréscimo deste parâmetro já foi observado em diversos estudos com videiras e plantas de cobertura (CAMBROLLÉ et al., 2013a; SANTANA et al., 2015; TIECHER et al., 2016a; 2016b) e se caracteriza como um estado de fotoinibição crônica (ALVES et al., 2002), a qual indica uma redução na proporção de centros de reação abertos (MAXWELL; JOHNSON, 2000), ou seja, aptos a receber elétrons. Nestas condições, geralmente ocorre o aumento da dissipação não-fotoquímica (NPQ), o que indica que as plantas dissipam a luz na forma de calor, protegendo assim a folha de maiores danos (MAXWELL; JOHNSON, 2000; CAMBROLLÉ et al., 2012). Esta dissipação da energia de excitação das clorofilas pode prevenir a formação de moléculas altamente reativas, a partir de oxigênio, denominadas espécies reativas de oxigênio (EROs), que podem danificar irreversivelmente proteínas, lipídeos e pigmentos de membranas fotossintéticas (HORTON; RUBAN, 2004).

A formação de EROs ocorre em processos fisiológicos e metabólicos essenciais das plantas, tais como a fotossíntese e a respiração, nos quais ocorre fluxo dinâmico de elétrons através de transportadores específicos, com participação do oxigênio e da água (MITTLER, 2002). As EROs que se formam como consequência da redução do

oxigênio, são o radical superóxido (O_2^-), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila (OH^-), os quais, em conjunto com o oxigênio singleto (1O_2), que se forma na fase fotoquímica da fotossíntese, constituem as formas biológicas mais importantes de EROs (MARTINEZ et al., 2010). Por meio da reação de Fenton, o ciclo redox entre Cu^{2+} e Cu^+ catalisa a produção de radicais OH^- provenientes de radicais O_2^- e de H_2O_2 , aumentando a produção de espécies reativas de oxigênio (BRIAT; LEBRUN, 1999). O Zn, por sua vez, pode gerar estresse oxidativo através da interferência com o sistema de defesa antioxidante (GRATÃO et al., 2005). Assim, a absorção excessiva de Cu e de Zn por plantas pode causar estresse oxidativo devido ao desequilíbrio entre as respostas antioxidantes e o aumento da produção de EROs (GIROTTO et al., 2013).

Para proteger suas células dos efeitos tóxicos das EROs as plantas dispõem de um sistema de defesa composto por antioxidantes não enzimáticos e enzimáticos, que trabalham em conjunto e em sincronia detoxificando as EROs produzidas e fazendo com que os vegetais superem a situação de estresse e recuperem a homeostase celular (MARTINEZ et al., 2010). Dentre os principais metabólitos antioxidantes não enzimáticos encontram-se o ácido ascórbico (AsA), a glutathiona (GSH), o α -tocoferol e os carotenoides. Nas plantas, o aumento na concentração dessas moléculas pode indicar um aumento na tolerância ao estresse por metais (DIETZ et al., 1999). Tais antioxidantes podem evitar a formação de radicais livres, sequestrá-los ou promover sua degradação, prevenindo a ocorrência de danos às células das plantas (DEMMIG-ADAMS; ADAMS, 1992).

O AsA é um dos mais importantes antioxidantes não enzimáticos e pode inativar várias EROs. Juntamente com a GSH, participa do ciclo do ascorbato-glutathiona, no qual o H_2O_2 é eliminado pela ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11) mediante a peroxidação do AsA. A recuperação do AsA ocorre por meio da oxidação da GSH que torna a ser reduzida pela glutathiona redutase (GR, EC 1.8.1.7) (APEL; HIRT, 2004). A GSH é o principal composto tiol na maioria das plantas e também atua como antioxidante, além de fazer parte da estrutura de fitoquelatinas, responsáveis pelo sequestro de metais pesados e seu transporte para o vacúolo.

Já a defesa antioxidante enzimática compreende a atividade de várias enzimas, destacando-se as mais estudadas: superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11), glutathiona redutase (GR, EC 1.8.1.7), peroxidases (POD, EC 1.11.1.7) e catalase (CAT, EC 1.11.1.6). As SODs são metaloenzimas consideradas a primeira linha de defesa contra as EROs e catalisam a dismutação de radicais superóxido (O_2^-), gerando peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio molecular (O_2). Essas enzimas participam da modulação do nível de H_2O_2 em cloroplastos, mitocôndrias, citosol e peroxissomos. Uma vez que dismutam o O_2^- , agem indiretamente na redução do risco de formação do radical hidroxila (OH^-) a partir do O_2^- (MITTLER, 2002). Estas enzimas são classificadas de acordo com seus cofatores metálicos: Cu e Zn (Cu/Zn-SOD), Mn (Mn-SOD) e Fe (Fe-SOD). Em geral, as plantas contêm uma Mn-SOD localizada na matriz mitocondrial e uma Cu/Zn-SOD citosólica, com Fe-SOD e/ou Cu/ZnSOD, presentes no estroma do cloroplasto (SCANDALIOS, 2002).

A APX, por sua vez, é considerada a enzima mais importante na eliminação de H_2O_2 no citosol e nos cloroplastos, mas também pode ser encontrada nas mitocôndrias, peroxissomos e parede celular. Esta enzima utiliza o ascorbato como doador específico de elétrons, para reduzir H_2O_2 à água, constituindo parte do ciclo ascorbato-glutathiona (NOCTOR; FOYER, 1998), assim como a enzima GR, que mantém o equilíbrio entre os níveis de GSSG (glutathiona oxidada) e GSH (glutathiona

reduzida) na célula e desempenha um papel importante na defesa contra o estresse oxidativo, mantendo o estado redox intracelular (APEL; HIRT, 2004).

Nas plantas, as PODs existem em muitas isoformas e estão envolvidas em uma série de processos celulares. Algumas PODs são constitutivamente expressas, enquanto outras são induzidas por estresses ambientais, como constatado em estudos em que baixas atividades mostram sintomas de estresse menos graves e as altas, sintomas mais graves. As PODs utilizam o H_2O_2 como oxidantes e compostos de natureza fenólica como doadores de elétrons. Dessa forma, o H_2O_2 formado pela ação da SOD também pode ser eliminado pelas PODs, além da CAT e APX (HEGEDÜS et al., 2001). As PODs localizam-se principalmente na parede celular e no vacúolo das células. Sua atividade pode ser utilizada como marcador bioquímico do estresse resultante de fatores bióticos e abióticos, como o estresse por metais pesados. Tiecher et al. (2016a; 2016b) pesquisando a resposta fisiológica de plantas de milho e aveia submetidas a diferentes doses de Cu e Zn observaram incremento na atividade das enzimas CAT e POD em doses intermediárias de Zn, indicando a ativação do sistema antioxidante. Porém, em altas doses ocorre a redução na atividade enzimática, na qual o estresse não pode ser revertido, e a produção de EROs supera a sua eliminação, condição em que o crescimento é extremamente afetado.

O Cu e o Zn em altas concentrações na planta podem interferir negativamente nas trocas gasosas, reduzindo a taxa de fotossíntese líquida, o que leva a uma diminuição do crescimento das plantas devido à redução na assimilação de carbono (CAMBROLLÉ et al., 2012; 2013a; 2015). Estudos com videiras jovens e aveia preta submetidas à alta concentração de Cu no solo mostraram uma expressiva redução na matéria seca de raízes e parte aérea nessas plantas (ROSA et al., 2014; AMBROSINI et al., 2015; GUIMARÃES et al., 2016).

Geralmente, altos teores de Cu e Zn induzem efeitos consideráveis sobre a taxa fotossintética e a condutância estomática. Contudo, não há relação direta entre os dois parâmetros, uma vez que não é observada redução na concentração de CO_2 intercelular (CAMBROLLÉ et al., 2013a; 2015). Portanto, a redução na taxa de fotossíntese líquida pode ser atribuída a diferentes efeitos dos elementos potencialmente tóxicos sobre a integridade ou a função fotoquímica, bem como ao seu impacto sobre a concentração de clorofilas nas folhas (CAMBROLLÉ et al., 2015), como mencionado anteriormente. Outra possível explicação para a redução na taxa fotossintética é que o excesso de Cu e Zn pode diminuir a atividade de enzimas envolvidas na fixação de carbono (MYSLIWA-KURDZIEL et al., 2004). Assim, o aumento da concentração de CO_2 intercelular encontrado em plantas expostas às concentrações elevadas de elementos potencialmente tóxicos pode ser explicado pelas alterações na atividade da enzima Rubisco. A inibição da atividade da enzima na presença de elementos potencialmente tóxicos pode ser devido à substituição de Mg^{2+} por íons metálicos, especialmente o Zn, no sítio ativo de subunidades de Rubisco (SIEDLECKA; KRUPA, 2004), o que resulta em diminuição na atividade carboxilativa da Rubisco.

4 Efeitos do Cu e do Zn sobre a estrutura do sistema radicular de plantas

O excesso de Cu e Zn em solos de vinhedos, ocasionado por frequentes aplicações de fungicidas foliares e fertilizantes no solo, pode causar estresse às plantas e, assim como outros agentes estressantes, promover diversas modificações estruturais no sistema radicular (JUANG et al. 2012; 2014; CHEN et al. 2013;

AMBROSINI et al. 2015; GUIMARÃES et al. 2016). A raiz é o primeiro órgão a entrar em contato com estes metais, apresentando uma tendência em acumular especialmente o Cu (BURKHEAD et al., 2009; ALAOUI-SOSSÉ et al., 2004; MARSCHNER, 2012).

A sintomatologia da toxidez aos metais pesados já foi observada em videiras (JUANG et al., 2012; 2014; CHEN et al., 2013; AMBROSINI et al., 2015) e em plantas de cobertura do solo (GUIMARÃES et al., 2016), assim como em outras espécies (Tabela 1). Os sintomas ocasionados pelo excesso de metais pesados sobre a estrutura de raízes, de maneira geral, são semelhantes entre as espécies (KABATA-PENDIAS, 2010; VERBRUGGEN; HERMANS, 2013), embora a toxidez pelo metal, especialmente do Cu, possa variar e alterar os tecidos de maneira diferente (BURKHEAD et al., 2009; MARSCHNER, 2012).

Tabela 1 - Relação de espécies já estudadas em relação às alterações estruturais do sistema radicular ocasionadas pelos altos teores de metais pesados, especialmente do Cu, no meio de cultivo.

Metal(is) pesado(s)	Espécie	Referência
Cu	<i>Allium sativum</i> L.	Liu et al. (2009)
	<i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh.	Lequeux et al. (2010)
	<i>Avena strigosa</i> Schreb.	Guimarães et al. (2016)
	<i>Brassica juncea</i> L. Czern. e <i>Brassica napus</i> L.	Feigl et al. (2013)
	<i>Chloris gayana</i> Kunth.	Sheldon & Menzies (2005)
	<i>Origanum vulgare</i> L.	Panou-Filothéou e Bosabalidis (2004)
	<i>Pinus pinea</i> L. e <i>Pinus pinaster</i> Ait.	Arduini et al. (1995)
	<i>Thlaspi ochroleucum</i> Boiss. & Heldr.	Ouzounidou et al. (1992)
	<i>Triticum turgidum durum</i> L.	Michaud et al. (2008)
	<i>Urochloa mosambicensis</i> (Hack.) Dandy	Kopittke et al. (2009)
	<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp	Kopittke & Menzies (2006)
	<i>Vitis labrusca</i> L.	Ambrosini et al. (2015)
	<i>Vitis vinifera</i> L.	Juang et al. (2012), Chen et al. (2013), Juang et al. (2014)
<i>Zea mays</i> L.	Ouzounidou et al. (1995), Doncheva (1998), Jiang et al. (2001)	
Zn	<i>Phyllostachys pubescens</i> Mazel ex J. Houz. <i>Triticum aestivum</i> L.	Liu et al. (2014) Li et al. (2012)
Cd, Cu e Zn	<i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh.	Sofo et al. (2013), Bochicchio et al. (2015)

O sintoma de toxicidade ao excesso de Cu mais observado nas raízes é a redução no seu comprimento (OUZOUNIDOU et al., 1995; KOPITKE et al., 2009; LEQUEUX et al., 2010), possivelmente por causa da diminuição na frequência da divisão celular no ápice radicular, inibindo assim o crescimento do eixo radicular (JIANG et al. 2001). Estas alterações no ápice, uma região extremamente delicada da raiz, por sua vez, promovem diversas modificações locais, como a redução da coifa e a maturação precoce dos tecidos, como relatado para videira (AMBROSINI et al., 2015) e para aveia preta (GUIMARÃES et al., 2016). A redução da coifa, ou mesmo sua ausência, interfere nas demais regiões da raiz e compromete seu desenvolvimento (AMBROSINI et al., 2015; GUIMARÃES et al. 2016), já que uma das funções desta importante estrutura é proteger as células que estão em processo de divisão (MARSCHNER, 2012).

Outro sintoma comum, especialmente nos ápices radiculares é o aumento no número e na formação de raízes laterais (LEQUEUX et al., 2010; BOCHICCHIO et al., 2015), como observado na aveia preta (GUIMARÃES et al., 2016). Em algumas espécies, as regiões da raiz próximas ao ápice são intumescidas, em decorrência de primórdios de raízes laterais que não conseguem completar seu desenvolvimento (PANOU-FILOTHEOU; BOSABALIDIS, 2004; KOPITTKKE et al., 2009). Os resultados mostram que tanto o alongamento da raiz quanto a formação das raízes laterais são sensíveis ao excesso de Cu, embora o primeiro processo apresente maior sensibilidade aos efeitos tóxicos do metal (LEQUEUX et al., 2010; VERBRUGGEN; HERMANS, 2013).

As alterações das raízes ao excesso de Cu se refletem também nas regiões mais distais do ápice, levando ao aumento do diâmetro das raízes de videiras e plantas de cobertura (JUANG et al., 2012; AMBROSINI et al., 2015; GUIMARÃES et al., 2016). Este aumento seria resultante de uma alta vacuolização das células, que pode levar à plasmólise e, conseqüentemente, à morte celular (JUANG et al., 2012), como também da disposição das camadas celulares, especialmente do córtex, que não estão organizadas de forma concêntrica, como nas raízes que crescem na ausência deste metal (AMBROSINI et al., 2015; GUIMARÃES et al. 2016).

Raízes submetidas a altas concentrações de Cu podem também apresentar rupturas nas camadas mais externas, como na epiderme (SHELDON; MENZIES, 2005; KOPITTKKE; MENZIES, 2006; KOPITTKKE et al., 2009), por causa do crescimento mais rápido das camadas mais internas da raiz (KOPITTKKE et al., 2009). O alongamento reduzido das camadas mais externas da raiz resultaria da ligação do Cu às paredes destas células ou ainda da interferência do alto teor deste metal com outros processos metabólicos da planta, como a biossíntese de fitormônios (KOPITTKKE et al., 2009).

Dentre os sintomas causados pelo excesso de Zn na planta, observam-se também a inibição do alongamento radicial, dentre outras alterações nesse sistema (GODBOLD et al., 1983; RUANO et al., 1988; MARSCHNER, 2012) (Tabela 1). A diminuição no número e no tamanho das raízes laterais, assim como redução da atividade mitótica também podem ser sintomas da toxicidade pelo excesso de Zn (SAGARDOY et al., 2009). Em algumas espécies, as raízes podem também apresentar uma coloração mais escura e mesmo sinais de necrose (GOMES et al., 2011).

A análise das alterações estruturais comprova as diferenças no comportamento desses dois metais pesados na planta (KABATA-PENDIAS, 2010; MARSCHNER, 2012). O Cu faz parte de um grupo de metais com maior afinidade por ligantes duros dos tecidos vegetais, ficando retido principalmente nas células epidérmicas e corticais das raízes (KOPITTKKE et al., 2014). Por outro lado, o Zn parece ter menor afinidade por esses ligantes, movendo-se com mais facilidade para o cilindro vascular e, por consequência, para a parte aérea da planta, onde causa danos mais severos (KOPITTKKE et al., 2014).

Importante ressaltar também que os estudos com videiras e plantas de cobertura do solo que avaliam os efeitos da toxidez do Zn são mais escassos na literatura. O diagnóstico de altos teores de Zn em solos de vinhedos, especialmente no Brasil, é mais recente, quando comparado ao do Cu, tendo maior notoriedade entre a comunidade científica apenas na última década (FERNANDEZ-CALVIÑO et al., 2012; BRUNETTO et al., 2014; COUTO et al., 2015; TIECHER et al., 2016a; 2016b), embora já reportado anteriormente por Magalães et al. (1985).

Por último, é importante salientar que as alterações na estrutura do sistema radicular seriam estratégias da planta para escapar da zona de influência do agente estressante, induzidas por modificações em nível celular, como o alongamento e a diferenciação, que ocorrem de modo coordenado e se refletem em alterações estruturais (POTTERS et al., 2007; 2009).

5 Considerações finais

Os problemas relacionados à toxidez por Cu e Zn em plantas são bastante conhecidos, podendo ser expressados por meio de alterações bioquímicas, fisiológicas e estruturais. Muitas dessas modificações acontecem como estratégia de defesa da planta para resistir ao estresse, de modo a garantir a sua sobrevivência e desenvolvimento. No entanto, em caso de estresse severo, essas alterações no organismo vegetal podem não ser suficientes para combater o agente estressante, neste caso o excesso de Cu e Zn, e os sintomas da toxidez podem evoluir para uma redução drástica de crescimento, de perda de produtividade, levando até mesmo à morte da planta.

Nos vinhedos, os problemas relacionados à toxidez por Cu e Zn estão sendo observados nas videiras jovens e nas plantas de cobertura do solo. As videiras jovens podem ter seu estabelecimento prejudicado e, assim, atrasar o início do período produtivo, enquanto as plantas de cobertura podem apresentar severas limitações de crescimento e desenvolvimento, fazendo com que o solo fique descoberto, aumentando o potencial de erosão e reduzindo a ciclagem de nutrientes, o que prejudica também o cultivo das videiras.

Dentro do cenário atual, nas condições dos solos de vinhedos do Sul do Brasil, onde já se observa o acúmulo destes metais pesados, uma boa alternativa para evitar os problemas relacionados aos altos teores no solo seria diminuir a quantidade adicionada anualmente de produtos com esses elementos. Para isso, são requeridos cuidados com as dosagens, número de aplicações por safra, concentração de Cu na calda e mesmo a substituição da calda bordalesa por outros insumos menos contaminantes. No entanto, esta seria uma alternativa para vinhedos em que os acúmulos de Cu e Zn ainda não estejam em níveis que possam causar grave toxidez.

Em vinhedos com longo histórico de aplicação de fungicidas à base de Cu e Zn e, por consequência, com altos teores desses elementos no solo, o cultivo de plantas bioacumuladoras de metais pesados, na condição de plantas de cobertura, poderia ser uma importante ferramenta para reduzir os teores destes metais no solo. No entanto, outras técnicas também podem ser utilizadas, como a aplicação de calcário, de fertilizantes fosfatados ou de bio sólidos alcalinos, que podem ser as alternativas mais adequadas, dentro do nível de conhecimento atual, para promover a imobilização de metais pesados no solo e evitar a toxidez nestas plantas.

Na perspectiva de continuidade e no avanço das pesquisas com o mesmo tema deste capítulo, poder-se-ia pensar em estudos que avaliem como diferentes espécies de plantas de cobertura e as distintas cultivares de videiras se comportam diante do estresse causado pelo excesso de Cu e Zn no solo. Por exemplo, quais seriam as adaptações bioquímicas, fisiológicas e estruturais ocorrentes em plantas tolerantes ao excesso de Cu e Zn não encontradas nas espécies suscetíveis? Isso nos permitiria responder questões importantes, como: quais são as cultivares, tanto de videiras quanto de plantas de cobertura, mais aptas a tolerar o excesso desses metais pesados? Quais são as estratégias de defesa utilizadas por essas plantas

que permitem tal tolerância? Tais perguntas são relevantes porque os mecanismos de resposta das plantas e, conseqüentemente, os sintomas causados pelo excesso desses metais pesados podem variar entre e dentro de espécies.

6 Referências bibliográficas

- ALAOUI-SOSSÉ, B.; GENET, P.; VINIT-DUNAND, F.; TOUSSAINT, M. L.; EPRON, D.; BADOT, P. M. Effect of copper on growth in cucumber plants (*Cucumis sativus*) and its relationships with carbohydrate accumulation and changes in ion contents. **Plant Science**, v. 166, n. 5, p. 1213-1218, May 2004.
- ALVES, P. L. da C. A.; MAGALHÃES, A. C. N.; BARJA, P. R. The phenomenon of photoinhibition of photosynthesis and its importance in reforestation. **The Botanical Review**, v. 68, n. 2, p. 193-208, Apr. 2002.
- AMBROSINI, V. G.; ROSA, D. J.; PRADO, J. P. C.; BORGHEZAN, M.; MELO, G. W. B. de; SOARES, C. R. F. de S.; COMIN, J. J.; SIMÃO, D. G.; BRUNETTO, G. Reduction of copper phytotoxicity by liming: a study of the root anatomy of young vines (*Vitis labrusca* L.). **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 96, p. 270-280, Nov. 2015.
- AMBROSINI, V. G.; ROSA, D. J.; BASSO, A.; BORGHEZAN, M.; PESCADOR, R.; MIOTTO, A.; MELO, G. W. B. de; SOARES, C. R. F. S.; COMIN, J. J.; BRUNETTO, G. Liming as an ameliorator of copper toxicity in black oat (*Avena strigosa* Schreb.). **Journal of Plant Nutrition**. 2016. No prelo.
- APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p. 373-399, 2004.
- ARBAOUI, S.; SLIMANE, R. B.; REZGUI, S.; BETTAIEB, T. Metal transporters for uptake, sequestration and translocation. In: GUPTA, D. K.; CHATTERJEE, S. (Eds.). Heavy metal remediation: transport and accumulation in plants. New York: Nova Science Publishers, 2014. p. 29-44.
- ARDUINI, I.; GODBOLD, D. L.; ONNIS, A. Influence of copper on root growth and morphology of *Pinus pinea* L. and *Pinus pinaster* Ait. seedlings. **Tree Physiology**, v. 15, n. 6, p. 411-415, Jun.1995.
- BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C. Respuestas de las plantas a la contaminación por metales pesados. **Suelo y Planta**, v. 2, n. 2, p. 345-361, 1992.
- BOCHICCHIO, R.; SOFO, A.; TERZANO, R.; GATTULLO, C. E.; AMATO, M.; SCOPA, A. Root architecture and morphometric analysis of *Arabidopsis thaliana* grown in Cd/Cu/Zn-gradient agar dishes: A new screening technique for studying plant response to metals. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 91, p. 20-27, Jun. 2015.
- BOLHAR-NORDENKAMPF, H. R.; LONG, S. P.; BAKER, N. R.; ÖQUIST, G.; SCHREIDER, U.; LECHNER, E. G. Chlorophyll fluorescence as probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: A review of current instrument. **Functional Ecology**, v. 3, p. 497-514, 1989.
- BRIAT, J. F.; LEBRUN, M. Plant responses to metal toxicity. **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series III - Sciences de la Vie**, v. 322, n. 1, p. 43-54. Jan. 1999.
- BROADLEY, M.; BROWN, P.; CAKMAK, I.; RENGEL, Z.; ZHAO, F. Function of nutrients: micronutrients. In: MARSCHNER, P. **Marschner's mineral**

nutrition of higher plants. 3th ed.. Londres: Academic Press, 2012. p.191-248.

BRUN, L. A.; MAILLET, J.; HINSINGER, P.; PÉPIN, M. Evaluation of copper availability to plants in copper-contaminated vineyard soils. **Environmental Pollution**, v. 111, n. 2, p. 293-302, Feb. 2001.

BRUNETTO, G.; MIOTTO, A.; CERETTA, C. A.; SCHMITT, D. E.; HEINZEN, J.; MORAES, M. P. de.; CANTON, L.; TIECHER, T. L.; COMIN, J. J.; GIROTTO, E. Mobility of copper and zinc fractions in fungicide-amended vineyard sandy soils. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 60, n. 5, p. 609-624, 2014.

BURKHEAD, J. L.; REYNOLDS, K. A.; ABDEL-GHANY, S. E.; COHU, C. M.; PILON, M. Copper homeostasis. **New Phytologist**, v. 182, n. 4, p. 799-816, Jun. 2009.

CAMBROLLÉ, J.; MANCILLA-LEYTÓN, J. M.; MUÑOZ-VALLÉS, S.; LUQUE, T.; FIGUEROA, M. E. Zinc tolerance and accumulation in the salt-marsh shrub *Halimione portulacoides*. **Chemosphere**, v. 86, n. 9, p. 867-874, 2012.

CAMBROLLÉ, J.; MANCILLA-LEYTÓN, J. M.; MUÑOZ-VALLES, S.; FIGUEROA-LUQUE, E.; LUQUE, T.; FIGUEROA, M. E. Evaluation of zinc tolerance and accumulation potential of the coastal shrub *Limoniastrum monopetalum* (L.) Boiss. **Environmental and Experimental Botany**, v. 85, p. 50-57, Jan. 2013a.

CAMBROLLÉ, J.; GARCIA, J. L.; OCETE, R.; FIGUEROA, M. E.; CANTOS, M. Growth and photosynthetic responses to copper in wild grapevine. **Chemosphere**, v. 93, n. 2, p. 294-301, Sep. 2013b.

CAMBROLLÉ, J.; GARCÍA, J. L.; FIGUEROA, M. E.; CANTOS, M. Evaluating wild grapevine tolerance to copper toxicity. **Chemosphere**, v. 120, p. 171-178, Feb. 2015.

CAMPOSTRINI, E. **Fluorescência da clorofila a: considerações teóricas e aplicações práticas**. Rio de Janeiro: UENF, 2001. 34 p.

CHAIGNON, V.; HINSINGER, P. A. Biotest for evaluating copper bioavailability to plants in a contaminated soil. **Journal of Environmental Quality**, v. 32, n. 3, p. 824-833, May/June 2003.

CHAIGNON, V.; SANCHEZ-NEIRA, I.; HERMANN, P.; JAILLARD, B.; HINSINGER, P. Copper bioavailability and extractability as related to chemical properties of contaminated soils from a vine-growing area. **Environmental Pollution**, v. 123, n. 2, p. 229-238, May 2003.

CHEN, W.; YANG, X.; HE, Z.; FENG, Y.; HU, F. Differential changes in photosynthetic capacity, 77 K chlorophyll fluorescence and chloroplast ultrastructure between Zn-efficient and Zn-inefficient rice genotypes (*Oryza sativa*) under low zinc stress. **Physiologia Plantarum**, v. 132, n. 1, p. 89-101, Jan. 2008.

CHEN, P. Y.; LEE, Y. I.; CHEN, B. C.; JUANG, K. W. Effects of calcium on rhizotoxicity and the accumulation and translocation of copper by grapevines. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 73, p. 375-382, Dec. 2013.

COUTO, R. da R.; BENEDET, L.; COMIN, J. J.; BELLI FILHO, P.; MARTINS, S. R.; GATIBONI, L. C.; RADETSKI, M.; VALOIS, C. M. de; AMBROSINI, V. G.; BRUNETTO, G. Accumulation of copper and zinc fractions in vineyard soil in the mid-western region of Santa Catarina, Brazil. **Environmental Earth Sciences**, v. 73, n. 10, p. 6379-6386, May 2015. MAGALHÃES, C. C. P. de; CARDOSO, D.; SANTOS, C. P. dos ; CHALOUB, R. M. Physiological and photosynthetic responses of

Synechocystis aquatilis f. *aquatilis* (Cyanophyceae) to elevated levels of zinc.

Journal of Phycology, v. 40, n. 3, p. 496-504, June 2004.

DEMMIG-ADAMS, B.; ADAMS, W. W. Photoprotection and others responses of plants to high light stress. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 43, p. 599-626, June 1992.

DEVI, S. R.; PRASAD, M. N. V. Membrane lipid alterations in heavy metal exposed plants. In: PRASAD, M. N. V.; HAGEMEYER, J. (Eds.). **Heavy metal stress in plants: from molecule to ecosystems**. Berlin: Springer, 1999. p. 127-145.

DHIR, B.; SHARMILA, P.; PARDHA SARAD, P. Photosynthetic performance of *Salvinia natans* exposed to chromium and zinc rich wastewater. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 20, n. 1, p.61-70, 2008.

DIETZ, K. J.; BAIER, M.; KRÄMER, U. Free radicals and reactive oxygen species as mediators of heavy metal toxicity in plants. In: PRASAD, M. N. V.; HAGEMEYER, J. (Eds.). **Heavy metal stress in plants: from molecule to ecosystems**. Berlin: Springer, 1999. p. 73-97.

DONCHEVA, S. Copper-induced alterations in structure and proliferation of maize root meristem cells. **Journal of Plant Physiology**, v. 153, n. 3-4, p. 482-487, 1998.

FEIGL, G.; KUMAR, D.; LEHOTAI, N.; TUGYI, N.; MOLNÁR, Á.; ÖRDÖG, A.; SZEPESI, Á.; GÉMES, K.; LASKAY, G.; ERDEI, L.; KOLBERT, Z. Physiological and morphological responses of the root system of Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czern.) and rapeseed (*Brassica napus* L.) to copper stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 94, p. 179-189, Aug. 2013.

FERNÁNDEZ-CALVIÑO, D.; PATEIRO-MOURE, M.; NÓVOA-MUÑOZ, J. C.; GARRIDO-RODRIGUES, B.; ARIAS-ESTÉVEZ, M. Zinc distribution and acid-base mobilisation in vineyard soils and sediments. **The Science of the Total Environment**, v. 414, p. 470-479, Jan. 2012.

GIROTTI, E.; CERETTA, C. A.; ROSSATO, L. V.; FARIAS, J. G.; TIECHER, T. L.; DE CONTI, L.; SCHMATZ, R.; BRUNETTO, G.; SCHETINGER, M. R. C.; NICOLOSO, F. T. Triggered antioxidant defense mechanism in maize grown in soil with accumulation of Cu and Zn due to intensive application of pig slurry. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 93, p. 145-155, July 2013.

GIROTTI, E.; CERETTA, C. A.; BRUNETTO, G.; MIOTTO, A.; TIECHER, T. L.; DE CONTI, L.; LOURENZI, C. R.; LORENSINI, F.; GUBIANI, P. I.; SILVA, L. S. da; NICOLOSO, F. T. Copper availability assessment of Cu-contaminated vineyard soils using black oat cultivation and chemical extractants. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 186, n. 12, p. 9051-9063, Dec. 2014.

GODBOLD, D. L.; HORST, W. J.; MARSCHNER, H.; COLLINS, J. C.; THURMAN, D. A. Root growth and Zn uptake by two ecotypes of *Deschampsia caespitosa* as affected by high Zn concentrations. **Zeitschrift für Pflanzenphysiologie**, v. 112, n. 4, p. 315-324, Nov.1983.

GOMES, M. P.; MARQUES, T. C. L. L. de S. e M.; NOGUEIRA, M. de O. G.; SILVA, G. H.; CASTRO, E. M. de; SOARES, A. M. Efeitos dos rejeitos da indústria de zinco na anatomia e crescimento de plantas jovens de *Salix humboldtiana* Willd. (salgueiro). **Hoehnea**, v. 38, n. 1, p. 135-142, 2011.

GRATÃO, P. L.; POLLE, A.; LEA, P. J.; AZEVEDO, R. A. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. **Functional Plant Biology**, v. 32, n. 6, p. 481-494, July 2005.

- GROTZ, N.; FOX, T.; CONNOLLY, E.; PARK, W.; GUERINOT, M. L.; EIDE, D. Identification of a family of zinc transporter genes from *Arabidopsis* that respond to zinc deficiency. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 95, n. 12, p. 7220-7224, June 1998.
- GROTZ, N.; GUERINOT, M. L. Molecular aspects of Cu, Fe and Zn homeostasis in plants. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Molecular Cell Research**, v. 1763, n. 7, p. 595–608, July 2006.
- GUIMARÃES, P. R.; AMBROSINI, V. G.; MIOTTO, A.; CERETTA, C. A.; SIMÃO, D. G.; BRUNETTO, G. Black oat (*Avena strigosa* Schreb.) growth and root anatomical changes in sandy soil with different copper and phosphorus concentrations. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 227, n. 192, p. 1-10, 2016.
- HEGEDÜS, A.; ERDEI, S.; HORVÁTH, G. Comparative studies of H₂O₂ detoxifying enzymes in green and greening barley seedlings under cadmium stress. **Plant Science**, v. 160, n. 6, p. 1085-1093, May 2001.
- HORTON, P.; RUBAN, A. Molecular design of the photosystem II light-harvesting antenna: photosynthesis and photoprotection. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, n. 441, p. 365-373, 2004.
- JANICKA-RUSSAK, M.; KABAŁA, K.; BURZYNSKI, M.; KŁOBUS, G. Response of plasma membrane H⁺-ATPase to heavy metal stress in *Cucumis sativus* roots. **Journal of Experimental Botany**, v. 59, n. 13, p. 3721-3728, Oct. 2008.
- JERMINI, M.; BLAISE, P.; GESSLER, C. Quantification of the influence of the downy mildew (*Plasmopara viticola*) epidemics on the compensatory capacities of *Vitis vinifera* 'Merlot' to limit the qualitative yield damage. **Vitis**, v. 49, n. 4, p. 153-160, 2010.
- JIANG, W.; LIU, D.; LIU, X. Effects of copper on root growth, cell division, and nucleolus of *Zea mays*. **Biologia Plantarum**, v. 44, n. 1, p. 105-109, Mar. 2001.
- JIANG, X.; WANG, C. Zinc distribution and zinc-binding forms in *Phragmites australis* under zinc pollution. **Journal of Plant Physiology**, v. 165, n. 7, p. 697-704, May 2008.
- JUANG, K. W.; LEE, Y. I.; LAI, H. Y.; WANG, C. H.; CHEN, B. C. Copper accumulation, translocation, and toxic effects in grapevine cuttings. **Environmental Science and Pollution Research International**, v. 19, n. 4, p. 1315–1322, May 2012.
- JUANG, K. W.; LEE, Y. I.; LAI, H. Y.; CHEN, B. C. Influence of magnesium on copper phytotoxicity to and accumulation and translocation in grapevines. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 104, p. 36-42, June 2014.
- KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants**. 4th ed. Boca Raton: CRC Press, 2010. 505p.
- KOPITTKE, P. M.; MENZIES, N. W. Effect of Cu toxicity on growth of Cowpea (*Vigna unguiculata*). **Plant and Soil**, v. 279, n. 1, p. 287-296, Jan. 2006.
- KOPITTKE, P. M.; ASHER, C. J.; BLAMEY, F. P. C.; MENZIES, N. W. Toxic effects of Cu²⁺ on growth, nutrition, root morphology, and distribution of Cu in roots of Sabi grass. **Science of the Total Environment**, v. 407, n. 16, p. 4616–4621, Aug. 2009.
- KOPITTKE, P. M.; MENZIES, N. W.; WANG, P.; MCKENNA, B. A.; WEHR, J. B.; LOMBI, E.; KINRAIDE, T. B.; BLAMEY, F. P. The rhizotoxicity of metal cations is

related to their strength of binding to hard ligands. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 33, n. 2, p. 268-277, Feb. 2014.

LEQUEUX, H.; HERMANS, C.; LUTTS, S.; VERBRUGGEN, N. Response to copper excess in *Arabidopsis thaliana*: Impact on the root system architecture, hormone distribution, lignin accumulation and mineral profile. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 8, p. 673-682, Aug. 2010.

LI, X.; YANG, Y.; ZHANG, J.; JIA, L.; LI, Q.; ZHANG, T.; QIAO, K.; MA, S. Zinc induced phytotoxicity mechanism involved in root growth of *Triticum aestivum* L. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 86, n. 1, p. 198-203, Dec. 2012.

LIU, D.; JIANG, W.; MENG, Q.; ZOU, J.; GU, J.; ZENG, M. Cytogenetical and ultrastructural effects of copper on root meristem cells of *Allium sativum* L. **Biocell**, v. 33, n. 1, p. 25-32, Apr. 2009.

LIU, D.; CHEN, J.; MAHMOOD, Q.; LI, S.; WU, J.; YE, Z.; PENG, D.; YAN, W.; LU, K. Effect of Zn toxicity on root morphology, ultrastructure, and the ability to accumulate Zn in Moso bamboo (*Phyllostachys pubescens*). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 23, p. 13615-13624, 2014.

MAGALÃES, M. J.; SEQUEIRA, E. M.; LUCAS, M. D. Copper and zinc in vineyards of central Portugal. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 26, n. 1, p. 1-17, Sep. 1985.

MARSCHNER, P. **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants. 3th ed.** London: Academic Press, 2012. 651 p.

MARTINEZ, C. A.; SORIANI, H. H.; FAVARETTO, V. F. Mecanismos de defesa das plantas a estresses. In: PRADO, R. M.; CECÍLIO FILHO, A. B.; CORREIA, M. A. R.; PUGA, A. P. (Eds.) **Nutrição de plantas: diagnose foliar em hortaliças**. Jaboticabal: FCAV/FAPESP/CAPEF/Fundunesp, 2010. p.63-90.

MATEOS-NARANJO, E.; ANDRADES-MORENO, L.; CAMBROLLÉ, J.; PEREZ-MARTIN, A. Assessing the effect of copper on growth, copper accumulation and physiological responses of grazing species *Atriplex halimus*: ecotoxicological implications. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 90, p. 136-142, Apr. 2013.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence - a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, n. 345, p. 659-668, 2000.

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

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

MIOTTO, A.; CERETTA, C. A.; BRUNETTO, G.; NICOLOSO, F. T.; GIROTTO, E.; FARIAS, J. G.; TIECHER, T. L.; DE CONTI, L.; TRENTIN, G. Copper uptake, accumulation and physiological changes in adult grapevines in response to excess copper in soil. **Plant and Soil**, v. 374, n. 1, p. 593-610, Jan. 2014.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, n. 9, p. 405-410, Sep. 2002.

MYSLIWA-KURDZIEL, B.; PRASAD, M. N. V.; STRZALKA, K. Photosynthesis in metal plants. In: PRASAD, M. N. V.(Ed.). **Heavy metal stress in plants: from molecule to ecosystems**. Berlin: Springer, 2004. p. 146-181.

- NOCTOR, G.; FOYER, C. H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 49, p. 249-279, June 1998.
- OUZOUNIDOU, G.; ELEFThERIOU, E. P.; KARATAGLIS, S. Ecophysical and ultrastructural effects of copper in *Thlaspi ochroleucum* (Cruciferae). **Canadian Journal of Botany**, v. 70, n. 5, p. 947-957, 1992.
- OUZOUNIDOU, G.; ČIAMPOROVÁ, M.; MOUSTAKAS, M.; KARATAGLIS, S. Responses of maize (*Zea mays* L.) plants to copper stress – I. Growth, mineral content and ultrastructure of roots. **Environmental and Experimental Botany**, v. 35, n. 2, p. 167-176, Apr. 1995.
- PANOU-FILOTHEOU, H.; BOSABALIDIS, A. M. Root structural aspects associated with copper toxicity in oregano (*Origanum vulgare* subsp. *hirtum*). **Plant Science**, v. 166, n. 6, p. 1497-1504, June 2004.
- POTTERS, G.; PASTERNAK, T. P.; GUISEZ, Y.; PALME, K. J.; JANSEN, M. A. Stress-induced morphogenic responses: growing out of trouble? **Trends in Plant Science**, v. 12, n. 3, p. 98-105, Mar. 2007.
- POTTERS, G.; PASTERNAK, T. P.; GUISEZ, Y.; JANSEN, M. A. Different stresses, similar morphogenic responses: integrating a plethora of pathways. **Plant, Cell and Environment**, v. 32, n. 2, p. 158–169, Feb. 2009.
- PRADO, C. H. B. A. **Aquisição de nutrientes minerais na solução do solo**. São Carlos: Tipographia Editora Expressa. 2013. 188p.
- ROSA, D. J.; AMBROSINI, V. G.; BASSO, A.; BORGHEZAN, M.; BRUNETO, G.; PESCADOR, R. Photosynthesis and growth of young “Niágara Branca” vines (*Vitis labrusca* L.) cultivated in soil with high levels of copper and liming. In: **BIO Web of Conferences**, Mendonza, Argentina: EDP Sciences, 2014. p. 01005.
- RUANO, A.; POSCHENRIEDER, C.; BARCELO, J. Growth and biomass partitioning in zinc-toxic bush beans. **Journal of Plant Nutrition**, v. 11, n. 5, p. 577-588, 1988.
- SAGARDOY, R.; MORALES, F.; LÓPEZ-MILLÁN, A. F.; ABADÍA, A.; ABADÍA, J. Effects of zinc toxicity on sugar beet (*Beta vulgaris* L.) plants grown in hydroponics. **Plant Biology**, v. 11, n. 3, p. 339-350, May 2009.
- SANTANA, N. A.; FERREIRA, P. A. A.; SORIANI, H. H.; BRUNETTO, G.; NICOLOSO, F. T.; ANTONIOLLI, Z. I.; JACQUES, R. J. S. Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and vermicompost on copper phytoremediation in a sandy soil. **Applied Soil Ecology**, v. 96, p. 172-182, Nov. 2015.
- SANTOS, H. P. dos; MELO, G. W. B. de; LUZ, N. B. da; TOMASI, R. J. **Comportamento fisiológico de plantas de aveia (*Avena strigosa*) em solos com excesso de cobre**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2004. 11 p. (Embrapa uva e Vinho. Comunicado Técnico, 49).
- SCANDALIOS, J. G. The rise of ROS. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 27, n. 9, p. 483-486, Sep. 2002.
- SOFO, A.; VITTI, A.; NUZZACI, M.; TATARANNI, G.; SCOPA, A.; VANGRONVELD, J.; REMANS, T.; FALASCA, G.; ALTAMURA, M. M.; DEGOLA, F.; SANITÀ DI TOPPI, L. Correlation between hormonal homeostasis and morphogenic responses in *Arabidopsis thaliana* seedlings growing in a Cd/Cu/Zn multi-pollution context. **Physiologia Plantarum**, v. 149, n. 4, p. 487-498, Dec. 2013.

- SHELDON, A. R.; MENZIES, N. W. The effect of copper toxicity on the growth and root morphology of Rhodes grass (*Chloris gayana* Knuth.) in resin buffered solution culture. **Plant and Soil**, v. 278, n. 1, p. 341-349, Dec. 2005.
- SHINOZAKI, K.; UEMURA, M.; BAILEY-SERRES, J.; BRAY, E. A.; WERETILNYK, E. Responses to abiotic stress. In: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. (Eds.). **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. 2th ed. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd, 2015. p. 1051-1100.
- SIEDLECKA, A.; KRUPA, Z. Rubisco activity maintenance in environmental stress conditions-how many strategies. **Cellular and Molecular Biology Letters**, v. 9, p. 56-57, 2004.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: ArtMed. 2013. 918p.
- TANYOLAÇ, D.; EKMEKÇI, Y.; ÜNALAN, S. Changes in photochemical and anti-oxidant enzyme activities in maize (*Zea mays* L.) leaves exposed to excess copper. **Chemosphere**, v. 67, n. 1, p. 89-98, Feb. 2007.
- TIECHER, T. L.; CERETTA, C. A.; FERREIRA, P. A. A.; LOURENZI, C. R.; TIECHER, T.; GIROTTO, E.; NICOLOSO, F. T.; SORIANI, H. H.; DE CONTI, L.; MIMMO, T.; CESCO, S.; BRUNETTO, G. The potential of *Zea mays* L. in remediating copper and zinc contaminated soils for grapevine production. **Geoderma**, v. 262, p. 52-61, Jan. 2016a.
- TIECHER, T. L.; TIECHER, T.; CERETTA, C. A.; FERREIRA, P. A. A.; NICOLOSO, F. T.; SORIANI, H. H.; TASSINARI, A.; PARANHOS, J. T.; DE CONTI, L.; BRUNETTO, G. Physiological and nutritional status of black oat (*Avena strigosa* Schreb.) grown in soil with interaction of high doses of copper and zinc. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 106, p. 253-263, Sep. 2016b.
- TONIETTO, J. Evaluación climática global de las zonas vitícolas. **Revista Enología**, v. 4, n. 2, p. 24-35, 2007.
- TOSELLI, M.; BALDI, E.; MARCOLINI, G.; MALAGUTI, D.; QUARTIERI, M.; SORRENTI, G.; MARANGONI, B. Response of potted grapevines to increasing soil copper concentration. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 15, n. 1, p. 85-92, Feb. 2009.
- VERBRUGGEN, N.; HERMANS, C. Root Responses to Trace Metallic Elements. In: ESHEL, A.; BEECKMAN, T. (Eds.). **Plant Roots: The Hidden Half**. 4th ed. Boca Raton: CRC Press, 2013. p. 34-1-34-30.
- WANG, C.; ZHANG, S. H.; WANG, P. F.; HOU, J.; ZHANG, W. J.; LI, W.; LIN, Z. P. The effect of excess Zn on mineral nutrition and antioxidative response in rapeseed seedlings. **Chemosphere**, v. 75, n. 11, p. 1468-1476, June 2009.
- YANG, Y.; SUN, C.; YAO, Y.; ZHANG, Y.; ACHAL, V. Growth and physiological responses of grape (*Vitis vinifera* "Combier") to excess zinc. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 33, n. 4, p. 1483-1491, July 2011.
- YRUELA, I. Copper in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 17, n. 1, p. 145-146, 2005.
- YRUELA, I. Copper in plants: acquisition, transport and interactions. **Functional Plant Biology**, v. 36, n. 5, p. 409-430, Feb. 2009.
- ZENGİN, F. K.; MUNZUROĞLU, O. Effects of some heavy metals on content of chlorophyll, proline and some antioxidant chemicals in bean (*Phaseolus vulgaris* L.)

seedlings. **Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica**, v. 47, n. 2, p. 157-164, 2005.

ZVEZDANOVIC, J.; MARKOVIC, D.; NIKOLIC, G. Different possibilities for the formation of complexes of copper and zinc with chlorophyll inside photosynthetic organelles: chloroplasts and thylakoids. **Journal of the Serbian Chemical Society**, v. 72, n. 11, p. 1053-1062, 2007.