

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

SAMUEL VITOR ASSIS MACHADO DE LIMA

**APLICAÇÃO DE QUITOSANA NA RAIZ E PARTE AÉREA ALTERA O PADRÃO DE
ACÚMULO DE CÁDMIO EM ESTACAS DE *Talinum patens* (Talinaceae)**

Alfenas/MG

2021

SAMUEL VITOR ASSIS MACHADO DE LIMA

APLICAÇÃO DE QUITOSANA NA RAIZ E PARTE AÉREA ALTERA O PADRÃO DE
ACÚMULO DE CÁDMIO EM ESTACAS DE *Talinum patens* (Talinaceae)

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para
obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais,
pela Universidade Federal de Alfenas. Área de
concentração: Ciências Ambientais.

Orientador: Dr. Thiago Corrêa de Souza
Coorientadora: Dra. Daniele Maria Marques

Alfenas/MG

2021

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfnas

L732a Lima, Samuel Vitor Assis Machado de.
Aplicação de quitosana na raiz e parte aérea altera o padrão de acúmulo de cádmio em estacas de *Talinum patens* (*Talinaceae*). / Samuel Vitor Assis Machado de Lima. – Alfnas, MG, 2021.
56f.: il. –

Orientador: Thiago Corrêa de Souza
Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade Federal de Alfnas, 2021.
Bibliografia.

1. Rizofiltração. 2. Metais pesados. 3. Fitorremediação. 4.
Talinum paniculatum. I. Souza, Thiago Corrêa de. II. Título.

CDD-577

SAMUEL VITOR ASSIS MACHADO DE LIMA

“APLICAÇÃO DE QUITOSANA NA RAIZ E PARTE AÉREA ALTERA O PADRÃO DE ACÚMULO DE CÁDMIO EM ESTACAS *TALINUM PATENS* (TALINACEAE)”

A Banca examinadora abaixo-assinada aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Ciências Ambientais.

Aprovada em: 16 de Julho de 2021

Prof. Dr. Thiago Corrêa de Souza

Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Profa. Dra. Marinês Ferreira Pires Lira

Instituição: Universidade Federal de Lavras

Dr. Roniel Geraldo Avila

Instituição: Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde



Documento assinado eletronicamente por **Thiago Corrêa de Souza, Professor do Magistério Superior**, em 16/07/2021, às 16:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do **Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015**



Documento assinado eletronicamente por **Marinês Ferreira Pires Lira, Usuário Externo**, em 16/07/2021, às 16:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do **Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015**.



Documento assinado eletronicamente por **Roniel Geraldo Avila, Usuário Externo**, em 20/07/2021, às 16:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do **Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015**.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0536260** e o código CRC **CFED1F3C**.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) (Código de Financiamento 001) e à Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG) pelo financiamento das análises de nutrientes.

Eu gostaria de agradecer particularmente aos meus pais e minha irmã pelo apoio e carinho mesmo em longos períodos de distância.

Aos meus orientadores pela paciência, direcionamento e auxílio na produção desse trabalho.

Aos amigos que fiz nessa jornada e os bons momentos vividos.

Ao Matheus pela grande ajuda na execução e manutenção do experimento, pela amizade fora do trabalho e pelo apoio na moradia.

À Daniela por ser minha companheira todo esse tempo, apoiando de todas as maneiras, me trazendo paz e tranquilidade.

Ao Isaiás por sempre ajudar nas caronas, pela amizade feita e por ajudar em tudo que era possível.

Ao Luciano pela disposição e ajuda em diversos momentos importantes.

A Deus por ter me dado saúde e força durante todo o tempo.

E a todos que foram de alguma forma importantes tanto no meu convívio quanto na realização desse trabalho.

RESUMO

O cádmio (Cd) é um metal pesado, presente em diferentes tipos de efluentes que podem contaminar o meio ambiente. É um metal fitotóxico que aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio e pode levar a planta à morte. Entretanto, algumas plantas desenvolvem estratégias de tolerância, que vão desde um aumento da eficiência das enzimas antioxidantes a modificações morfológicas e redução do transporte dos metais para outros tecidos. A *Talinum patens* é tolerante a metais pesados e desenvolve grande número de raízes, podendo assim, ser utilizada na técnica de rizofiltração. Todavia, embora tolerante, o contato com metais pesados pode causar efeitos indesejados à planta e afetar a sua capacidade de remediação. Contudo, existe um biopolímero chamado quitosana que é conhecido por amenizar diferentes tipos de estresses em plantas, inclusive os provocados pelo Cd. Poucos estudos testam a diferença entre aplicações foliares e radiculares da quitosana, principalmente relacionando à rizofiltração com *T. patens* e metais pesados. Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito de ambas as aplicações de quitosana no padrão de acúmulo de Cd, na morfofisiologia e na atividade das enzimas antioxidantes das estacas de *T. patens* submetidas a Cd. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, e após 75 dias da semeadura das sementes, estacas foram feitas e transportadas para potes contendo solução nutritiva. Após a aclimação das estacas foram aplicados os tratamentos que consistiam em três concentrações de Cd (0, 7, 14 mg L⁻¹) e três formas de aplicar a quitosana (sem aplicação, aplicação radicular e aplicação foliar). Após 30 dias de imposição dos tratamentos de Cd foram analisadas: a biomassa seca, o teor de Cd e nutrientes, a morfologia das raízes, as trocas gasosas foliares, o teor e a fluorescência da clorofila e a atividade das enzimas antioxidantes. As estacas foram tolerantes ao Cd, pois o metal não influenciou na produção de biomassa e na eficiência fotossintética. A aplicação radicular de quitosana aumentou a área superficial e o volume de raízes mais grossas em detrimento das finas, enquanto a aplicação foliar resultou em maior comprimento total e área superficial das raízes, principalmente de raízes finas. Além disso, a *T. patens*, reteve a maior parte do Cd em seu sistema radicular, e quando aplicada quitosana nas folhas houve ativação da catalase nas raízes e folhas e maior captação do metal pelas raízes, enquanto a aplicação radicular apresentou o contrário. Conclui-se que as aplicações de quitosana são positivas às plantas, entretanto a aplicação de quitosana nas folhas é uma melhor escolha, podendo ser uma estratégia para potencializar a técnica de rizofiltração.

Palavras-chave: Rizofiltração; Metais pesados; Fitorremediação, *Talinum paniculatum*

ABSTRACT

Cadmium (Cd) is a heavy metal that can be present in different types of effluents which can contaminate the environment. It is a phytotoxic metal which increases the production of reactive oxygen species and can lead to plant death. However, some plants have developed tolerance strategies, which range from an increase in the efficiency of antioxidant enzymes to morphological changes and a reduction in the transport of metals to other tissues. *Talinum patens* is tolerant to heavy metals and develops many roots, so it can be used in the rhizofiltration technique. Although tolerant, contact with heavy metals can cause unwanted effects to the plant and affect its remediation capacity. However, there is a biopolymer called chitosan, which is known to alleviate different types of stresses in plants, including those caused by Cd. Few studies test the difference between foliar and root applications of chitosan, mainly relating to rhizofiltration with *T. patens* and heavy metals. Therefore, the objective of this work is to evaluate the effect of both chitosan applications on the pattern of Cd accumulation, on the morphophysiology and in the activity of enzymes of the antioxidant system of *T. patens* cuttings subjected to Cd. The experiment was carried out in a greenhouse, and 75 days after the sowing of the seeds cuttings were made and transported to pots containing nutrient solution, after acclimatization of the cuttings the treatments were applied, consisting of three concentrations of Cd (0, 7, 14 mg L⁻¹) and three ways of applying chitosan (no application, root application and leaf application). After 30 days of treatment application, were analyzed: dry biomass, Cd and nutrient content, root morphology, gas exchanges of the leaves, chlorophyll content and fluorescence, and antioxidant enzyme activity. Cuttings were tolerant to Cd, because the metal did not influence biomass production and photosynthetic efficiency. The root application of chitosan increased the surface area and volume of thicker roots at the detriment of the finer ones, while the foliar application resulted in greater total length and surface area of the roots, mainly in finer ones. Furthermore, *T. patens* retained most of the Cd in its root system, and when chitosan was applied to the leaves, catalase was activated in the roots and leaves, increasing metal uptake by the roots, while root application showed the opposite. It is concluded that the applications of chitosan are positive to plants, however the application of chitosan in the leaves is a better choice and can be a strategy to enhance the rhizofiltration technique.

Keywords: Rhizofiltration; Heavy metals; Phytoremediation, *Talinum paniculatum*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 REFERENCIAL TEÓRICO	8
2.1 O que são metais pesados?	8
2.2 O cádmio, formas de contaminação e seus efeitos na saúde humana.....	8
2.3 O cádmio, seus efeitos nas plantas e estratégias de defesa de espécies tolerantes	9
2.4 <i>Talinum patens</i> (L.) Willd	11
2.5 Rizofiltração, umas das técnicas da fitorremediação.....	12
2.6 Quitosana.....	13
2.6.1 Quitosana no tratamento de efluentes e locais contaminados por metais pesados.	14
2.6.2 Usos da quitosana na agricultura, mitigando estresses abióticos.	15
2.6.3 Efeitos da quitosana na redução do estresse causado por cádmio.....	16
3 JUSTIFICATIVA	18
4 OBJETIVOS	19
REFERÊNCIAS	20
Artigo submetido à revista <i>Environmental Geochemistry Health</i>: Aplicação de quitosana na raiz e parte aérea altera o padrão de acúmulo de cádmio em estacas de <i>Talinum patens</i> (Talinaceae).....	26
Informações suplementares.....	54

1 INTRODUÇÃO

O cádmio (Cd) é um metal pesado proveniente do processamento de diversas atividades industriais. É um metal tóxico, não degradável e bioacumulativo, com efeitos nocivos à saúde humana, às plantas e ao meio ambiente, que quando descartado de maneira incorreta pode contaminar fontes de água que abastecem os ecossistemas e as atividades antropogênicas. Para amenizar os problemas que podem ser trazidos pelo Cd, tecnologias sustentáveis têm sido utilizadas e estudadas, como por exemplo, a fitorremediação.

A fitorremediação é um termo amplo, que se refere ao uso de plantas na despoluição ambiental. As técnicas fitorremediadoras, como o caso da rizofiltração, são técnicas baratas e ecológicas de se tratar contaminantes. Algumas plantas, como é o caso da *Talinum patens* (L.) Willd (Talinaceae), podem ser utilizadas na rizofiltração por tolerarem altas concentrações de metais pesados e por apresentarem demais características que se adequem à técnica.

Todavia, por mais que se tenham plantas tolerantes à contaminação, dependendo do tipo de metal e da sua concentração, o vegetal pode ser fisiologicamente afetado diminuindo a sua capacidade de remediar o ambiente, e dependendo do caso levando à sua morte. Entretanto, tem-se observado o uso de compostos que podem amenizar o estresse causado pelos metais, e um deles é a quitosana.

Devido ao fato da quitosana ter capacidade de mitigar os efeitos negativos do Cd em plantas, sugere-se que o uso desse composto pode aprimorar a capacidade de plantas de extrair o metal de efluentes contaminados, e conseqüentemente melhorar a eficiência da rizofiltração. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar qual o efeito de duas formas de aplicação de quitosana, via raiz e via folha, no acúmulo de Cd, e nos parâmetros morfofisiológicos de estacas de *T. Patens* submetidas a três concentrações de Cd para no fim concluir as suas eficácias na técnica de rizofiltração.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Atualmente, um dos maiores problemas vividos pela sociedade moderna é a produção de resíduos e seu inadequado descarte. Há uma grande variedade de poluentes derivados de atividades humanas, com grande efeito prejudicial ao meio ambiente e à saúde de animais, plantas e seres humanos, um desses contaminantes são os metais pesados.

2.1 O que são metais pesados?

Os metais pesados são elementos que possuem grande massa atômica e uma alta densidade (acima de 5 g cm^{-3}). São naturalmente encontrados em menores quantidades que outros elementos, sendo considerados elementos traço na atmosfera, embora presentes em todos os locais do planeta (KOLLER; SALEH, 2018). Alguns deles têm funções biológicas conhecidas, sendo necessários em pequenas quantidades como, ferro (Fe), zinco (Zn), cobre (Cu), manganês (Mn) e cobalto (Co). Enquanto outros são extremamente tóxicos e não possuem funções biológicas, sendo que poucas quantidades podem trazer consequências deletérias a sistemas biológicos, tais como o chumbo (Pb), mercúrio (Hg) e o Cd (NAKBANPOTE; MEESUNGNOEM; PRASAD, 2016).

2.2 O cádmio, formas de contaminação e seus efeitos na saúde humana

O Cd é um metal pesado oriundo do processamento de metais como Zn e Cu, e se acumula no meio ambiente a partir de atividades industriais, como queima de combustíveis fósseis, produção de fertilizantes e cimentos, produção de baterias de níquel-cádmio (Ni-Cd), pigmentos, tintas, plásticos e cerâmicas (MARTÍNEZ FLORES *et al.*, 2013). Esses produtos no processo industrial acabam por contaminar o ar, os lençóis freáticos, o solo e rios, que por sua vez podem irrigar plantações, e serem fonte de água para criações, animais selvagens e humanos. Com isso, o Cd pode ser obtido através da alimentação, por alimentos como moluscos, crustáceos, sementes de girassol, amendoim, linhaça, por hortaliças, frutas, tabaco, vísceras de animais e pescados (NAVA-RUIZ; MÉNDEZ-ARMENTA, 2011; REYES *et al.*, 2016). Dessa maneira o metal é passado pela cadeia trófica e se bioacumula no ecossistema.

A contaminação de águas superficiais ou subterrâneas por Cd se dá principalmente por descarga de efluentes, industriais, agrícolas e de mineração. A contaminação também pode

ocorrer com o descarte de resíduos sólidos em aterros sanitários mal construídos, em que o metal é lixiviado e alcança os lençóis freáticos (TIWARI *et al.*, 2018). Devido à toxicidade do metal a legislação brasileira definiu um limite máximo de 0,2 mg L⁻¹ de Cd no descarte de efluentes (CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE, 2011).

A exposição a altos níveis e em longo prazo de Cd pode ocasionar diversos problemas de saúde humana e causar comprometimento de vários órgãos tais como rins, pulmão, testículos, fígado, placenta e ossos (SATARUG *et al.*, 2010). O Cd é um dos metais pesados mais tóxicos para o ser humano e de acordo com Sabath e Robles-Osorio (2012), cerca de 50 a 80% desse elemento se acumula no fígado e rins. A exposição ao metal pode trazer diversos danos à saúde, como, anomalias na função renal, osteoporose, anemia, alterações olfativas, infertilidade em homens, problemas cardiovasculares, hipertensão, diabetes, lesões oculares, dentre outros. Complementar a isso a Agência Internacional para a investigação do câncer (IARC) classificou o Cd dentro do grupo 1, associando-o a vários tipos de câncer como de pulmão, fígado, mama, próstata, e cérebro (MIURA, 2009; SATARUG *et al.*, 2010).

2.3 O cádmio, seus efeitos nas plantas e estratégias de defesa de espécies tolerantes

O Cd é um metal não essencial e altamente tóxico para as plantas. Raízes de plantas expostas a longo prazo a Cd começam a ficar amarronzadas e mucilaginosas, diminuem de tamanho, e decompõem-se (ESPANANY; FALLAH; TADAYYON, 2016); folhas podem apresentar sinais de clorose, necrose e pontos amarelos (DU *et al.*, 2014). Além disso, o metal tem capacidade de inibir o crescimento e causar a morte do vegetal. (NAGAJYOTI; LEE; SREEKANTH, 2010).

A absorção de Cd pelas plantas ocorre pela sua forma catiônica Cd²⁺, e pode ser absorvido pelas raízes a partir de transportadores de outros micronutrientes como, proteínas transportadoras de ferro (Fe) e zinco (Zn), canais de cátion, canais de cálcio (Ca) ativados por despolarização, canais de Ca ativados por hiperpolarização e canais de cátion insensíveis à voltagem (ASGHER *et al.*, 2015). Além disso, o Cd é capaz de se combinar com outros elementos, como por exemplo, nitrogênio e derivados, principalmente nitrato, e dessa forma aumentar a quantidade absorvida, translocada e acumulada nas plantas (YANG *et al.*, 2020).

O Cd pode interferir na absorção e assimilação de substâncias essenciais como, nitrogênio, amônia e derivados, e nutrientes minerais, por competir na absorção, além de inibir a ação de enzimas que metabolizam esses compostos, trazendo problemas nutricionais

em plantas (BALESTRASSE et al., 2003; DAS; SAMANTARY; ROUT, 1997; HERNÁNDEZ; CARPENA-RUIZ; GÁRATE, 1996). Um estudo realizado por Bertoli *et al.* (2012), com *Lycopersicon esculentum*, mostra que o Cd reduziu o conteúdo de potássio (K), Ca, manganês (Mn) e Zn na parte aérea, K nos frutos e Mn nas raízes, além de reduzir a taxa de translocação de cobre (Cu) e fósforo (P) nas partes aéreas.

A diminuição do tamanho das plantas, tal como da sua biomassa é resultado da queda da fotossíntese, proporcionada pela redução da eficiência de diversos mecanismos. Ocorre diminuição da eficiência do fotossistema II, da absorção do CO₂ e da atividade da Ribulose 1,5-bifosfato carboxilase (RuBisCO), o que leva a redução da captação de energia luminosa devido a modificações nas estruturas dos cloroplastos e pigmentos fotossintéticos, onde há substituição do magnésio (Mg), pelo Cd na estrutura das clorofilas (*a*) e (*b*) (ASGHER *et al.*, 2015; DIAS *et al.*, 2013; PARMAR; KUMARI; SHARMA, 2013).

O estresse oxidativo induzido por Cd em plantas é um dos sintomas mais comuns quando há intoxicação (JIN *et al.*, 2013; SANDALIO *et al.*, 2001). As plantas respondem ao Cd de diversas maneiras devido à produção de espécies reativas ao oxigênio (EROS). Tais moléculas contém um par de elétrons desparelhado na camada de valência, portanto são radicais livres com grande poder destrutivo. Alguns tipos de EROS são o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), radicais hidroxila (OH•), oxigênio livre (½ O₂), hidroperóxidos orgânicos (ROOH), superóxidos, entre outros (SHAHID *et al.*, 2017). A consequência do Cd e das EROS nas plantas são o fechamento dos estômatos, acúmulo de ácido abscísico, inibição da síntese de clorofila e da fotossíntese, diminuição da capacitação e fluxo de água nos tecidos, mudanças nos sistemas antioxidantes e distúrbios nas estruturas da membrana plasmática (peroxidação lipídica) (SHAKIROVA *et al.*, 2016).

Todavia, algumas plantas desenvolveram estratégias para tentar sobreviverem aos metais pesados e aos danos oxidativos, sendo consideradas plantas tolerantes. A estratégia de defesa dessas plantas está relacionada com o aumento da eficiência do sistema antioxidante, melhorando a atividade da superóxido dismutase (SOD), ácido ascórbico (AsA), catalases (CAT), ascorbato peroxidase (APX), guaiacol peroxidase (GPX), antocianinas, α-tocoferol, entre outras substâncias e enzimas (KUMAR; PRASAD; SYTAR, 2012; PANDEY *et al.*, 2015). Muitas vezes tais compostos são sintetizados acima da quantidade naturalmente produzidas por plantas não expostas aos metais pesados. Esses compostos podem atuar removendo diferentes tipos de EROS, diminuindo os efeitos destrutivos dos oxidantes e

umentando a proteção das estruturas e o funcionamento celular (ZONG *et al.*, 2017; LIU; GAI; ZONG, 2021).

Além da produção de antioxidantes, plantas tolerantes podem imobilizar e/ou reduzir o transporte dos metais pesados entre os tecidos, captando os metais e imobilizando-os em vacúolos ou no apoplasto (RASCIO; NAVARI-IZZO, 2011; VIEHWEGER, 2014). Pode haver também aumento da espessura da exoderme radicular, o que leva a uma maior área de retenção dos metais, reduzindo a quantidade que pode ser levada à parte aérea, via xilema (ADREES *et al.*, 2015). Com isso a planta impede que metais pesados cheguem às folhas e causem problemas ao maquinário fotossintético.

2.4 *Talinum patens* (L.) Willd

Talinum sp., é um gênero de plantas pertencente à família Talinaceae, sendo a *Talinum patens* (L.) Willd (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.) (FIGURA 1) uma das espécies (SOUZA *et al.*, 2018).

Figura 1 - *Talinum patens* (L.) Willd.



Fonte: Do autor, 2020

Talinum sp., são nativas das Américas, porém podem ser encontradas em outros locais, como na África. No Brasil é conhecida popularmente como Beldroega-grande, Beldroegão,

Maria-Gorda ou Língua-de-Vaca e são utilizadas na alimentação, como plantas ornamentais, e como plantas fitorremediadoras. Essas plantas crescem em diversos tipos de solos, que variam desde arenosos e argilosos a solos secos. Desenvolvem-se em ambiente ensolarado, sombreado ou úmidos. São ervas perenes que podem crescer e atingir uma altura média de 70 cm, possuem rápido desenvolvimento e se reproduzem por plantio das suas sementes ou por corte das estacas (MOSANGO, 2004; SOUZA *et al.*, 2018).

Plantas desse gênero são conhecidas pela sua capacidade de tolerar diferentes tipos de metais pesados, além de produzirem várias raízes adventícias que auxiliam na absorção desses elementos (KUMAR; PRASAD; SYTAR, 2012; RAJKUMAR *et al.*, 2009; SOUZA *et al.*, 2018). Devido a essas características a *Talinum patens* pode ser utilizada na rizofiltração.

2.5 Rizofiltração, umas das técnicas da fitorremediação

A fitorremediação é uma técnica que trata diversos tipos de contaminantes a partir da utilização de plantas como agentes despoluidores de locais contaminados. Portanto, se caracteriza como uma alternativa mais ecológica e barata que técnicas físico-químicas, que muitas vezes além de serem caras acabam por trazer efeitos colaterais indesejados no meio ambiente (KRISTANTI *et al.*, 2021).

Esta técnica é dividida em cinco vertentes que utilizam plantas, que são: rizofiltração, fitoextração, fitoestabilização, fitotransformação e fitovolatização (GHOSH; SINGH, 2005). É desejável que essas plantas sejam de fácil manejo, adaptem-se bem a diferentes ambientes, cresçam rápido, tenham um sistema radicular evoluído e possam explorar grande área contaminada, tolerando os níveis de contaminação, retendo ou transportando as substâncias em seus tecidos (PANDEY; BAJPAI, 2018).

A técnica da rizofiltração consiste em inserir o sistema radicular de plantas terrestres ou aquáticas em soluções contaminadas por poluentes, como metais pesados. Com isso, atuam como um biofiltro, pois as raízes extraem os metais da água os estabilizando ou os transportando para outras partes da planta (DUSHENKOV *et al.*, 1995). Essa técnica pode ser aplicada em ambiente natural (*in situ*) como, efluentes, águas superficiais ou residuais, mas também em locais (*ex situ*), como no tratamento ou estudos conduzidos em sistemas hidropônicos (DUSHENKOV *et al.*, 1995; PANDEY BAJPAI, 2018).

A rizofiltração é capaz de mobilizar contaminantes e prevenir que eles contaminem os lençóis freáticos e entrem na cadeia trófica (GALAL *et al.*, 2018). Além disso, sistemas hidropônicos são favoráveis à técnica, pois reduzem o tempo de crescimento da planta, não

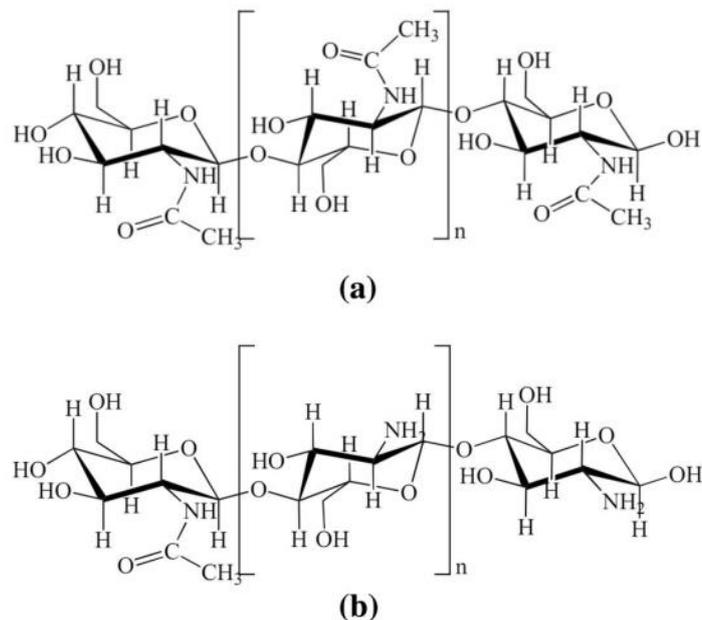
necessitando de espaços grandes para sua implementação, facilitando o acompanhamento das raízes e evitando que elas desidratem (MUTHUKUMAR; DINESH-BABU, 2020).

Embora determinadas espécies de plantas, como a *Talinum patens*, consigam tolerar a determinadas concentrações de metais pesados, o contato com tais elementos, podem lhe trazer efeitos negativos, o que reduz as chances de se obter maiores sucessos com a rizofiltração. Entretanto, existe um composto que é capaz de aliviar diversos tipos de estresses ambientais em plantas, inclusive os causados pelo Cd, chamado quitosana.

2.6 Quitosana

A quitosana é um polímero de glicose derivado da quitina (FIGURA 2). A quitina, por sua vez, está presente em artrópodes, nas carapaças de caranguejos, nas cascas de camarões, nos exoesqueletos de insetos, mas também na parede celular de alguns fungos.

Figura 2 - (a) Estrutura da quitina; (b) Estrutura da quitosana.



Fonte: ISLAM; BHUIYAN; ISLAM, 2017

Comercialmente a quitosana é obtida através da desmineralização da quitina por ácidos, seguidos por uma quebra das proteínas agregadas à sua estrutura através de soluções alcalinas (ISLAM; BHUIYAN; ISLAM, 2017; KAYA *et al.*, 2015). Esse processo causa uma desacetilação da estrutura da quitina e forma a quitosana, um polímero linear consistindo de

duas subunidades, D-glucosamina e N-acetil-glucosamina conectadas por ligações glicosídicas (HIDANGMAYUM *et al.*, 2019). A quitosana tem sido utilizada devido à sua fácil obtenção, bioatividade, degradabilidade e compatibilidade, e por aproveitar subprodutos de frutos do mar. (ISLAM; BHUIYAN; ISLAM, 2017).

A quitina possui uma limitação em seu uso, que é a dificuldade de se dissolver, isso é um dos motivos que justifica o uso da quitosana, pois os agrupamentos amina presentes em sua estrutura proporcionam que quando inserida em meio ácido ela seja mais solúvel do que a quitina. Complementarmente, a alta viscosidade de soluções concentradas de quitosana permite amplo uso, podendo ser produzidos compostos como biofilmes, géis, entre outros (DIVYA; JISHA, 2018; RAMÍREZ *et al.*, 2010). Além disso, a quitosana pode ser modificada (substituindo ou adicionando grupos), sem que suas propriedades sejam perdidas, diferentemente de outros biopolímeros, como o amido, celulose, e a própria quitina (DIVYA; JISHA, 2018; MALERBA; CERANA, 2019). Portanto, devido a suas propriedades a quitosana tem sido aplicada em diversas áreas.

2.6.1 Quitosana no tratamento de efluentes e locais contaminados por metais pesados.

A quitosana pode ser usada como bioadsorventes de metais pesados. Devido ao grupo amina presente na sua estrutura, ela atua como um quelante de metais, o que foi visto no estudo de Rana *et al.* (2009), no qual se testou filtros de quitosana em que passavam soluções contendo diferentes metais pesados. Foi constatada uma eficiência significativa para a adsorção da quitosana para metais pesados, na seguinte ordem $Mn > Cd > Zn > Co > Ni > Fe > Pb > Cr$.

No experimento de Kwok *et al.* (2014), concluíram alguns dos mecanismos de remoção de arsênio (As) por quitosana e nanoquitosana, sendo que a eficiência na remoção é devido a diversos fatores, como interação entre os íons de As e a quitosana, e a propriedades físico-químicas do material como, protonação de agrupamentos amina, pureza, cristalização e o grau de desacetilação.

A quitosana também tem sido usada para a adsorção de outros resíduos, como corantes e agentes agroquímicos (EL HARMOUDI *et al.*, 2014; HU *et al.*, 2006; ZHOU *et al.*, 2016).

2.6.2 Usos da quitosana na agricultura, mitigando estresses abióticos.

A quitosana devido as suas características e não toxicidade tem sido utilizada na agricultura: no estímulo do crescimento vegetal, na mitigação do estresse hídrico, salino e estresse por metais pesados. Também tem sido utilizada como biofertilizante, entre outros (HIDANGMAYUM *et al.*, 2019; MALERBA; CERANA, 2016, 2018, 2019).

Foi testado por Pirbalouti *et al.* (2017) a aplicação de quitosana em diferentes proporções em duas espécies de plantas, *Ocimum ciliatum* e *Ocimum basilicum*, em condições normais de irrigação e em estresse hídrico, avaliando aspectos como morfologia, fisiologia e bioquímica. Notou-se que em ambas as espécies em condições de seca o crescimento e pigmentos fotossintéticos diminuíram, e com a aplicação de quitosana na concentração de 0,4 g L⁻¹, o crescimento de caules e raízes foram melhores, assim como a área foliar. Devido a uma menor evaporação e conseqüentemente menor perda de água, a quitosana auxiliou as plantas no combate à escassez hídrica, além de interferir positivamente no conteúdo de pigmentos fotossintetizantes, fenóis e na regulação de antioxidantes.

Em um estudo conduzido por Li *et al.* (2017), foi notado que a aplicação exógena de quitosana também aumentou a tolerância à seca em *Trifolium repens*. Análises metabólicas demonstraram que com a quitosana houve maior acúmulo de açúcares, álcoois, aminoácidos, orgânicos ácidos e outros metabólitos (ascorbato, glutatona, flavonóides, putrescina e espermidina). Tais compostos estão associados ao ajuste osmótico, defesa antioxidante, sinalização celular e metabolismo energético, ao passo que análises transcriptômicas revelaram que a quitosana auxiliou na regulação dos genes responsáveis pelo metabolismo desses compostos.

Solos salinos também podem ser um problema no cultivo, pois afetam a produção de clorofila, reduzem as taxas fotossintéticas, a biomassa e o crescimento das cultivares. Ma *et al.* (2012) testaram aplicações de oligoquitosanas em *Triticum aestivum* tratadas em condições de estresse salino e notaram que plantas tratadas com o polímero tiveram melhores valores biométricos, melhorias nas análises ecofisiológicas, menor conteúdo de malondialdeído e aumento das atividades das enzimas antioxidantes.

Alguns estudos já testaram oligoquitosana na redução do estresse a altas temperaturas, Zhang *et al.* (2020) perceberam que a oligoquitosana foi capaz de ativar várias rotas metabólicas, como a do ácido alfa-linolênico, das enzimas antioxidantes e de sinalização, além de melhorar os parâmetros fotossintéticos de *Gracilariopsis lemaneiformis*.

2.6.3 Efeitos da quitosana na redução do estresse causado por cádmio.

A quitosana pode influenciar positivamente na tolerância de plantas expostas a Cd. Em estudo realizado por Qu *et al.* (2019) plantas de milho foram cultivadas em diferentes condições: apenas em solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), em solução nutritiva mais quitosana, em solução nutritiva mais Cd, e em solução nutritiva com mistura entre Cd e quitosana. Foi percebido que o crescimento das plantas de milho foi significativamente inibido na presença de Cd, sendo tanto no tamanho quanto na área radicular e foliar. A raiz foi o primeiro órgão a sentir, tendo seu crescimento e suas atividades inibidas, assim levando menos nutrientes para as folhas. O conteúdo de clorofila, atividade enzimática e antioxidante também diminuíram. Em contrapartida, os tratamentos que tinham quitosana e Cd mostraram um alívio no estresse, através de melhores valores no crescimento, pigmentação, taxa fotossintética, e na produção de antioxidantes, que conseqüentemente diminuíram as EROS. Os valores obtidos quando avaliados com outros tratamentos mostraram que a quitosana é capaz de estimular o crescimento, fotossíntese, produção de oxidante, em taxas melhores que em tratamentos conduzidos apenas em solução nutritiva.

Liu, Gai e Zong (2021) aplicaram quitosana nas folhas de *Triticum aestivum*, e notaram o alívio em diversos estresses causados por Cd. Nesse estudo as aplicações de diferentes pesos moleculares de quitosana em plântulas de trigo proporcionaram melhores valores de crescimento e teor de clorofila, assim como também reduziram o teor de malondialdeído, prolina e EROS, quando comparados com tratamentos sem a aplicação da quitosana e somente com Cd. Podendo esses efeitos serem justificados pelo ajuste feito pela quitosana sobre as atividade das enzimas antioxidantes e osmolaridade celular, mas também por ela proporcionar maior produção de biomassa das raízes, e benefícios na morfologia do sistema radicular, que demonstrou maior comprimento, volume, ramificação e menor diâmetro.

Em um experimento realizado em hidroponia, Zong *et al.* (2017) analisaram o potencial de proteção ao Cd de três moléculas de quitosana com 80% de desacetilação de pesos moleculares diferentes (10 kDa, 5 kDa e 1kDa), aplicadas nas folhas da planta *Brassica rapa* L. Plantas em contato com o Cd demonstraram crescimento, níveis de clorofila e carotenóides reduzidos, e aumento nos índices de malondialdeído. Com a aplicação foliar de quitosana aumentaram-se o crescimento e a concentração de clorofila, e diminuíram-se os níveis de malondialdeído. A aplicação de 1kDa foi a que obteve melhores resultados, melhorando significativamente a atividade fotossintetizante e a produção de antioxidantes e enzimas.

A quitosana tem capacidade de quelar íons Cd^{2+} , e estabilizá-los dentro dos vacúolos nas células. O composto também tem a capacidade de reduzir o transporte do Cd das raízes para as partes aéreas, assim evitando a inibição do crescimento. O Cd inibe a clorofila ester redutase, e a amino-*p*-valerolato durante a síntese de clorofila, enquanto a quitosana atua amenizando isso e a degradação desses pigmentos. Ela também estimula a produção da clorofila através de ativação de genes que promovem a síntese de cloroplastos e o alargamento deles, tão como protegendo suas estruturas e funções (QU *et al.*, 2019; ZONG *et al.*, 2017). A quitosana também pode atuar na sinalização de vários processos intracelulares, podendo diferenciar o funcionamento de genes que promovem o crescimento e a defesa da planta (LIU; GAI; ZONG, 2021).

Enquanto o Cd induz o fechamento estomático a quitosana, além de liberar a abertura dos estômatos, melhora os parâmetros de fluorescência da clorofila, facilitando a fotossíntese. Na medida em que o Cd aumenta a produção de espécies reativas ao oxigênio, a quitosana atua diminuindo o nível celular desses compostos livres, estabilizando-os, além de aumentar a produção de enzimas antioxidantes como SOD, CAT, APX. Dessa forma a quitosana diminui o efeito de peroxidação lipídica, aumentando a integridade da membrana plasmática. (LIU; GAI; ZONG, 2021; QU *et al.*, 2019; ZONG *et al.*, 2017).

3 JUSTIFICATIVA

Devido ao fato do Cd ser um metal pesado altamente tóxico e que pode estar presente em fontes de águas que abastecem atividades humanas e o ecossistema, se torna necessário o desenvolvimento de tecnologias que possam tratar os locais contaminados pelo metal. Entretanto é interessante o desenvolvimento de estratégias que sejam mais ecológicas e baratas de tratar esses resíduos. Dessa forma a rizofiltração se apresenta como uma boa opção.

Foi visto que a *Talinum patens* pode ser utilizada na rizofiltração, devido à sua conhecida tolerância a metais pesados, mas também por ter um fácil manejo, desenvolvimento rápido, boa adaptação ao meio e por desenvolver muitas raízes que auxiliam na captação dos metais.

A utilização da quitosana é justificada devido ao fato de ela ser um bioproduto atóxico de fácil obtenção e produção, e sustentável, pois reaproveita subprodutos de frutos do mar. Além disso, já é amplamente conhecida a utilidade da quitosana no alívio de estresses ambientais em plantas.

Embora conhecido os efeitos benéficos da quitosana em algumas plantas em diferentes tipos de estresses ambientais, poucos estudos testam a diferença entre aplicações foliares e radiculares da quitosana, principalmente quando relacionada à rizofiltração com *T. patens* e metais pesados. Portanto, torna-se necessário saber a diferença entre distintas formas de aplicação da quitosana, pois cada uma pode proporcionar resultados vantajosos ou não para a técnica de rizofiltração.

Além do mais, os conhecimentos a respeito dos mecanismos utilizados pela *T. patens* na rizofiltração dos metais pesados ainda são escassos. Dessa maneira é importante desenvolvimento de estudos que possam analisar e discutir a respeito das estratégias utilizadas por essa planta tanto para tolerar quanto retirar os contaminantes do meio. Pois o conhecimento sobre tais mecanismos pode auxiliar no desenvolvimento da técnica de rizofiltração com a *T. patens*.

4 OBJETIVOS

Esse estudo teve como objetivo avaliar qual efeito das aplicações radiculares e foliares de quitosana no padrão de acúmulo de Cd, na morfofisiologia e na atividade das enzimas do sistema antioxidante das estacas de *Talinum patens* submetidas a três concentrações do metal Cd.

REFERÊNCIAS

- ADREES, M. *et al.* The effect of excess copper on growth and physiology of important food crops: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 11, p. 8148–8162, 2015.
- ASGHER, M. *et al.* Minimising toxicity of cadmium in plants—role of plant growth regulators. **Protoplasma**, v. 252, n. 2, p. 399–413, 2015.
- BALESTRASSE, K. B. *et al.* Effect of cadmium stress on nitrogen metabolism in nodules and roots of soybean plants. **Functional Plant Biology**, v. 30, n. 1, p. 57–64, 2003.
- BERTOLI, A. C. *et al.* *Lycopersicon esculentum* submitted to Cd-stressful conditions in nutrition solution: Nutrient contents and translocation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 86, p. 176–181, 2012.
- CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução N° 430, De 13 De Maio De 2011**. [s.l: s.n.]. 2011. Disponível em:
<<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>>. Acesso em: 21 jan. 2021
- DAS, P.; SAMANTARAY, S.; ROUT, G. R. Studies on cadmium toxicity in plants: A review. **Environmental Pollution**, v. 98, n. 1, p. 29–36, 1997.
- DIAS, M. C. *et al.* Cadmium toxicity affects photosynthesis and plant growth at different levels. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 35, n. 4, p. 1281–1289, 2013.
- DIVYA, K.; JISHA, M. S. Chitosan nanoparticles preparation and applications. **Environmental Chemistry Letters**, v. 16, n. 1, p. 101–112, 2018.
- DU, Y. L. *et al.* Interactive effects between earthworms and maize plants on the accumulation and toxicity of soil cadmium. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 72, p. 193–202, 2014.
- DUSHENKOV, V. *et al.* Rhizofiltration: The Use of Plants to Remove Heavy Metals from Aqueous Streams. **Environmental Science and Technology**, v. 29, n. 5, p. 1239–1245, 1995.
- EL HARMOUDI, H. *et al.* Removal of 2,4-D from aqueous solutions by adsorption processes using two biopolymers: Chitin and chitosan and their optical properties. **Optical Materials**, v. 36, n. 9, p. 1471–1477, 2014.
- ESPANANY, A.; FALLAH, S.; TADAYYON, A. Seed priming improves seed germination and reduces oxidative stress in black cumin (*Nigella sativa*) in presence of cadmium. **Industrial Crops and Products**, v. 79, p. 195–204, 2016.

GALAL, T. M. *et al.* Bioaccumulation and rhizofiltration potential of *Pistia stratiotes* L. for mitigating water pollution in the Egyptian wetlands. **International Journal of Phytoremediation**, v. 20, n. 5, p. 440–447, 2018.

GHOSH, M.; SINGH, S. P. A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its byproducts. **Applied Ecology and Environmental Research**, v. 3, n. 1, p. 1–18, 1 jul. 2005.

HERNÁNDEZ, L. E.; CARPENA-RUIZ, R.; GÁRATE, A. Alterations in the mineral nutrition of pea seedlings exposed to cadmium. **Journal of Plant Nutrition**, v. 19, n. 12, p. 1581–1598, 1996.

HIDANGMAYUM, A. *et al.* Application of chitosan on plant responses with special reference to abiotic stress. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 25, n. 2, p. 313–326, 2019.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. Preparing the nutrient solution. **The Water-Culture Method for Growing Plants without Soil**, v. 347, p. 29–31, 1950.

HU, Z. G. *et al.* The sorption of acid dye onto chitosan nanoparticles. **Polymer**, v. 47, n. 16, p. 5838–5842, 2006.

ISLAM, S.; BHUIYAN, M. A. R.; ISLAM, M. N. Chitin and Chitosan: Structure, Properties and Applications in Biomedical Engineering. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 25, n. 3, p. 854–866, 2017.

JIN, C. W. *et al.* Mutation of mpk6 enhances cadmium tolerance in *Arabidopsis* plants by alleviating oxidative stress. **Plant and Soil**, v. 371, n. 1–2, p. 387–396, 2013.

JUNG, B. O. *et al.* Preparation of amphiphilic chitosan and their antimicrobial activities. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 72, n. 13, p. 1713–1719, 1999.

KAYA, M. *et al.* Fluctuation in physicochemical properties of chitins extracted from different body parts of honeybee. **Carbohydrate Polymers**, v. 132, p. 9–16, 2015.

KOLLER, M.; SALEH, H. M. Introductory Chapter: Introducing Heavy Metals. **Heavy Metals**, p. 3–12, 2018.

KRISTANTI, R. A. *et al.* Rhizofiltration for removal of inorganic and organic pollutants in groundwater: A review. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, v. 11, n. 4, p. 12326–12347, 2021.

KUMAR, A.; PRASAD, M. N. V.; SYTAR, O. Lead toxicity, defense strategies and associated indicative biomarkers in *Talinum triangulare* grown hydroponically. **Chemosphere**, v. 89, n. 9, p. 1056–1065, 2012.

KWOK, K. C. M. *et al.* Mechanism of arsenic removal using chitosan and nanochitosan. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 416, p. 1–10, 2014.

LI, Z. *et al.* Metabolic Pathways Regulated by Chitosan Contributing to Drought Resistance in White Clover. **Journal of Proteome Research**, v. 16, n. 8, p. 3039–3052, 2017.

LIU, C. G. *et al.* Preparation and characterization of nanoparticles containing trypsin based on hydrophobically modified chitosan. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 5, p. 1728–1733, 2005.

LIU, J.; GAI, L.; ZONG, H. Foliage application of chitosan alleviates the adverse effects of cadmium stress in wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.). **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 164, p. 115–121, 2021.

MA, L. *et al.* Alleviation of exogenous oligochitosan on wheat seedlings growth under salt stress. **Protoplasma**, v. 249, n. 2, p. 393–399, 2012.

MALERBA, M.; CERANA, R. Chitosan effects on plant systems. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 7, p. 1–15, 2016.

MALERBA, M.; CERANA, R. Recent advances of chitosan applications in plants. **Polymers**, v. 10, n. 2, p. 1–10, 2018.

MALERBA, M.; CERANA, R. Recent applications of chitin- and chitosan-based polymers in plants. **Polymers**, v. 11, n. 5, p. 1–9, 2019.

MARTÍNEZ FLORES, K. *et al.* Cadmio: efectos sobre la salud. Respuesta celular y molecular. **Acta toxicológica argentina**, v. 21, n. 1, p. 33–49, 2013.

MIURA, N. Individual Susceptibility to Cadmium Toxicity and Metallothionein Gene Polymorphisms: with References to Current Status of Occupational Cadmium Exposure. **Industrial Health**, v. 47, n. 5, p. 487–494, 2009.

MOSANGO, M. **Talinum paniculatum (Jacq.) Gaertn.** Record from PROTA4U. Grubben, G.J.H. & Denton, O.A. (Editors). PROTA (Plant Resources of Tropical Africa/Ressources végétales de l’Afrique tropicale), Wageningen, Netherlands. 2004. Disponível em: <[https://www.prota4u.org/database/protav8.asp?p=Talinum+paniculatum+\(Jacq.\)+Gaertn](https://www.prota4u.org/database/protav8.asp?p=Talinum+paniculatum+(Jacq.)+Gaertn)>. Acesso em: 25 jun. 2021

- MUTHUKUMAR, T.; DINESH-BABU, S. Cadmium affects the regeneration of the leafy vegetable *Talinum portulacifolium* stem cuttings in nutrient solution. **Anales de Biología**, n. 42, p. 147–159, 2020.
- NAGAJYOTI, P. C.; LEE, K. D.; SREEKANTH, T. V. M. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: A review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 8, n. 3, p. 199–216, 2010.
- NAKBANPOTE, W.; MEESUNGNOEN, O.; PRASAD, M. N. V. **Potential of ornamental plants for phytoremediation of heavy metals and income generation**. [s.l.] Elsevier Inc., 2016.
- NAVA-RUÍZ, C.; MÉNDEZ-ARMENTA, M. Efectos neurotóxicos de metales pesados (cadmio, plomo, arsénico y talio). **Archivos de Neurociencias**, v.16, n.3, p. 140-147, 2011.
- PANDEY, P. *et al.* Redox homeostasis via gene families of ascorbate-glutathione pathway. **Frontiers in Environmental Science**, v. 3, n. MAR, p. 1–14, 31 mar. 2015.
- PANDEY, V. C.; BAJPAI, O. **Phytoremediation: From Theory Toward Practice**. [s.l.] Elsevier Inc., 2018.
- PARMAR, P.; KUMARI, N.; SHARMA, V. Structural and functional alterations in photosynthetic apparatus of plants under cadmium stress. **Botanical Studies**, v. 54, n. 1, p. 1–6, 2013.
- PIRBALOUTI, A. G. *et al.* Exogenous application of chitosan on biochemical and physiological characteristics, phenolic content and antioxidant activity of two species of basil (*Ocimum ciliatum* and *Ocimum basilicum*) under reduced irrigation. **Scientia Horticulturae**, v. 217, p. 114–122, 2017.
- QU, D. Y. *et al.* Role of Chitosan in the Regulation of the Growth, Antioxidant System and Photosynthetic Characteristics of Maize Seedlings under Cadmium Stress. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 66, n. 1, p. 140–151, 2019.
- RAJKUMAR, K. *et al.* Effects of selected heavy metals (Pb, Cu, Ni, and Cd) in the aquatic medium on the restoration potential and accumulation in the stem cuttings of the terrestrial plant, *Talinum triangulare* Linn. **Ecotoxicology**, v. 18, n. 7, p. 952–960, 2009.
- RAMÍREZ, M. Á. *et al.* Chitin and its derivatives as biopolymers with potential agricultural applications. **Biotecnología aplicada**, v. 27, p. 270–276, 2010.
- RANA, M. S. *et al.* Removal of Heavy Metal from Contaminated Water by Biopolymer Crab Shell Chitosan. **Journal of Applied Sciences**, v. 9, n. 15, p. 2762–2769, 15 jul. 2009.

- RASCIO, N.; NAVARI-IZZO, F. Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? **Plant Science**, v. 180, n. 2, p. 169–181, 2011.
- REYES, Y. C. *et al.* Contaminación por metales pesados: implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria. **Ingeniería Investigación y Desarrollo**, v. 16, n. 2, p. 14, 21 set. 2016.
- SABATH, E.; ROBLES-OSORIO, M. L. Medio ambiente y riñón: Nefrotoxicidad por metales pesados. **Nefrología**, v. 32, n. 3, p. 279–286, 2012.
- SANDALIO, L. M. *et al.* Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, n. 364, p. 2115–2126, 1 nov. 2001.
- SATARUG, S. *et al.* Cadmium, environmental exposure, and health outcomes. **Environmental Health Perspectives**, v. 118, n. 2, p. 182–190, 2010.
- SHAHID, M. *et al.* Foliar heavy metal uptake, toxicity and detoxification in plants: A comparison of foliar and root metal uptake. **Journal of Hazardous Materials**, v. 325, p. 36–58, 2017.
- SHAKIROVA, F. M. *et al.* Salicylic acid-induced protection against cadmium toxicity in wheat plants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 122, p. 19–28, 2016.
- SOUZA, G. G. *et al.* Morpho-physiological Tolerance Mechanisms of *Talinum patens* to Lead. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 229, n. 1, p. 1–12, 2018.
- TIWARI, J. *et al.* **Ecorestoration of Polluted Aquatic Ecosystems Through Rhizofiltration**. [s.l.] Elsevier Inc., 2018.
- VIEHWEGER, K. How plants cope with heavy metals. **Botanical Studies**, v. 55, n. 1, p. 1–12, 2014.
- YANG, Y. *et al.* Regulatory mechanisms of nitrogen (N) on cadmium (Cd) uptake and accumulation in plants: A review. **Science of the Total Environment**, v. 708, p. 135186, 2020.
- ZHANG, X. *et al.* Comparative transcriptome analysis reveals chitooligosaccharides-induced stress tolerance of *Gracilariopsis lemaneiformis* under high temperature stress. **Aquaculture**, v. 519, p. 734876, 2020.
- ZHOU, C. G. *et al.* Remarkable performance of magnetized chitosan-decorated lignocellulose fiber towards biosorptive removal of acidic azo colorant from aqueous environment. **Reactive and Functional Polymers**, v. 100, p. 97–106, 2016.

ZONG, H. *et al.* Protective effect of chitosan on photosynthesis and antioxidative defense system in edible rape (*Brassica rapa* L.) in the presence of cadmium. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 138, p. 271–278, 2017.

**APLICAÇÃO DE QUITOSANA NA RAIZ E PARTE AÉREA ALTERA O PADRÃO DE
ACÚMULO DE CÁDMIO EM ESTACAS DE *Talinum patens* (Talinaceae)**

¹Samuel Vitor Assis Machado de Lima, ¹Daniele Maria Marques, ¹Matheus Felipe Soares Silva, ¹Leticia Aparecida Bressanin, ²Paulo César Magalhães, Thiago Corrêa de Souza^{1*}.

¹Institute of Nature Sciences - ICN, Federal University of Alfenas – UNIFAL-MG, 700, Gabriel Monteiro Street, P. O. Box 37130-001, Alfenas, MG, Brazil; thiago.souza@unifal-mg.edu.br, ORCID: 0000-0002-4991-7704 *Corresponding author;

²Maize and Sorghum National Research Center, P. O. Box 151, 35701-970 Sete Lagoas, MG, Brazil

RESUMO

A quitosana tem ação indutora de tolerância a estresses abióticos em plantas, porém há poucos estudos sobre diferentes formas de aplicação desse biopolímero. Assim, buscando potencializar novas tecnologias de descontaminação de cádmio (Cd), o objetivo desse trabalho foi avaliar qual o efeito de duas formas de aplicação de quitosana na morfofisiologia de estacas de *Talinum patens* submetidas ao Cd e analisar a sua influência no acúmulo do metal. A partir de plantas com 75 dias, estacas foram produzidas e transferidas para sistema hidropônico, e durante 30 dias foram aplicados os tratamentos: três concentrações de Cd (0, 7 e 14 mg L⁻¹) e três formas de aplicação de quitosana (sem aplicação, radicular e foliar). Analisou-se a biomassa seca, o teor de Cd, o teor de nutrientes, a morfologia radicular, as trocas gasosas foliares, o teor e a fluorescência da clorofila e a atividade das enzimas antioxidantes. As estacas foram tolerantes ao Cd, pois o metal não influenciou a produção de biomassa e a eficiência fotossintética. A aplicação radicular de quitosana aumentou a área superficial e o volume de raízes mais grossas em detrimento das finas, enquanto a aplicação foliar resultou em maior comprimento total e área superficial das raízes, principalmente de raízes finas. Além disso, a quitosana aplicada nas folhas ativou a enzima catalase tanto nas raízes quanto nas folhas e aumentou o acúmulo de Cd nas raízes, ao contrário do que aconteceu com a aplicação radicular. Conclui-se que a pulverização foliar de quitosana pode melhorar a rizofiltração de Cd com *T. patens*.

Palavras-chave: Fitorremediação; WinRhizo; Fotossíntese; Metal Pesado; *Talinum paniculatum*; Jewels-of-Opar.

Acknowledgements

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) (Código de Financiamento 001) e à Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG) pelo financiamento das análises de nutrientes.

Funding

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) (Código de Financiamento 001).

Declarations**Conflict of interest**

Os autores declaram que não tem conflito de interesse.

Author's contributions

Samuel Vitor A.M de Lima e Daniele M. Marques: responsáveis pelo suporte durante a montagem e condução do experimento, análise dos dados e na escrita do texto.

Matheus Felipe Soares Silva: ajudou na implantação do experimento e na coleta dos dados.

Leticia A. Bressanin: responsável pelo preparo de soluções de quitosana e pelas análises de fluorescência da clorofila.

Paulo César Magalhães: responsável pela análise do sistema radicular (WinRhizo).

Thiago C. de Souza: orientou a pesquisa, foi responsável pela aquisição de financiamento e conceituação do projeto, na execução do experimento e ajudou na revisão da escrita do artigo.

INTRODUÇÃO

O cádmio (Cd) é um metal pesado, que pode ser inserido no meio ambiente a partir de atividades industriais e agrícolas, sendo altamente tóxico para a saúde humana e para as plantas (Piacentini et al., 2020). O metal pode contaminar águas subterrâneas ou superficiais, principalmente através da descarga inadequada de efluentes industriais, agrícolas e de mineração, mas também pelo descarte de resíduos sólidos em aterros sanitários mal construídos, fazendo que seja lixiviado e alcance os lençóis freáticos (Tiwari et al., 2018). Dessa maneira o metal se acumula no ecossistema, podendo ser ingerido pelos organismos e acumulado na cadeia trófica. Assim, uma legislação ambiental é necessária em todo mundo para o descarte e controle de Cd em águas. Devido à toxicidade do Cd, por exemplo, a legislação brasileira definiu um limite máximo de 0.2 mg L^{-1} de Cd no descarte de efluentes (Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA, 2011).

Nas plantas, o Cd potencializa a produção de espécies reativas ao oxigênio (EROS), provoca o fechamento dos estômatos, reduz a fotossíntese, inibe a síntese de clorofila, diminui a absorção de água e nutrientes, induz modificações morfológicas nas raízes, como espessamento da epiderme, redução do comprimento e menor produção de raízes laterais, destrói a membrana celular e pode levar a planta à morte (Liu et al., 2021; Shakirova et al., 2016). Contudo, existem espécies que são tolerantes a altas concentrações de Cd, se desenvolvem em substratos hidropônicos e podem, portanto ser utilizadas como instrumentos na descontaminação de águas contaminadas por esse metal pesado, através da rizofiltração.

A rizofiltração é uma técnica de fitorremediação que consiste em colocar o sistema radicular de plantas terrestres ou aquáticas em soluções contaminadas por poluentes, como metais pesados. As plantas atuam como um biofiltro, de tal forma que as raízes extraem os metais da água e podem estabilizá-los ou transportá-los para outras partes da planta (Dushenkov et al., 1995). Essa técnica pode ser aplicada em ambiente natural (*in situ*) como, efluentes, águas superficiais ou residuais, mas também em locais (*ex situ*), como no tratamento de águas contaminadas conduzidos em sistemas hidropônicos (Dushenkov et al., 1995; Pandey & Bajpai, 2018).

A rizofiltração é capaz de mobilizar metais pesados de águas e prevenir que eles contaminem os lençóis freáticos e entrem na cadeia trófica (Galal et al., 2018). Além disso, sistemas hidropônicos são favoráveis à técnica, pois reduzem o tempo de crescimento da planta, não necessitando de espaços grandes para sua implementação, facilitando o acompanhamento das raízes e evitando que elas desidratem (Muthukumar & Dinesh-Babu, 2020).

Dentre plantas tolerantes ao Cd citam-se as do gênero *Talinum sp.* (Talinaceae), tendo a *Talinum patens* (L.) Willd (ou *T. paniculatum* (Jacq.) Gaertn.) como uma das espécies. Essas plantas são ervas perenes, de fácil cultivo que atingem uma altura média de 70 cm, se reproduzem por sementes ou estaquia (Muthukumar & Dinesh-Babu, 2020; Souza et al., 2018). A produção de estacas dessa espécie acaba sendo uma vantagem para a rizofiltração, pois uma planta inteira gera ao menos

duas estacas, o que dobra o número de unidades rizofiltradoras. Além disso, *Talinum sp.* tem-se mostrado capazes de tolerar diferentes tipos de metais pesados, além de produzirem várias raízes adventícias que auxiliam na absorção desses elementos (Kumar et al., 2012; Rajkumar et al., 2009; Souza et al., 2018). Associadas a essas características de plantas rizofiltradoras, elas são cultivadas em várias partes do mundo como, Ásia, África e Américas, o que amplia seu uso nas tecnologias de descontaminação ambiental (Souza et al., 2018).

Embora determinadas espécies, como a *Talinum patens*, consigam tolerar metais pesados, o contato com tais elementos podem trazer efeitos negativos à planta, o que dificulta um maior sucesso na utilização da rizofiltração. Então é interessante o desenvolvimento de estratégias e/ou produtos que possam auxiliar as plantas na remediação dos locais contaminados. Um desses produtos é a quitosana, um biopolímero não tóxico obtido através da desmineralização da quitina, possuindo estrutura linear constituída de duas subunidades, D-glucosamina e N-acetil-glucosamina conectadas por ligações glicosídicas. Esse biopolímero é conhecido por aliviar diversos tipos de estresse abióticos em plantas, como seca, temperatura, salinidade, entre outros (Hidangmayum et al., 2019; Reis et al., 2019; Zhang et al., 2020).

Vários métodos de aplicação de quitosana na tolerância a estresses abióticos têm sido utilizados como: aplicação radicular, foliar em sementes e/ou frutos, isoladamente ou em combinação com outros compostos (Li et al., 2017; Ma et al., 2012; Malerba & Cerana, 2016, 2018, 2019). Também se tem visto que a quitosana pode aumentar a tolerância de plantas expostas ao Cd, por aumentar a atividade de enzimas antioxidantes, amenizar a degradação da síntese de pigmentos fotossintetizantes e reduzir o declínio de demais processos fisiológicos (Liu et al., 2021; Qu et al., 2019; Zong et al., 2017).

Embora a quitosana possa amenizar os efeitos deletérios do Cd em algumas plantas, poucos estudos testam a diferença entre aplicações radiculares e foliares, e considerando nossa proposta de aplicação de quitosana na rizofiltração com *Talinum patens* sob metais pesados, tem-se um estudo inédito. Sabendo que a *T. patens* na rizofiltração possui um grande potencial de desenvolvimento e aplicação tecnológica e que a quitosana pode aumentar a tolerância a estresses abióticos, hipotetizamos que a aplicação de quitosana aumenta a tolerância e o acúmulo de Cd em estacas de *T. patens*. Assim, esse estudo teve como objetivo avaliar qual efeito das aplicações radiculares e foliares de quitosana no padrão de acúmulo de Cd, na morfofisiologia, e na atividade das enzimas do sistema antioxidante das estacas de *T. patens* submetidas a diferentes concentrações de Cd.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção do material vegetal, condução do experimento e delineamento experimental

O experimento foi conduzido na casa de vegetação da Unidade Educacional Santa Clara da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL – MG), Alfenas - Minas Gerais, Brasil. Coordenadas geográficas 21° 25' 20''S 45° 59' 00'' W. Durante o período de aplicação dos tratamentos a média da temperatura mínima da casa de vegetação foi de 11 °C e a máxima de 32 °C, enquanto a média da umidade relativa foi de 60%.

Foram utilizadas estacas contendo seis folhas completamente expandidas, obtidas de plantas de cultivo próprio do banco de sementes do Horto Botânico e de Plantas Medicinais, Unidade Educacional Santa Clara, UNIFAL-MG. Plantas de *T. patens* foram semeadas em substrato padrão para a produção das mudas (solo, esterco bovino e areia, na proporção de 3:1:1) e irrigadas três vezes por semana.

Após 75 dias passados da semeadura, estacas foram excisadas, desinfetadas em solução de hipoclorito de sódio (3% de cloro ativo) e transferidas para cultivo hidropônico, i.e., em potes contendo 500 ml de solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950). Foram colocadas duas estacas em cada pote, que durante 28 dias passaram por processo de aclimatização à solução nutritiva proporcionando o surgimento de novas raízes. A solução nutritiva inicial possuía 25% de concentração e foi renovada semanalmente, sendo em cada troca aumentado 25% da concentração de nutrientes até atingir 100% dos valores estabelecidos por Hoagland e Arnold (1950). Todos os potes com soluções foram devidamente aerados, e para cada um se utilizou uma mangueira de silicone com uma agulha hipodérmica na ponta, conectadas a uma bomba de ar pressurizado controlada por *timer*, ativada em intervalos de 30 minutos (Informação Suplementar, Vídeo S1). Durante todo o período a solução nutritiva foi mantida em pH (6.0 ± 0.5), e em dias intercalados conferida e preenchida com água destilada, mantendo o volume inicial de 500 ml.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) e os tratamentos correspondiam a um fatorial duplo (3 x 3) sendo três concentrações de Cd e três formas de aplicação de quitosana, totalizando nove tratamentos com sete repetições de cada. Após a aclimatação das estacas, na solução nutritiva foram adicionados os tratamentos de Cd e aplicado as quitosanas, dessa maneira os tratamentos foram mantidos por 30 dias. Para isso utilizou-se $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$, para a formulação de três concentrações de Cd, (0, 7 e 14 mg L⁻¹), que foram baseados em valores até 70 vezes maiores que o permitido pela legislação brasileira, para o descarte em efluentes (CONAMA, 2011). As aplicações de quitosana nos tratamentos foram: sem aplicação, aplicação radicular e aplicação foliar.

Os tratamentos com aplicação radicular consistiam na adição de uma solução estoque de quitosana em cada troca semanal da solução nutritiva, representando uma concentração final de 100 mg L⁻¹ de quitosana no meio. Enquanto para a aplicação nas folhas foi produzido uma solução de quitosana já na concentração de 100 mg L⁻¹, e duas vezes por semana aplicada uniformemente 200 mL

entre os tratamentos correspondentes, através de um pulverizador manual. (Informação Suplementar, Vídeo S2). A quitosana utilizada possuía 63,5% de desacetilação, e sua caracterização físico-química pode ser observada no trabalho de Martins et al. (2018).

As avaliações ecofisiológicas foram realizadas no último dia de aplicação dos tratamentos na casa de vegetação (30° dia), enquanto as demais análises realizadas com o material vegetal em laboratório.

Biomassa seca, teor de Nutrientes, teor de Cd e bioacumulado

Após a retirada das plantas da rizofiltração, a parte aérea e raízes foram lavadas, identificadas e encaminhadas para estufa de ventilação forçada, onde ficaram acondicionados a 55 C°, até atingir peso constante. Com a secagem do material, a biomassa de cada tratamento/repetição foi pesada na balança analítica (Shimadzu AY220, Kyoto, Japão).

Após a pesagem da biomassa seca, as amostras foram moídas em moinho do tipo rotor, (modelo Pulverisette 14 *classic line*, Fritsch GmbH, Germany), a 16.000 rpm. O material obtido foi utilizado para determinar o teor de nutrientes (macro e micronutrientes) e de Cd, baseando-se nas recomendações de Malavolta et al. (1997). As amostras foram submetidas à digestão nitro-perclórica para determinação das concentrações de nutrientes e Cd. Todos os metais foram quantificados por Espectrômetro de Emissão Atômica com Plasma Induzido por Micro-ondas (MIP-AES, Agilent 4200, Estados Unidos da América). As determinações de fósforo (P) e enxofre (S) foram realizadas em Espectrometro de Absorção Molecular (FEMTO 600S, Brasil).

O limite de quantificação (LOQ), Eq. (1), foi calculado como:

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times \text{Desvio padrão do branco}}{\text{inclinação da curva de calibração}} \quad (1).$$

Os valores são apresentados na Tabela S1 (Informação suplementar).

Foi realizado a relação (mg) de Cd na biomassa efetiva das estacas (Bioacumulado), calculado de acordo com a Eq. (2):

$$\text{Bioacumulado} = \frac{\text{Teor de Cd (mg)} \times \text{valor de biomassa seca (mg)}}{1000000 \text{ (mg)}} \quad (2).$$

Morfologia do Sistema Radicular

Após a retirada das plantas da rizofiltração e lavagem foram realizadas a análise da morfologia do sistema radicular, das duas estacas de cada repetição dos tratamentos. Para isso foi utilizado o sistema de análise de imagens (WinRhizo Pro 2007a, Regent Instruments, Sainte-Foy, Quebec, Canadá) acoplado a um *scanner* profissional (Epson, Expression 10000 XL, Epson America, Inc., USA) equipado com unidade de luz adicional (TPU). Os procedimentos para a obtenção das imagens foram feitos de acordo com Souza et al. (2012). Foram obtidas as seguintes características das raízes: comprimento (cm), área de superfície (cm²), diâmetro médio (mm) e volume (cm³). Também foi

obtido o comprimento, área superficial e volume por classes de diâmetro para a concentração de 14 mg L⁻¹.

Análises ecofisiológicas

Foi determinado um valor médio do teor de clorofila de três folhas jovens de cada uma das sete repetições de cada tratamento, com base nas leituras do clorofilômetro SPAD 502-Plus (Konica-Minolta - Osaka, Japão). A quantidade de clorofila foi expressa baseada em uma curva de calibração, correlacionando às unidades de SPAD e a quantidade de clorofila (μg^{-1} massa fresca) pelo método espectrofotométrico (Arnon, 1949).

As trocas gasosas foram medidas em uma folha nova, intacta e completamente expandida, de cada uma das repetições de cada tratamento, utilizando-se o analisador de gás por infravermelho (IRGA – Infrared Gas Analyzer), modelo LI 6400 XT (LI-COR, Lincoln, Nebraska, EUA). As características avaliadas foram: fotossíntese (A), condutância estomática (gs), transpiração (E), e a eficiência de carboxilação (Ci/Ca). As medições foram realizadas entre 09:00 e 11:00 horas, sob radiação fotossinteticamente ativa artificial (R_{FA}) de 1500 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, temperatura média da folha controlada em torno de 28 °C e fluxo de CO_2 controlado em 380 $\mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1} \text{ar}$.

A análise de fluorescência da clorofila α foi realizada em folhas completamente expandidas do terço médio das plantas, após 30 minutos de adaptação ao escuro. Para isso se utilizou o fluorímetro modulado de imagens FluorCam FC 800-C (PhotonSystems Instruments - Czech Republic) e o protocolo de *quenching* de Baker e Oxborough, (2004). No escuro foi obtida a eficiência máxima do fotossistema II estimado através da relação (Fv/Fm), em seguida as folhas receberam luz fotossinteticamente ativa e foram avaliados a produção quântica fotoquímica efetiva (YII), e os *quenchings* fotoquímicos ($qP = [(Fm - Ft)/(Fm - F0)]$) e não fotoquímico ($qN = 1 - [(F'm - F'0)/(Fm - F0)]$).

Análises das atividades das enzimas do sistema antioxidante.

As raízes e folhas das estacas, no final da aplicação dos tratamentos, foram colocadas em nitrogênio líquido e armazenadas em ultrafreezer a -80 °C. O extrato para análise foi obtido pela moagem de 200 mg de folhas ou raízes em nitrogênio líquido e polivinilpolipirrolidona (PVPP). Este material recebeu a adição de 1.5 mL de solução tampão, constituído de 375 μL de fosfato de potássio (pH 7.8) na concentração de 100 mM, 15 μL de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) a 0.1 mM, 75 μL de ácido ascórbico (AsA) a 10 mM, e 1035 μL de água destilada. Foi centrifugado a 13.000 rpm por 10 minutos a 4°C, e o sobrenadante coletado, para a análise da SOD, CAT e APX (Biemelt et al., 1998).

As alíquotas obtidas foram utilizadas para análise da superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), obtida a partir da medição da inibição da fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT)

espectrofotometricamente a 560 nm (Giannopolitis & Ries, 1997), da catalase (CAT, EC 1.11.1.6), pelo consumo de peróxido de hidrogênio monitorado em espectrofotometro a 240 nm, a cada 15 segundos, durante três minutos (Havir & McHaele, 1987) e da ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11), determinada a partir da oxidação do ascorbato, medida em 290 nm, a cada 15 segundos, durante três minutos (Nakano & Asada, 1981). Para todas as análises foi utilizado um espectrofotômetro do tipo *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), modelo Anthos Zenyth 200rt (Biochrom Ltd., Cambridge, UK).

Análise dos dados

Para a análise estatística dos resultados, foi utilizada a análise de variância (ANAVA) e o teste de comparação de médias “Scott-Knott”, a 95% de significância ($p \leq 0.05$), no programa Sisvar versão 5.6 (Universidade Federal de Lavras, Lavras, Brasil). Foram calculados os erros padrões das repetições de cada tratamento.

RESULTADOS

Biomassa seca, teor de Cd, teor de nutrientes e morfologia radicular

A biomassa seca (g) das raízes (Fig. 1a) e da parte aérea (Fig. 1b) das estacas de *Talinum patens* não apresentaram variações significativas entre as formas de aplicação de quitosana e nem com aumento de Cd.

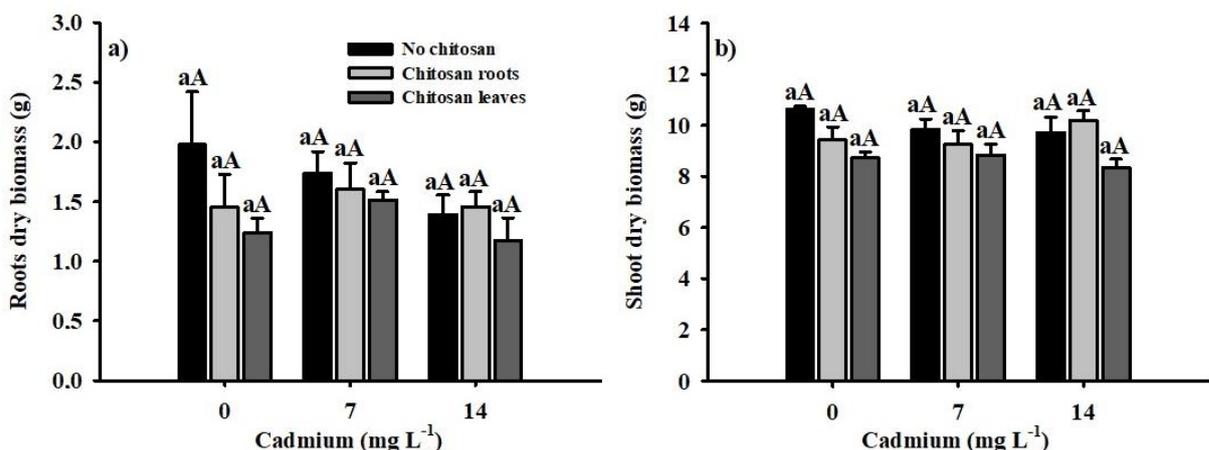


Figura 1: a) Biomassa seca das raízes; b) Biomassa seca da parte aérea, das estacas de *Talinum patens* após 30 dias da aplicação dos tratamentos. Letras minúsculas comparam cada forma de aplicação de quitosana em uma determinada concentração de Cd. Letras maiúsculas comparam uma determinada aplicação de quitosana entre cada concentração de Cd. No chitosan = sem aplicação de quitosana; Chitosan roots = aplicação de quitosana (100 mg L⁻¹) nas raízes em solução nutritiva; Chitosan leaves = aplicação de quitosana (100 mg L⁻¹) nas folhas por pulverização. As médias foram representadas por letras iguais e mostram similaridade estatística, de acordo com o teste Scott-Knott ($p \leq 0.05$). As barras compreendem os valores com o erro padrão das repetições.

Tanto nas raízes (Fig. 2a) quanto na parte aérea (Fig. 2b), quando se analisa o efeito das concentrações de Cd e seu teor presente nos tecidos, observa-se que o aumento da quantidade do metal na solução, leva a maiores concentrações nas estacas.

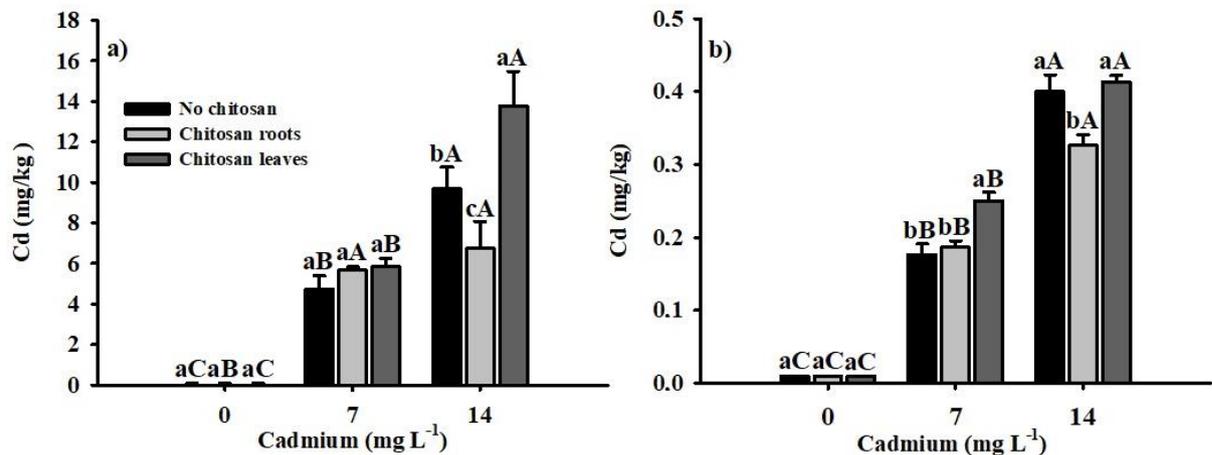


Figura 2: a) Teor de Cd nas raízes; b) Teor de Cd na parte aérea das estacas de *Talinum patens* após 30 dias da aplicação dos tratamentos. Letras minúsculas comparam cada forma de aplicação de quitosana em uma determinada concentração de Cd. Letras maiúsculas comparam uma determinada aplicação de quitosana entre cada concentração de Cd. No chitosan = sem aplicação de quitosana; Chitosan roots = aplicação de quitosana (100 mg L⁻¹) nas raízes em solução nutritiva; Chitosan leaves = aplicação de quitosana (100 mg L⁻¹) nas folhas por pulverização. Médias representadas por letras iguais mostram similaridade estatística, enquanto valores seguidos por letras distintas demonstram diferença estatística entre si, de acordo com o teste Scott-Knott ($p \leq 0.05$). As barras compreendem os valores com o erro padrão das repetições.

Houve um acréscimo significativo do teor de Cd nas raízes (Fig. 2a) na concentração de 14 mg L⁻¹ de Cd para o tratamento com aplicação foliar de quitosana, representando o maior acúmulo de Cd entre todas as formas de aplicação de quitosana. Entretanto, plantas tratadas com quitosana via radicular, nessa mesma concentração, demonstraram menor teor do metal, e não apresentaram variação significativa quando comparado com a concentração de 7 mg L⁻¹. Na parte aérea das estacas (Fig. 2b), nota-se que na concentração de 7 mg L⁻¹ de Cd a aplicação foliar de quitosana apresentou maior acúmulo de Cd (Fig. 2b). Enquanto, na concentração de 14 mg L⁻¹ a quitosana aplicada nas raízes acarretou menor teor de Cd, o que a difere dos tratamentos sem aplicação e com aplicação via foliar (Fig. 2b). Também se observa que o teor de Cd na parte aérea foi menor do que nas raízes, e que o bioacumulado das raízes e partes aéreas das estacas seguiu um comportamento similar ao do teor de Cd (Informação suplementar, Fig. S1 a e b, respectivamente).

Visualmente não se percebeu diferença no tamanho e diâmetro da parte aérea dos tratamentos, assim como não se nota sinais de clorose, necrose ou qualquer outro sintoma (Informação suplementar, Fig S2). Porém, no sistema radicular percebe-se que os tratamentos com aplicação de quitosana via radicular aparentaram uma coloração mais acinzentada e escura das raízes,

principalmente na presença do Cd, ao ponto que os tratamentos com aplicação de quitosana nas folhas demonstraram raízes mais claras (Informação suplementar, Fig. S3).

Na análise de macro e micronutrientes (Tabela 1) houve diferença significativa entre os teores de Magnésio (Mg) nas raízes e parte aérea, Manganês (Mn) nas raízes e Ferro (Fe) e Zinco (Zn) na parte aérea. Para os demais elementos não houve diferença significativa entre os tratamentos nos órgãos das plantas.

Tabela 1: Teor de nutrientes nas raízes e na parte aérea das estacas de *Talinum patens* após 30 dias da aplicação dos tratamentos, com erro padrão calculado. Letras minúsculas comparam cada forma de aplicação de quitosana em uma determinada concentração de Cd. Letras maiúsculas comparam uma determinada aplicação de quitosana entre cada concentração de Cd. No chitosan = sem aplicação de quitosana; Chitosan roots = aplicação de quitosana (100 mg L⁻¹) nas raízes em solução nutritiva; Chitosan leaves = aplicação de quitosana (100 mg L⁻¹) nas folhas por pulverização. Médias representadas por letras iguais mostram similaridade estatística, enquanto valores seguidos por letras distintas demonstram diferença estatística entre si, de acordo com o teste Scott-Knott (p ≤ 0.05). *Diferença significativa.

Nutrients	0 mg L ⁻¹			7 mg L ⁻¹			14 mg L ⁻¹			
	No chitosan	Chitosan roots	Chitosan leaves	No chitosan	Chitosan roots	Chitosan leaves	No chitosan	Chitosan roots	Chitosan leaves	
Roots	N	28.18 ± 2.04	29.75 ± 1.15	31.45 ± 2.23	32.1 ± 2.45	32.65 ± 1.86	37.71 ± 0.92	33.88 ± 2.11	36.6 ± 0.97	35.02 ± 2.93
	P	2.82 ± 1	3.38 ± 0.73	3.01 ± 0.41	4.23 ± 1.1	3.67 ± 1.33	3.94 ± 0.11	3.63 ± 0.17	3.53 ± 0.56	4.52 ± 1.08
	K	9.21 ± 5.53	14.27 ± 5.12	8.81 ± 3.78	12.69 ± 6.38	11.55 ± 6.18	11.1 ± 0.8	12.31 ± 6.02	10.07 ± 4.45	13.19 ± 5.16
	Ca	15.73 ± 2.08	16.95 ± 1.66	12.48 ± 1.36	12.61 ± 1.23	12.62 ± 0.44	11.88 ± 0.5	12.62 ± 0.63	10.12 ± 0.3	13.34 ± 0.57
	Mg*	3.43 ± 0.53 bB	5.74 ± 0.31 aA	4.82 ± 0.41 aA	4.36 ± 0.42 aA	5.16 ± 0.14 aA	4.93 ± 0.14 aA	4.83 ± 0.52 aA	3.76 ± 0.38 bB	5.14 ± 0.1 aA
	S	1.64 ± 0.17	2.03 ± 0.16	2 ± 0.11	2.44 ± 0.18	2.27 ± 0.28	2.57 ± 0.12	2.66 ± 0.05	2.56 ± 0.12	2.6 ± 0.28
	B	10 ± 2.91	17.66 ± 2.97	13.73 ± 1.27	20.1 ± 5.83	12.06 ± 1.96	15.1 ± 2.48	19.40 ± 3.21	17.96 ± 3.56	23.8 ± 3.08
	Cu	6.56 ± 1.41	10.83 ± 0.9	9.10 ± 0.5	24.1 ± 8.34	11.76 ± 1.62	13.1 ± 0.96	29.63 ± 5.34	26.83 ± 6.45	20.56 ± 1.87
	Fe	649.03 ± 107	997.56 ± 57.06	1213.26 ± 39.97	1405.1 ± 160.7	1315.8 ± 152.95	1802.63 ± 146.4	2232.46 ± 159.2	1733.9 ± 225	2568.1 ± 467.8
	Mn*	28.46 ± 3.1 bC	73 ± 5.4 aA	77.2 ± 6.05 aB	62.13 ± 12.5 bB	90.43 ± 9.91 aA	83.4 ± 7.11 aB	91.43 ± 5.63 aA	49.96 ± 6.8 bB	103.06 ± 3.6 aA
	Zn	28.63 ± 1.89	42.76 ± 6.87	52.73 ± 4.73	41.86 ± 10.09	39.6 ± 2.08	39.2 ± 4.46	41.66 ± 5.36	31.73 ± 4.77	40.83 ± 1.63
Shoot	N	26.25 ± 0.62	26.21 ± 1.15	27.33 ± 0.93	24.9 ± 0.18	25 ± 1.1	25.93 ± 0.83	23.09 ± 0.68	23.59 ± 0.17	23.63 ± 0.4
	P	6.23 ± 0.2	5.93 ± 0.39	7.48 ± 0.04	6.42 ± 0.49	6.53 ± 0.28	7.04 ± 0.25	5.83 ± 0.51	5.8 ± 0.42	6.38 ± 0.4
	K	35.11 ± 4.85	27.93 ± 9.86	39.11 ± 4.77	24.58 ± 0.86	31.09 ± 6.75	32.96 ± 2.46	39.05 ± 1.61	38.34 ± 6.63	45.73 ± 4.96
	Ca	17.37 ± 0.51	18.19 ± 2.15	21.64 ± 0.04	14.2 ± 0.39	15.29 ± 0.55	17.15 ± 1.28	14.88 ± 0.6	12.5 ± 0.31	14.02 ± 0.54
	Mg*	9.97 ± 0.45 bA	10.92 ± 0.52 bA	12.23 ± 0.42 aA	10.55 ± 0.21 aA	10.39 ± 0.29 aA	10.97 ± 0.22 aB	10.21 ± 0.51 aA	8.53 ± 0.46 bB	10.74 ± 0.48 aB
	S	1.72 ± 0.08	1.75 ± 0.08	1.84 ± 0.12	2.23 ± 0.19	1.99 ± 0.06	2.35 ± 0.01	2.16 ± 0.18	1.99 ± 0.16	2.24 ± 0.09
	B	17.4 ± 0.49	16.73 ± 0.6	17.06 ± 0.63	17.8 ± 0.98	17.46 ± 0.56	18.56 ± 0.26	15.6 ± 0.37	15.1 ± 0.69	16.76 ± 0.17
	Cu	3.93 ± 0.18	3.63 ± 0.24	4.13 ± 0.24	2.84 ± 0.68	2.71 ± 0.39	2.83 ± 0.43	2.8 ± 0.23	2.63 ± 0.18	2.54 ± 0.28
	Fe*	114.1 ± 20.4 bA	167.63 ± 34 aA	75.13 ± 4.58 bA	54.8 ± 2.4 aB	48.13 ± 1.29 aB	46.86 ± 2.84 aA	49.2 ± 2.56 aB	42.36 ± 3 aB	40.96 ± 2.73 aA
	Mn	61.83 ± 5.74	59.3 ± 1.49	66.66 ± 7.83	52.13 ± 10.4	48.33 ± 0.84	41.96 ± 2.24	40 ± 6.22	50.6 ± 5.14	43.7 ± 1.75
	Zn*	21.2 ± 0.65 bA	22.8 ± 0.47 aA	24.26 ± 0.37 aA	20.36 ± 1.42 aA	17.53 ± 0.8 aB	18.8 ± 0.37 aB	18.9 ± 0.36 aA	17.23 ± 1 aB	18 ± 0.4 aB

Com relação às formas de aplicação, o teor de Mg no sistema radicular aumentou com a aplicação de quitosana nas folhas e nas raízes quando não se teve plantas expostas ao Cd. Já na maior concentração de Cd a aplicação de quitosana na raiz diminuiu o teor de Mg do sistema radicular e da parte aérea.

Nos tratamentos de 0 e 7 mg L⁻¹ de Cd o teor de Mn nas raízes foram maiores quando tratados com quitosana, seja via raiz ou pela pulverização foliar. Mas, na maior concentração de Cd a aplicação de quitosana radicular diminuiu o teor desse elemento. Houve menor teor de Fe para a parte aérea na medida em que se aumentou a concentração de Cd nos tratamentos sem quitosana e com quitosana aplicada na raiz (Tabela 1). Entre os tratamentos, foi apenas na ausência de Cd que a aplicação radicular aumentou os níveis de Fe na parte aérea. Com relação ao teor de Zn na parte aérea, não houve diferença entre as aplicações de quitosana, mas avaliando as concentrações de Cd, a exposição ao metal levou à diminuição desse micronutriente.

Apesar da biomassa seca não se diferir entre as concentrações de Cd e as aplicações de quitosana, a morfologia radicular apresentou diferenças (Fig. 3). Avaliando-se as concentrações, houve um aumento tanto do comprimento (Fig. 3a) quanto da área superficial (Fig. 3b) das raízes na medida em que se aumentava a concentração de Cd para os tratamentos com aplicação foliar de quitosana, embora para as aplicações radiculares os maiores valores terem sido obtidos com 7 mg L⁻¹ de Cd. Comparando as formas de aplicação de quitosana, percebe-se que na ausência de Cd o comprimento e a área aumentam com a aplicação de quitosana nas raízes, porém com a presença do metal na maior concentração ocorre uma redução desses valores, ao passo que, analisando os tratamentos com aplicação foliar ocorre um aumento tanto do comprimento quanto da área superficial. Com relação ao volume da raiz (Fig. 3c), nota-se que na concentração de 14 mg L⁻¹ de Cd, tanto a quitosana aplicada na raiz, quanto nas folhas reduziram significativamente esse parâmetro. Para o diâmetro (Fig. 3d) verifica-se que na maior concentração de Cd, a quitosana aplicada nas raízes foi a que representava as maiores médias.

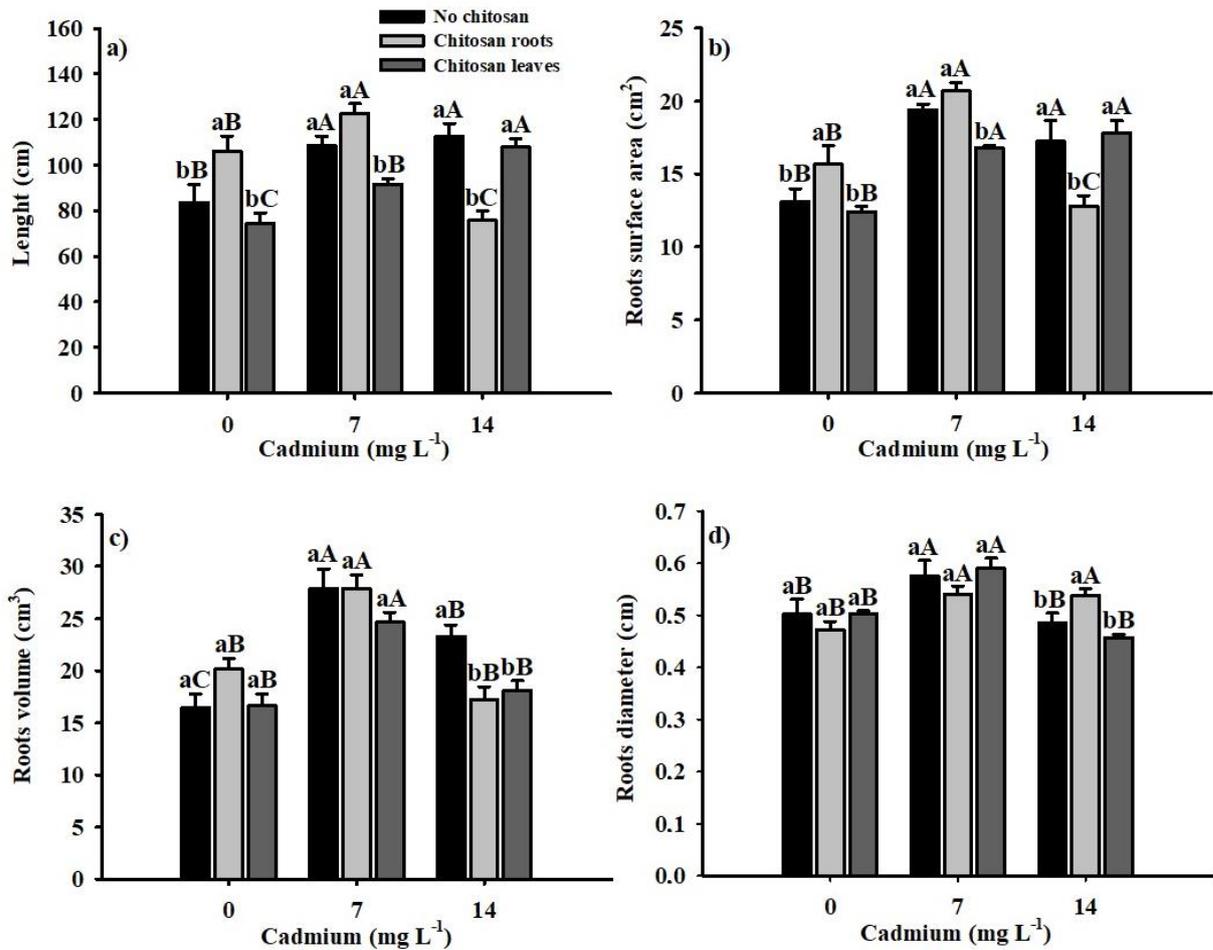


Figura 3: a) Comprimento (cm); b) Área (cm²); c) Volume (cm³); d) Diâmetro (cm), das raízes das estacas de *Talinum patens* após 30 dias da aplicação dos tratamentos. Letras minúsculas comparam cada forma de aplicação de quitosana em uma determinada concentração de Cd. Letras maiúsculas comparam uma determinada aplicação de quitosana entre cada concentração de Cd. No chitosan = sem aplicação de quitosana; Chitosan roots = aplicação de quitosana (100 mg L⁻¹) nas raízes em solução nutritiva; Chitosan leaves = aplicação de quitosana (100 mg L⁻¹) nas folhas por pulverização. Médias representadas por letras iguais mostram similaridade estatística, enquanto valores seguidos por letras distintas demonstram diferença estatística entre si, de acordo com o teste Scott-Knott (p ≤ 0.05). As barras compreendem os valores com o erro padrão das repetições.

Analisando o comprimento (Fig. 4a), área superficial (Fig. 4b) e volume (Fig. 4c) por classes de diâmetro de raízes, na concentração de 14 mg L⁻¹ de Cd observa-se que a aplicação de quitosana nas raízes diminuiu o comprimento de raízes muito finas (diâmetro entre 0.0-0.5 mm) e raízes finas (diâmetro entre 0.5-1.0 mm), para a área superficial e volume além de diminuir a média de raízes muito finas e finas, houve um aumento da área superficial de raízes grossas (>4.5 mm).

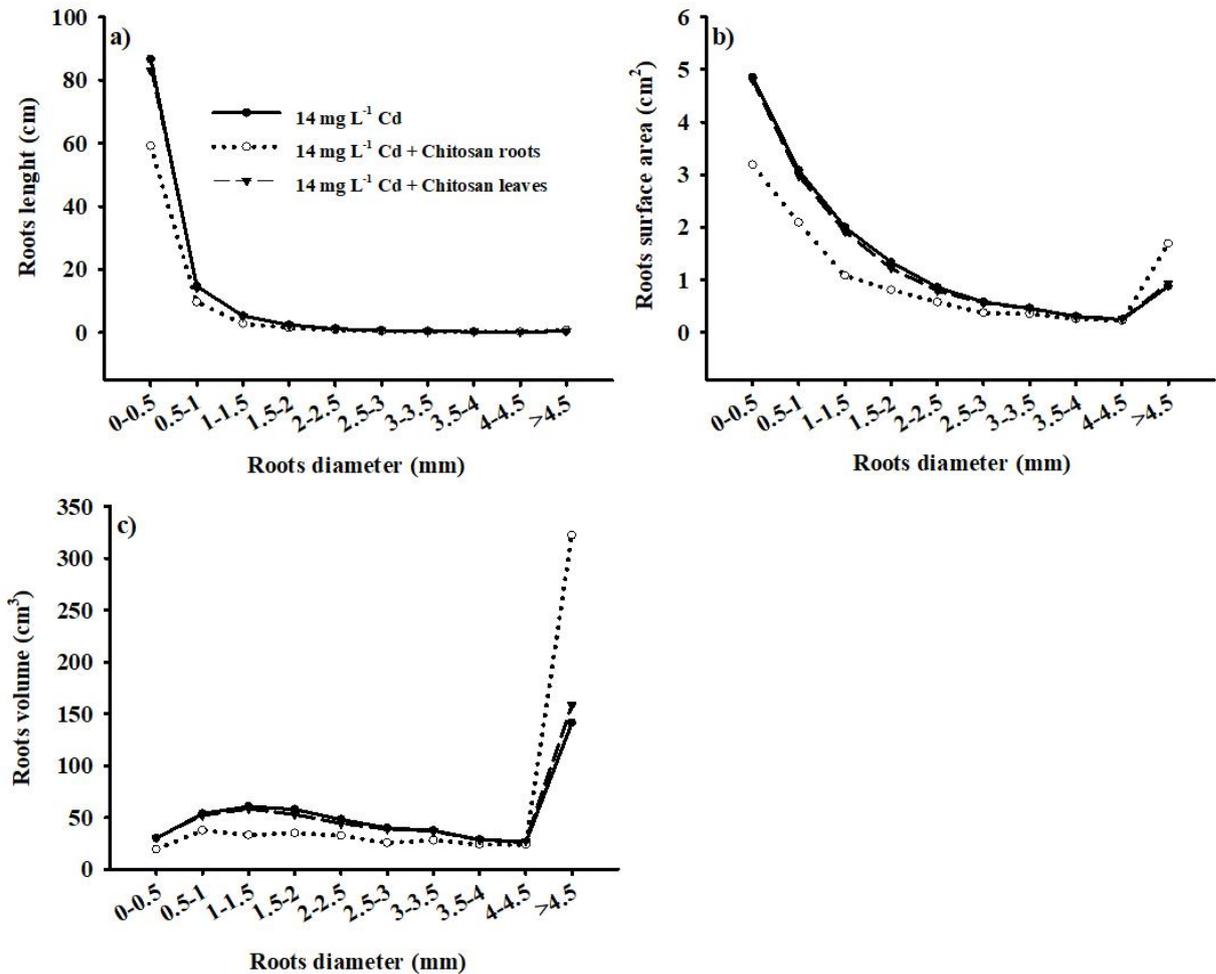


Figura 4: a) Comprimento (cm); b) Área superficial (cm²); e c) Volume (cm³), de raízes por classes de diâmetro (mm) em estacas de *Talinum patens* expostas 30 dias a 14 mg L⁻¹ de Cd e aos tratamentos de quitosana. No chitosan = sem aplicação de quitosana; Chitosan roots = aplicação de quitosana (100 mg L⁻¹) nas raízes em solução nutritiva; Chitosan leaves = aplicação de quitosana (100 mg L⁻¹) nas folhas por pulverização. Cada ponto do gráfico corresponde às médias das repetições.

Análises ecofisiológicas

O teor de clorofila total nas folhas das estacas de *T. patens* (Fig. 5a), a fotossíntese (A) (Fig. 5b) e a eficiência de carboxilação (Ci/Ca) (Fig. 5e) não tiveram diferença estatística entre os tratamentos após 30 dias de aplicação. Todavia, comparando o tratamento de aplicação de quitosana nas raízes com as concentrações de Cd, nota-se que a condutância estomática (gs) (Fig. 5c) e a taxa de transpiração foliar (E) (Fig. 5d) foram menores na presença de Cd (7 e 14 mg L⁻¹). Avaliando entre as formas de aplicação de quitosana, tratamentos sem Cd tiveram um aumento da (gs) e da (E) com a aplicação radicular. Na concentração mais alta de Cd, a aplicação de quitosana nas folhas diminuiu significativamente a transpiração foliar.

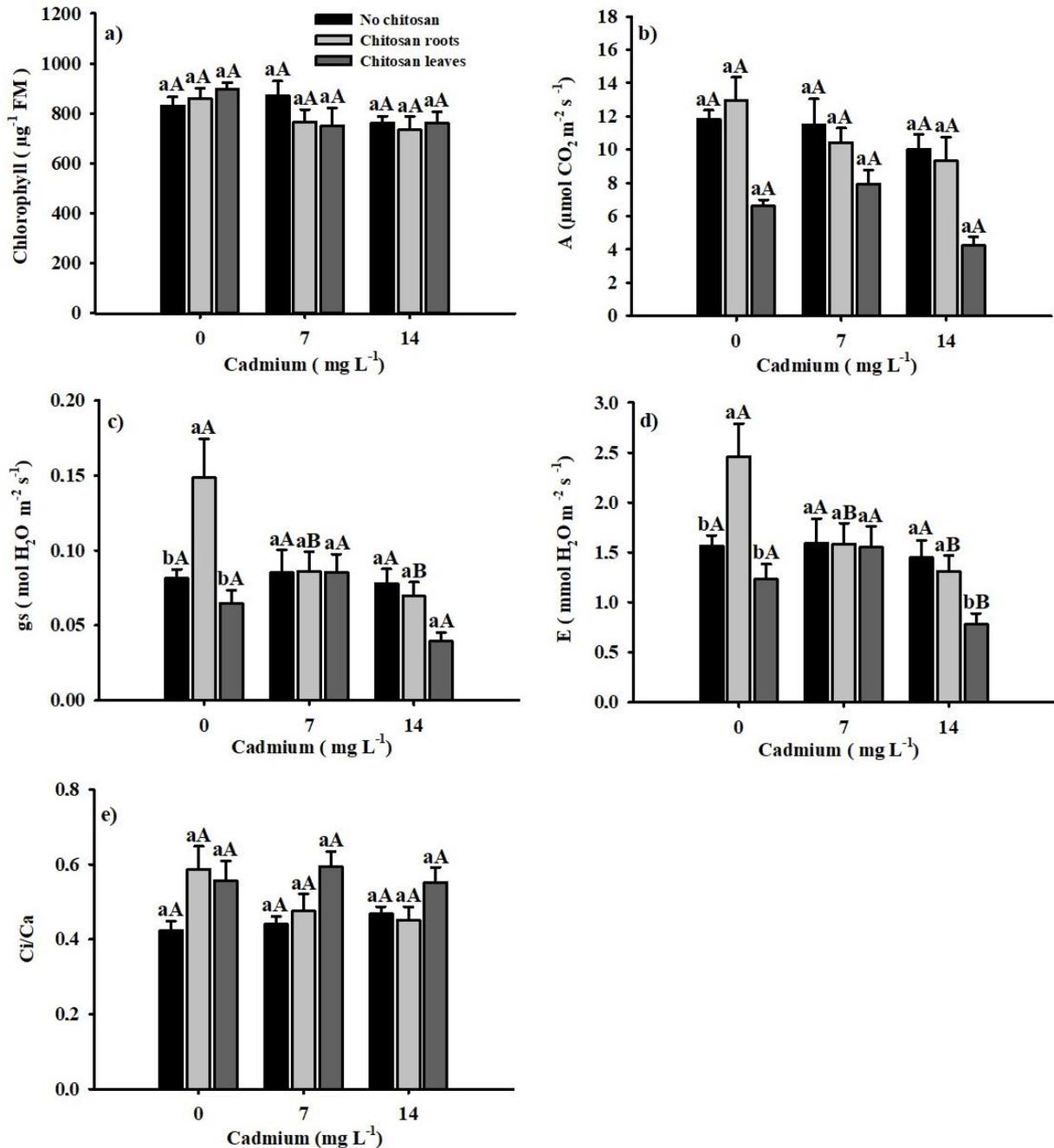


Figura 5: a) Teor de clorofila total (μg^{-1} FM); b) Fotossíntese (A) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); c) Condutância estomática ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); d) Transpiração foliar ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); e) Eficiência de carboxilação (Ci/Ca), nas folhas das estacas de *Talinum patens* após 30 dias da aplicação dos tratamentos. Letras minúsculas comparam cada forma de aplicação de quitosana em uma determinada concentração de Cd. Letras maiúsculas comparam uma determinada aplicação de quitosana entre cada concentração de Cd. No chitosan = sem aplicação de quitosana; Chitosan roots = aplicação de quitosana (100 mg L^{-1}) nas raízes em solução nutritiva; Chitosan leaves = aplicação de quitosana (100 mg L^{-1}) nas folhas por pulverização. Médias representadas por letras iguais mostram similaridade estatística, enquanto valores seguidos por letras distintas demonstram diferença estatística entre si, de acordo com o teste Scott-Knott ($p \leq 0.05$). As barras compreendem os valores com o erro padrão das repetições.

Nem as aplicações de quitosana e nem o aumento de Cd modificaram os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* como *quenching* fotoquímico (qP) (Fig. 6a), não-fotoquímico (qN) (Fig.

6b) e produção quântica fotoquímica efetiva (YII) (Fig.6d). Contudo, houve diferença na eficiência máxima do fotossistema II (Fv/Fm) (Fig. 6c) em que a presença do Cd (7 e 14 mg L⁻¹) diminuiu as médias, todavia os valores permaneceram acima de 0.75.

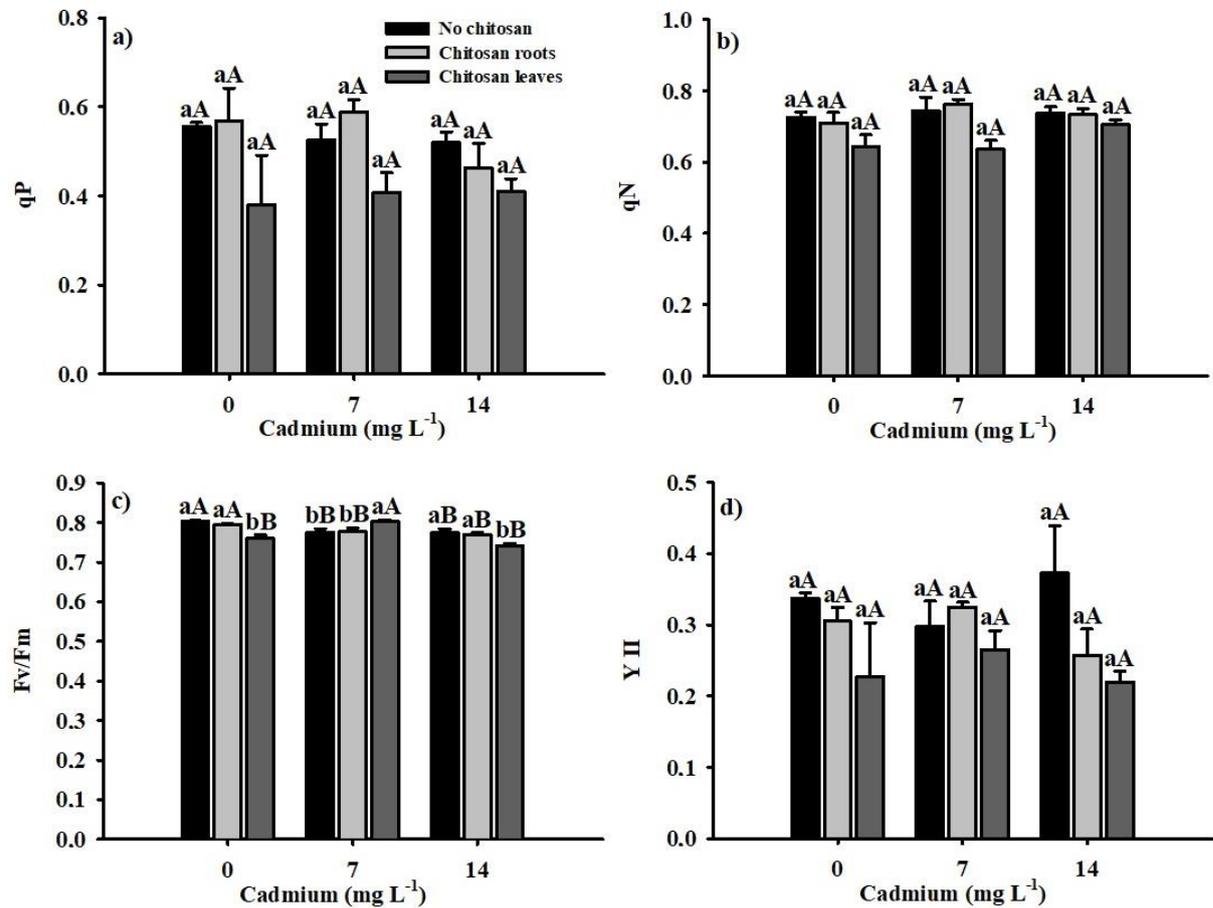


Figura 6: a) *Quenching* fotoquímico (qP); b) *Quenching* não-fotoquímico (qN); c) Eficiência máxima do fotossistema II (Fv/Fm); d) Produção quântica fotoquímica efetiva (YII), nas folhas das estacas de *Talinum patens* após 30 dias da aplicação dos tratamentos. Letras minúsculas comparam cada forma de aplicação de quitosana em uma determinada concentração de Cd. Letras maiúsculas comparam uma determinada aplicação de quitosana entre cada concentração de Cd. No chitosan = sem aplicação de quitosana; Chitosan roots = aplicação de quitosana (100 mg L⁻¹) nas raízes em solução nutritiva; Chitosan leaves = aplicação de quitosana (100 mg L⁻¹) nas folhas por pulverização. Médias representadas por letras iguais mostram similaridade estatística, enquanto valores seguidos por letras distintas demonstram diferença estatística entre si, de acordo com o teste Scott-Knott ($p \leq 0.05$). As barras compreendem os valores com o erro padrão das repetições.

Análises das atividades das enzimas do sistema antioxidante

A atividade da superóxido dismutase (SOD) apresentou variações significativas apenas na raiz (Fig. 7a). Nas folhas não houve diferença entre as concentrações de Cd e as aplicações de quitosana (Fig. 7b). Entre as concentrações de Cd observa-se que o aumento da concentração do metal diminuiu a atividade da enzima na raiz, tanto para o tratamento sem aplicação de quitosana quanto para o tratamento com pulverização foliar. Entretanto, analisando as formas de aplicação de quitosana, a

aplicação radicular levou a maiores atividades da SOD tanto na concentração de 7 mg L⁻¹, quanto na concentração de 14 mg L⁻¹ de Cd.

A atividade da catalase (CAT) teve diferença significativa nas raízes (Fig. 7c) e folhas (Fig. 7d). Nas raízes se observa uma queda da atividade da enzima com o aumento da concentração de Cd nos tratamentos de quitosana via radicular. Com relação às formas de aplicação de quitosana, na maior concentração de Cd (14 mg L⁻¹) o tratamento com aplicação foliar proporcionou maiores valores para CAT. Nas folhas com o aumento da concentração de Cd, a atividade da enzima foi maior nos tratamentos com aplicação foliar, enquanto para a aplicação radicular embora tenha se mantido estável até a concentração de 7 mg L⁻¹, ao aumentar a concentração do metal para 14 mg L⁻¹ observou-se diminuição da atividade da catalase. Entre os tratamentos de quitosana na concentração de 14 mg L⁻¹ de Cd, a aplicação de quitosana foliar aumentou significativamente a atividade da CAT.

A atividade da ascorbato peroxidase (APX) variou significativamente tanto nas raízes (Fig. 7e) quanto nas folhas da planta (Fig. 7f). Com relação às concentrações de Cd, o aumento da quantidade do metal reduziu a atividade da APX. Com relação aos tratamentos de quitosana na concentração de 14 mg L⁻¹ de Cd, a aplicação de quitosana via foliar diminuiu a atividade da APX nas raízes, enquanto nas folhas quando se compara as formas de aplicação, é notado que a aplicação radicular de quitosana foi a que proporcionou maior atividade da enzima entre todos os tratamentos e concentrações de Cd.

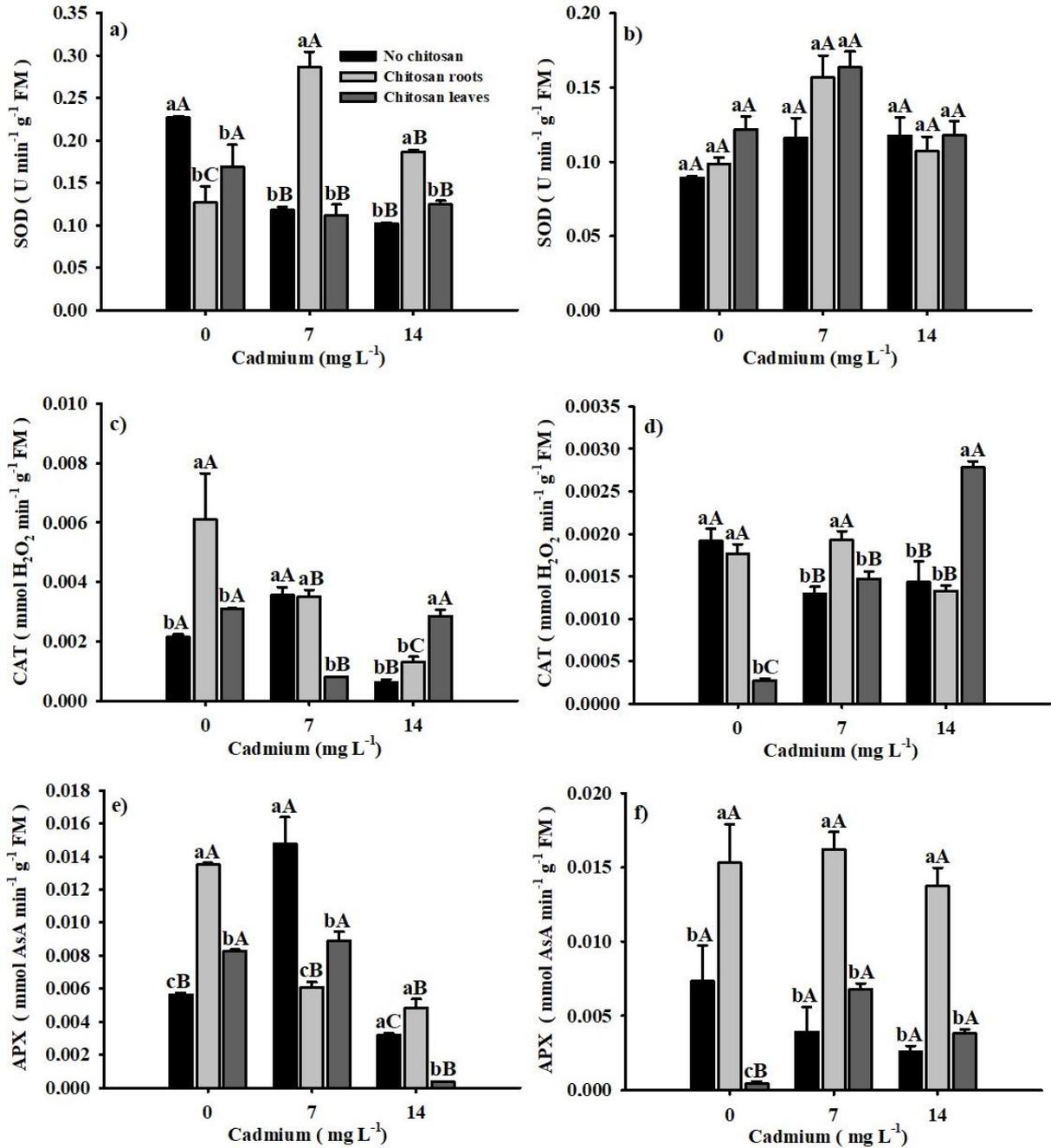


Figura 7: Atividade da SOD (U min⁻¹ g⁻¹ FM); Atividade da CAT (mmol H₂O₂ min⁻¹ g⁻¹ FM); Atividade da APX (mmol AsA min⁻¹ g⁻¹ FM), a), c) e e) nas raízes; b), d) e f) nas folhas das estacas de *Talinum patens* após 30 dias da aplicação dos tratamentos. Letras minúsculas comparam cada forma de aplicação de quitosana em uma determinada concentração de Cd. Letras maiúsculas comparam uma determinada aplicação de quitosana entre cada concentração de Cd. No chitosan = sem aplicação de quitosana; Chitosan roots = aplicação de quitosana (100 mg L⁻¹) nas raízes em solução nutritiva; Chitosan leaves = aplicação de quitosana (100 mg L⁻¹) nas folhas por pulverização. Médias representadas por letras iguais mostram similaridade estatística, enquanto valores seguidos por letras distintas demonstram diferença estatística entre si, de acordo com o teste Scott-Knott (p ≤ 0.05). As barras compreendem os valores com o erro padrão das repetições.

DISCUSSÃO

Os resultados apresentados mostraram que a *Talinum patens* tem características de tolerância ao Cd nas concentrações aplicadas, e que as diferentes formas de aplicação de quitosana induziram a diferentes padrões de acúmulo do metal nessas plantas. O Cd e as aplicações de quitosana também foram responsáveis por modificar o teor de alguns nutrientes, a morfologia das raízes, alguns parâmetros das trocas gasosas e atividades das enzimas antioxidantes.

Plantas quando expostas a níveis tóxicos de Cd podem ter redução da eficiência do fotossistema II, da condutância estomática, da absorção do CO₂ e da atividade da Ribulose 1,5-bifosfato carboxilase. Também podem mostrar modificações nas estruturas dos cloroplastos e pigmentos fotossintéticos, ocorrendo substituição do magnésio (Mg), pelo Cd na estrutura da clorofila (α) e (b) levando à clorose (Asgher et al., 2015; Dias et al., 2013; Parmar et al., 2013). É comum o Cd causar modificações no sistema radicular, reduzindo o crescimento e divisão celular no meristema subapical, produzindo menos raízes laterais, e aumentando a espessura da parede celular, o que culmina numa menor absorção de água, nutrientes e com isso menor transpiração foliar (Batoool et al., 2015; Marques et al., 2019). Entretanto, com os resultados obtidos nesse trabalho evidencia-se o contrário, pois a *T. patens*, possui estratégias para lidar com o estresse causado pelo Cd diminuindo os efeitos negativos.

Um dos principais parâmetros que demonstram a tolerância de *T. patens* às concentrações de Cd é a biomassa. A biomassa é o reflexo da capacidade fotossintética das plantas e por não ter ocorrido diferença entre os tratamentos, demonstra que nem o Cd nem as aplicações de quitosana modificaram a produção de matéria orgânica de *T. patens* nas raízes e na parte aérea. A não interferência de metais pesados na produção de biomassa de *Talinum sp.*, também foi notada por Kumar et al. (2012), Muthukumar e Dinesh-Babu (2020) e Souza et al. (2018). Inclusive esses mesmos autores perceberam um maior acúmulo de metais pesados nas raízes, da mesma forma que os resultados obtidos. O Cd é um elemento que mesmo em pequenas quantidades tem mobilidade nas plantas (Haider et al., 2021), sendo comum acontecer sua translocação principalmente para a raiz e em menor quantidade para a parte aérea.

Apesar do maior acúmulo de Cd acontecer no sistema radicular de *T. patens*, elas não apresentaram quantidades que poderiam classificá-las como hiperacumuladoras de Cd (Mahajan & Kaushal, 2018; Woraharn et al., 2021). Vale ressaltar que a concentração do metal e a baixa temperatura na casa de vegetação podem ter interferido na absorção das estacas, pois são fatores que influenciam a bio-acessibilidade de Cd pelas raízes (Haider et al., 2021). Rajkumar et al. (2009) estudando estacas de *Talinum triangulare*, uma espécie do mesmo gênero, sob solução de cloreto de cádmio, encontraram uma sobrevivência das estacas apenas até a concentração de 4 mg L⁻¹ e um acúmulo de Cd (1.9 mg Kg⁻¹) bem inferior ao encontrado em nosso estudo.

As estacas de *Talinum patens* em exposição ao Cd, não apresentaram diferenças na sua eficiência fotossintética medidas pelo teor de clorofila, taxa de fotossíntese e fluorescência da clorofila. Plantas tolerantes, como *Talinum sp.*, tem a capacidade de captar os metais, podendo imobilizá-los em vácuolos ou no apoplasto (Rascio & Navari-Izzo, 2011; Viehweger, 2014). Podem também aumentar a espessura da exoderme da raiz, dessa maneira promovendo uma maior área de retenção dos metais, o que reduz a quantidade que pode ser transportada para a parte aérea, via xilema (Adrees et al., 2015), com isso a planta evita que o Cd chegue às folhas e cause danos no aparato fotossintético.

Com relação aos tratamentos de quitosana, o biopolímero é relatado na literatura como indutor do aumento da eficiência fotossintética em plantas sob estresse abiótico, inclusive com Cd (Reis et al., 2019; Zong et al., 2017). Contudo, nas estacas de *T. patens* ela não foi capaz de aumentar essa eficiência. Todavia, em concentrações de 14 mg L⁻¹ de Cd para a aplicação foliar de quitosana, ocorreu uma diminuição significativa da transpiração foliar, mostrando-se como já relatado na literatura, que a quitosana é um produto antitranspirante (Iriti et al., 2009), funcionando também para as estacas.

Fato que ainda mostra a tolerância ao Cd nas estacas é que o aumento do Cd em *T. patens* não levou a uma redução da eficiência máxima do fotossistema II (Fv/Fm), que é um dos principais indicadores de fotoinibição. Embora, tenha ocorrido diferença estatística entre alguns tratamentos, isso não tem relevância na prática, pois todas as plantas demonstraram valores de Fv/Fm acima de 0.75 o que evidencia a ausência de fotoinibição. A permanência da eficiência do fotossistema II também foi notada em *Pisum sativum* e na *Talinum patens* submetidas a chumbo (Rodriguez et al., 2015; Souza et al., 2018).

Kumar e Prasad (2015) e Souza et al. (2018) trabalhando com plantas de *T. triangulare* e *T. patens* respectivamente, mas com exposição ao Pb observaram diferenças em parâmetros como *quenching* fotoquímico (qP) e não fotoquímico (qN), e produção quântica fotoquímica efetiva (YII), mostrando uma certa diminuição da eficiência fotossintética. E isso não ocorreu com as estacas de *T. patens* sob o Cd o que reforça a pouca ação do metal na parte aérea (aparato fotossintético) e a tolerância das estacas. Assim, as concentrações de Cd aplicadas não foram suficientes para inativar o centro de reação do fotossistema II e causar desestruturação de proteínas do fotossistema, o que causaria uma fotoinibição. Isso pode ser resultado de uma maior proteção do aparato fotossintético, proporcionado pelo apoio das enzimas antioxidantes na captura e redução da produção de espécies reativas de oxigênio (EROS).

Na ausência de Cd, o aumento de comprimento radicular e área superficial, quando se aplicou quitosana nas raízes, mostra que o biopolímero pode estimular o crescimento das raízes. Em milho, Martins et al. (2018) também observou um maior crescimento de raízes com a aplicação de quitosana. Esse efeito é primordial em um processo de rizofiltração, pois as raízes são os órgãos que absorvem o metal pesado, funcionando como filtros. Maior comprimento de raiz e área superficial são bons

parâmetros que podem indicar absorção de água e minerais, e dessa forma, também o Cd na rizofiltração (Haider et al., 2021; Imada et al., 2008). Porém, quando o Cd está em excesso na solução (14 mg L^{-1}) percebeu-se que esse benefício da quitosana na raiz não ocorre, observando um comportamento reverso, ou seja, de diminuir os parâmetros de raiz. Isso vai de encontro com a menor absorção de Cd nesse tratamento, mostrando que a quitosana aplicada via radicular inibiu o comprimento e área superficial de raiz e por isso pode ter absorvido menor quantidade de Cd. Qu et al. (2019) também aplicaram quitosana em solução nutritiva em plantas de milho sob Cd e encontraram resultados que corroboram com o nosso observando uma redução do acúmulo do metal nos tecidos.

Essa hipótese acima é reforçada, quando se analisa o comprimento, área e volume por classes de diâmetros na concentração de 14 mg L^{-1} . A aplicação de quitosana nas raízes de maneira geral diminuiu o comprimento, área superficial e volume de raízes de menor diâmetro (finas) que cumprem o papel da absorção de água, minerais e o Cd (Imada et al., 2008; Marques et al., 2018). Com a diminuição das raízes finas, no tratamento de quitosana na raiz, houve um investimento em volume e área superficial de raízes de maior diâmetro (grossas) que estão mais ligadas à função de fixação (Imada et al., 2008). Em um trabalho com plântula de trigo expostas ao Cd, o metal aumentou o diâmetro radicular, porém a quitosana aplicada nas folhas diminuiu esse parâmetro (Liu et al., 2021).

O Cd pode interferir na absorção e metabolismo de nutrientes pelas plantas, podendo causar deficiência nutricional. (Bertoli et al., 2012; Das et al., 1997). Percebe-se que na presença de Cd alguns nutrientes foram alocados em maior quantidade nas raízes, e dessa maneira apresentaram-se em menor quantidade na parte aérea, como o caso do Fe, Zn, Mn. Porém, as plantas de *T.patens* mesmo na presença do Cd não apresentaram redução dos níveis de Mg na parte aérea, o que mostra que se tinham níveis saudáveis do nutriente nas folhas, convergindo na manutenção dos níveis de clorofila e da sua fluorescência, assim indicando que não houve interferência do Cd na absorção desse nutriente o que pode ter protegido o aparato fotossintético. Não houve também diferença significativa entre as concentrações de Cd e os teores de potássio (K), o que pode ajudar a explicar o porquê de não haver redução da condutância estomática, já que o Cd poderia ter interferido no fluxo de K dentro das células guarda, e dessa maneira induzido a um fechamento dos estômatos, e com isso uma menor troca gasosa (Bishnoi et al., 1993; Vernay et al., 2007).

A aplicação de quitosana na solução nutritiva resultou em menor teor de Mg e Mn nas raízes quando as estacas foram expostas a 14 mg L^{-1} de Cd. Isso poderia ser explicado, como citado anteriormente, pelo efeito da quitosana nas raízes expostas ao Cd que resultou em uma morfologia que favorece a diminuição da absorção de nutrientes, água e Cd. E por mais que com isso tenha tido menor conteúdo de Mg na parte aérea, essa redução dos valores não trouxeram consequências negativas.

Plantas sob estresse tem habilidade de produzir enzimas antioxidantes nas raízes e nas folhas tais como, superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), entre outras, que atuam na captura e proteção contra as espécies reativas de oxigênio (EROS) (Kumar et al., 2012;

Liu et al., 2021; Pandey et al., 2015). O Cd por aumentar a produção de EROS pode estimular uma maior produção dessas enzimas para proteção dos efeitos oxidativos em plantas tolerantes, entretanto a partir de certa concentração do metal a atividade dessas enzimas pode ser limitada (Haider et al., 2021; Kumar et al., 2013; Pourrut et al., 2011). Em estacas de *T. patens*, principalmente as raízes tiveram a redução enzimática antioxidante com o aumento de Cd na solução, órgão que esteve em contato diretamente com o metal e também apresentou maiores acúmulos de Cd.

A quitosana aplicada nas raízes mostrou-se mais efetiva na ativação das enzimas antioxidantes das estacas sob excesso de Cd apenas na raiz para a SOD e apenas nas folhas para a APX, porém, quando aplicada via foliar, a quitosana mostrou vantagens na atividade da CAT tanto na raiz quanto nas folhas. A quitosana tem-se mostrado indutora de atividade enzimática antioxidante na tolerância a metais pesados, incluindo o Cd (Liu et al., 2021; Zong et al., 2017). A ação do biopolímero na atividade enzimática parece ser devido a oligômeros oriundos da quitosana clivada após a sua chegada à célula vegetal. Esses oligômeros são importantes sinalizadores para as células vegetais modificando a expressão de enzimas antioxidantes (Chamnanmanoontham et al., 2015; Hadwiger, 2015; Pichyangkura & Chadchawan, 2015). Apesar de no tratamento de aplicação foliar de quitosana ocorrer um aumento significativo apenas na enzima CAT, trabalhos vem mostrando que a alta atividade dessa enzima evidência ser um parâmetro de tolerância à toxicidade de Cd (Liu et al., 2021; Yilmaz & Parlak, 2011).

Ademais, ressaltando a diferença no teor de Cd nas formas de aplicação de quitosana, as raízes das estacas que receberam quitosana na parte aérea por pulverização apresentaram maior teor de Cd quando expostas à solução com maior concentração de Cd. Isso pode ter sido proporcionado pela arquitetura do sistema radicular com mais raízes finas, e pelo aumento da atividade protetiva da catalase, única enzima que teve uma alta significativa tanto nas raízes e parte aérea, que juntos favoreceram uma maior absorção da solução nutritiva e conseqüentemente do Cd.

Apesar da quitosana aplicada na raiz elevar a atividade de algumas enzimas, isso não levou ao aumento de Cd. O menor acúmulo do Cd nesse tratamento pode ter relação com a modificação da morfologia radicular (redução do tamanho das raízes finas que já foram discutidos) e com propriedades físico-químicas da quitosana. A quitosana sozinha melhora o desenvolvimento das raízes e atividade de enzimas, porém quando em contato com o Cd induz a respostas fisiológicas protetivas, que são a redução do crescimento e o aumento da espessura e diâmetro radicular, com isso tem-se menor absorção de solução nutritiva, conseqüentemente menor absorção de Cd. Devido a aspectos da sua estrutura, a quitosana tem capacidade de adsorver e quelar metais pesados, interagindo muito bem com o Cd (Kwok et al., 2014; Rana et al., 2009), dessa forma quando aplicada na solução nutritiva pode ter reduzido a sua biodisponibilidade para as raízes. Além disso, há relatos na literatura de quitosana atuar na despolarização de membranas biológicas e em proteínas transportadoras como H⁺ ATPases (El Hadrami et al., 2010). Algumas dessas proteínas atuam no transporte de Cd (Metal-

ATPases) (Qiao et al., 2019) e assim, a quitosana disponibilizada em solução nutritiva poderia afetar a absorção de Cd.

CONCLUSÃO

Estacas de *Talinum patens* são tolerantes às dosagens de Cd aplicadas, não demonstrando grandes efeitos deletérios quando na presença do metal. As aplicações de quitosana modificaram os padrões de acúmulo do Cd nas raízes, devido a propriedades intrínsecas à estrutura do polímero que interagem com o metal, ou através de modificações proporcionadas por ela na morfofisiologia das plantas. Devido ao fato de as aplicações de quitosana nas folhas ter proporcionado maior acúmulo nas raízes, conclui-se que essa forma de aplicação da quitosana pode ser uma estratégia capaz de potencializar a técnica de rizofiltração.

REFERÊNCIAS

- Adrees, M., Ali, S., Rizwan, M., Ibrahim, M., Abbas, F., Farid, M., Zia-ur-Rehman, M., Irshad, M. K., & Bharwana, S. A. (2015). The effect of excess copper on growth and physiology of important food crops: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(11), 8148–8162. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4496-5>
- Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24(1), 1–15. <https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1>
- Asgher, M., Khan, M. I. R., Anjum, N. A., & Khan, N. A. (2015). Minimising toxicity of cadmium in plants—role of plant growth regulators. *Protoplasma*, 252(2), 399–413. <https://doi.org/10.1007/s00709-014-0710-4>
- Baker, N. R., & Oxborough, K. (2004). Chlorophyll Fluorescence as a Probe of Photosynthetic Productivity. In G. Papageorgiou G.C. (Ed.), *Chlorophyll a Fluorescence* (pp. 65–82). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3218-9_3
- Batool, R., Hameed, M., Ashraf, M., & Sajid, M. (2015). Physio-Anatomical Responses of Plants to Heavy Metals. In: Öztürk M., Ashraf M., Aksoy A., Ahmad M. (eds) *Phytoremediation for Green Energy*. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-007-7887-0_5
- Bertoli, A. C., Cannata, M. G., Carvalho, R., Bastos, A. R. R., Freitas, M. P., & Santos, A. A. (2012). *Lycopersicon esculentum* submitted to Cd-stressful conditions in nutrition solution: Nutrient contents and translocation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 86, 176–181. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.09.011>
- Biemelt, S., Keetman, U., & Albrecht, G. (1998). Re-Aeration following Hypoxia or Anoxia Leads to Activation of the Antioxidative Defense System in Roots of Wheat Seedlings. *Plant Physiology*, 116(2), 651–658. <https://doi.org/10.1104/pp.116.2.651>

- Bishnoi, N. R., Sheoran, I. S., Singh, R. (1993). Influence of cadmium and nickel on photosynthesis and water relations in wheat leaves of different insertion level. *Photosynthetica*, 28, 473–479.
- Chamnanmanoontham, N., Pongprayoon, W., Pichayangkura, R., Roytrakul, S., & Chadchawan, S. (2015). Chitosan enhances rice seedling growth via gene expression network between nucleus and chloroplast. *Plant Growth Regulation*, 75(1), 101–114. <https://doi.org/10.1007/s10725-014-9935-7>
- Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. (2011). *Resolução N° 430, De 13 De Maio De 2011*. <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>
- Das, P., Samantaray, S., & Rout, G. R. (1997). Studies on cadmium toxicity in plants: A review. *Environmental Pollution*, 98(1), 29–36. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(97\)00110-3](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(97)00110-3)
- Dias, M. C., Monteiro, C., Moutinho-Pereira, J., Correia, C., Gonçalves, B., & Santos, C. (2013). Cadmium toxicity affects photosynthesis and plant growth at different levels. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(4), 1281–1289. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1167-8>
- Dushenkov, V., Nanda Kumar, P. B. A., Motto, H., & Raskin, I. (1995). Rhizofiltration: The Use of Plants To Remove Heavy Metals from Aqueous Streams. *Environmental Science and Technology*, 29(5), 1239–1245. <https://doi.org/10.1021/es00005a015>
- El Hadrami, A., Adam, L. R., El Hadrami, I., & Daayf, F. (2010). Chitosan in plant protection. *Marine Drugs*, 8(4), 968–987. <https://doi.org/10.3390/md8040968>
- Galal, T. M., Eid, E. M., Dakhil, M. A., & Hassan, L. M. (2018). Bioaccumulation and rhizofiltration potential of *Pistia stratiotes* L. for mitigating water pollution in the Egyptian wetlands. *International Journal of Phytoremediation*, 20(5), 440–447. <https://doi.org/10.1080/15226514.2017.1365343>
- Giannopolitis, C. N., & Ries, S. K. (1977). Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 59(2), 309–314. <https://doi.org/10.1104/pp.59.2.309>
- Hadwiger, L. A. (2015). Anatomy of a nonhost disease resistance response of pea to *Fusarium solani*: PR gene elicitation via DNase, chitosan and chromatin alterations. *Frontiers in Plant Science*, 6(June), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00373>
- Haider, F. U., Liqun, C., Coulter, J. A., Cheema, S. A., Wu, J., Zhang, R., Wenjun, M., & Farooq, M. (2021). Cadmium toxicity in plants: Impacts and remediation strategies.
- Havir, E. A., & McHale, N. A. (1987). Biochemical and Developmental Characterization of Multiple Forms of Catalase in Tobacco Leaves. *Plant Physiology*, 84(2), 450–455. <https://doi.org/10.1104/pp.84.2.450>
- Hidangmayum, A., Dwivedi, P., Katiyar, D., & Hemantaranjan, A. (2019). Application of chitosan on plant responses with special reference to abiotic stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 25(2), 313–326. <https://doi.org/10.1007/s12298-018-0633-1>
- Hoagland, D. R., & Arnon, D. I. (1950). Preparing the nutrient solution. *The Water-Culture Method for Growing Plants without Soil*, 347, 29–31.

- Imada, S., Yamanaka, N., & Tamai, S. (2008). Water table depth affects *Populus alba* fine root growth and whole plant biomass. *Functional Ecology*, 22(6), 1018–1026. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2008.01454.x>
- Iriti, M., Picchi, V., Rossoni, M., Gomarasca, S., Ludwig, N., Gargano, M., & Faoro, F. (2009). Chitosan antitranspirant activity is due to abscisic acid-dependent stomatal closure. *Environmental and Experimental Botany*, 66(3), 493–500. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.01.004>
- Kumar, A., & Prasad, M. N. V. (2015). Lead-induced toxicity and interference in chlorophyll fluorescence in *Talinum triangulare* grown hydroponically. *Photosynthetica*, 53(1), 66–71. <https://doi.org/10.1007/s11099-015-0091-8>
- Kumar, A., Prasad, M. N. V., Mohan, M. A.V., & Panda, B. B. (2013). Elucidation of lead-induced oxidative stress in *Talinum triangulare* roots by analysis of antioxidant responses and DNA damage at cellular level. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(7), 4551–4561. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-1354-6>
- Kumar, A., Prasad, M. N. V., & Sytar, O. (2012). Lead toxicity, defense strategies and associated indicative biomarkers in *Talinum triangulare* grown hydroponically. *Chemosphere*, 89(9), 1056–1065. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.05.070>
- Kwok, K. C. M., Koong, L. F., Chen, G., & McKay, G. (2014). Mechanism of arsenic removal using chitosan and nanochitosan. *Journal of Colloid and Interface Science*, 416, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2013.10.031>
- Li, Z., Zhang, Y., Zhang, X., Merewitz, E., Peng, Y., Ma, X., Huang, L., & Yan, Y. (2017). Metabolic Pathways Regulated by Chitosan Contributing to Drought Resistance in White Clover. *Journal of Proteome Research*, 16(8), 3039–3052. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.7b00334>
- Liu, J., Gai, L., & Zong, H. (2021). Plant Physiology and Biochemistry Foliage application of chitosan alleviates the adverse effects of cadmium stress in wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 164, 115–121. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.04.038>
- Ma, L., Li, Y., Yu, C., Wang, Y., Li, X., Li, N., Chen, Q., & Bu, N. (2012). Alleviation of exogenous oligochitosan on wheat seedlings growth under salt stress. *Protoplasma*, 249(2), 393–399. <https://doi.org/10.1007/s00709-011-0290-5>
- Mahajan, P., & Kaushal, J. (2018). Role of Phytoremediation in Reducing Cadmium Toxicity in Soil and Water. *Journal of Toxicology*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/4864365>
- Malavolta, E.; Vitti, G. C., & Oliveira, S. A. (1997). Avaliação dos estado nutricional das plantas: Princípios e aplicações. (2nd ed.) Potafos.
- Malerba, M., & Cerana, R. (2016). Chitosan effects on plant systems. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(7), 1–15. <https://doi.org/10.3390/ijms17070996>
- Malerba, M., & Cerana, R. (2018). Recent advances of chitosan applications in plants. *Polymers*, 10(2), 1–10. <https://doi.org/10.3390/polym10020118>

- Malerba, M., & Cerana, R. (2019). Recent applications of chitin- and chitosan-based polymers in plants. *Polymers*, *11*(5), 1–9. <https://doi.org/10.3390/polym11050839>
- Marques, D. M., da Silva, A. B., Mantovani, J. R., Magalhães, P. C., & de Souza, T. C. (2019). Root morphology and leaf gas exchange in *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. (Caesalpinioideae) exposed to copper-induced toxicity. *South African Journal of Botany*, *121*, 186–192. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.11.007>
- Marques, D. M., Veroneze Júnior, V., da Silva, A. B., Mantovani, J. R., Magalhães, P. C., & de Souza, T. C. (2018). Copper Toxicity on Photosynthetic Responses and Root Morphology of *Hymenaea courbaril* L. (Caesalpinioideae). *Water, Air, and Soil Pollution*, *229*(5). <https://doi.org/10.1007/s11270-018-3769-2>
- Martins, M., Veroneze-Júnior, V., Carvalho, M., Carvalho, D. T., Barbosa, S., Doriguetto, A. C., Magalhães, P. C., Ribeiro, C., dos Santos, M. H., & de Souza, T. C. (2018). Physicochemical characterization of chitosan and its effects on early growth, cell cycle and root anatomy of transgenic and non-transgenic maize hybrids. *Australian Journal of Crop Science*, *12*(1), 56–66. <https://doi.org/10.21475/ajcs.18.12.01.pne649>
- Muthukumar, T., & Dinesh-Babu, S. (2020). Cadmium affects the regeneration of the leafy vegetable *Talinum portulacifolium* stem cuttings in nutrient solution. *Anales de Biología*, *42*, 147–159. <https://doi.org/10.6018/analesbio.42.16>
- Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, *22*(5), 867–880. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>
- Pandey, P., Singh, J., Achary, V. M. M., & Reddy, M. K. (2015). Redox homeostasis via gene families of ascorbate-glutathione pathway. *Frontiers in Environmental Science*, *3*(Mar), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2015.00025>
- Pandey, V. C., & Bajpai, O. (2018). Phytoremediation: From Theory Toward Practice. In *Phytomanagement of Polluted Sites: Market Opportunities in Sustainable Phytoremediation*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813912-7.00001-6>
- Parmar, P., Kumari, N., & Sharma, V. (2013). Structural and functional alterations in photosynthetic apparatus of plants under cadmium stress. *Botanical Studies*, *54*(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/1999-3110-54-45>
- Piacentini, D., Corpas, F. J., D'Angeli, S., Altamura, M. M., & Falasca, G. (2020). Cadmium and arsenic-induced-stress differentially modulates Arabidopsis root architecture, peroxisome distribution, enzymatic activities and their nitric oxide content. *Plant Physiology and Biochemistry*, *148*(October 2019), 312–323. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.01.026>
- Pichyangkura, R., & Chadchawan, S. (2015). Biostimulant activity of chitosan in horticulture. *Scientia Horticulturae*, *196*, 49–65. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.031>
- Pourrut, B., Shahid, M., Dumat, C., Winterton, P., & Pinelli, E. (2011). Lead Uptake, Toxicity, and Detoxification in Plants. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Environmental Contamination and Toxicology*, *213*(213), 113–136. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9860-6>

- Qiao, K., Wang, F., Liang, S., Wang, H., Hu, Z., & Chai, T. (2019). Improved Cd, Zn and Mn tolerance and reduced Cd accumulation in grains with wheat-based cell number regulator TaCNR2. *Scientific Reports*, 9(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37352-6>
- Qu, D. Y., Gu, W. R., Zhang, L. G., Li, C. F., Chen, X. C., Li, J., Li, L. J., Xie, T. L., & Wei, S. (2019). Role of Chitosan in the Regulation of the Growth, Antioxidant System and Photosynthetic Characteristics of Maize Seedlings under Cadmium Stress. *Russian Journal of Plant Physiology*, 66(1), 140–151. <https://doi.org/10.1134/S102144371901014X>
- Rajkumar, K., Sivakumar, S., Senthilkumar, P., Prabha, D., Subbhuraam, C. V., & Song, Y. C. (2009). Effects of selected heavy metals (Pb, Cu, Ni, and Cd) in the aquatic medium on the restoration potential and accumulation in the stem cuttings of the terrestrial plant, *Talinum triangulare* Linn. *Ecotoxicology*, 18(7), 952–960. <https://doi.org/10.1007/s10646-009-0371-9>
- Rana, M. S., Halim, M. A., Safiullah, S., Mollah, M. M., Azam, M. S., Goni, M. A., Hossain, M. K., & Rana, M. M. (2009). Removal of Heavy Metal from Contaminated Water by Biopolymer Crab Shell Chitosan. *Journal of Applied Sciences*, 9(15), 2762–2769. <https://doi.org/10.3923/jas.2009.2762.2769>
- Rascio, N., & Navari-Izzo, F. (2011). Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Science*, 180(2), 169–181. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.08.016>
- Reis, C. O., Magalhães, P. C., Avila, R. G., Almeida, L. G., Rabelo, V. M., Carvalho, D. T., Cabral, D. F., Karam, D., & de Souza, T. C. (2019). Action of N-Succinyl and N,O-Dicarboxymethyl Chitosan Derivatives on Chlorophyll Photosynthesis and Fluorescence in Drought-Sensitive Maize. *Journal of Plant Growth Regulation*, 38(2), 619–630. <https://doi.org/10.1007/s00344-018-9877-9>
- Rodriguez, E., Da Conceição Santos, M., Azevedo, R., Correia, C., Moutinho-Pereira, J., De Ferreira Oliveira, J. M. P., & Dias, M. C. (2015). Photosynthesis light-independent reactions are sensitive biomarkers to monitor lead phytotoxicity in a Pb-tolerant *Pisum sativum* cultivar. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(1), 574–585. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3375-9>
- Shakirova, F. M., Allagulova, C. R., Maslennikova, D. R., Klyuchnikova, E. O., Avalbaev, A. M., & Bezrukova, M. V. (2016). Salicylic acid-induced protection against cadmium toxicity in wheat plants. *Environmental and Experimental Botany*, 122, 19–28. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.08.002>
- Souza, G. G., Pinheiro, A. L. M., Silva, J. A., Veroneze-Júnior, V., Carvalho, M., Bertoli, A. C., Barbosa, S., & de Souza, T. C. (2018). Morpho-physiological Tolerance Mechanisms of *Talinum patens* to Lead. *Water, Air, and Soil Pollution*, 229(1), 1–12. <https://doi.org/10.1007/s11270-017-3658-0>
- Souza, T. C., Castro, E. M., Magalhães, P. C., Alves, E. T., & Pereira, F. J. (2012). Early characterization of maize plants in selection cycles under soil flooding. *Plant Breeding*, 131(4), 493–501. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2012.01973.x>
- Tiwari, J., Ankit, Sweta, Kumar, S., Korstad, J., & Baudh, K. (2018). Ecorestoration of Polluted Aquatic Ecosystems Through Rhizofiltration. In *Phytomanagement of Polluted Sites: Market Opportunities in Sustainable Phytoremediation*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813912-7.00005-3>

- Vernay, P., Gauthier-Moussard, C., & Hitmi, A. (2007). Interaction of bioaccumulation of heavy metal chromium with water relation, mineral nutrition and photosynthesis in developed leaves of *Lolium perenne* L. *Chemosphere*, 68(8), 1563–1575. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.02.052>
- Viehweger, K. (2014). How plants cope with heavy metals. *Botanical Studies*, 55(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/1999-3110-55-35>
- Woraharn, S., Meeinkuirt, W., Phusantisampan, T., & Chayapan, P. (2021). Rhizofiltration of Cadmium and Zinc in Hydroponic Systems. *Water, Air, and Soil Pollution*, 232(5). <https://doi.org/10.1007/s11270-021-05156-6>
- Yilmaz, D. D., & Parlak, K. U. (2011). Changes in proline accumulation and antioxidative enzyme activities in *Groenlandia densa* under cadmium stress. *Ecological Indicators*, 11(2), 417–423. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2010.06.012>
- Zhang, X., Hu, C., Sun, X., Zang, X., Zhang, X., Fang, T., & Xu, N. (2020). Comparative transcriptome analysis reveals chitooligosaccharides-induced stress tolerance of *Gracilariopsis lemaneiformis* under high temperature stress. *Aquaculture*, 519(December 2019), 734876. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734876>
- Zong, H., Liu, S., Xing, R., Chen, X., & Li, P. (2017). Protective effect of chitosan on photosynthesis and antioxidative defense system in edible rape (*Brassica rapa* L.) in the presence of cadmium. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 138(October 2016), 271–278. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.01.009>

Informações Suplementares

APLICAÇÃO DE QUITOSANA NA RAIZ E PARTE AÉREA ALTERA O PADRÃO DE ACÚMULO DE CÁDMIO EM ESTACAS DE *Talinum patens* (Talinaceae)

¹Samuel Vitor Assis Machado de Lima, ¹Daniele Maria Marques, ¹Matheus Felipe Soares Silva, ¹Letícia Aparecida Bressanin, ²Paulo César Magalhães, Thiago Corrêa de Souza^{1*}.

¹Institute of Nature Sciences - ICN, Federal University of Alfenas – UNIFAL-MG, 700, Gabriel Monteiro Street, P. O. Box 37130-001, Alfenas, MG, Brazil; thiago.souza@unifal-mg.edu.br, ORCID: 0000-0002-4991-7704 *Corresponding author;

²Maize and Sorghum National Research Center, P. O. Box 151, 35701-970 Sete Lagoas, MG, Brazil

Video S1: Estruturação do sistema de rizofiltração, evidenciando o enraizamento das estacas de *Talinum patens*.

Video S2: Aplicação de quitosana foliar nas estacas de *Talinum patens*, de acordo com os tratamentos correspondentes.

Tabela S1. Valores de LOQ (limite de quantificação) encontrados na análise de nutrientes e Cd.

Elemento	LOQ
N	0,22 g kg ⁻¹
P	0,11 g kg ⁻¹
K	0,32 g kg ⁻¹
Ca	0,22 g kg ⁻¹
Mg	0,11 g kg ⁻¹
S	0,11 g kg ⁻¹
Cu	2,03 mg kg ⁻¹
Fe	3,79 mg kg ⁻¹
Zn	4,13 mg kg ⁻¹
Cd	0,01 mg kg ⁻¹

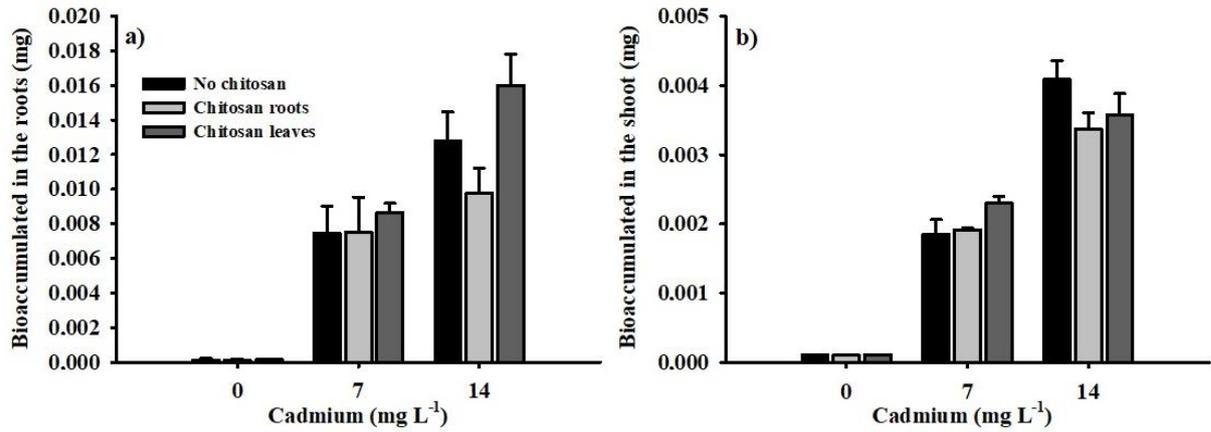


Figura S1: Bioacumulado a) nas raízes; b) na parte aérea das estacas de *Talinum patens* após 30 dias da aplicação dos tratamentos. No chitosan = sem aplicação de quitosana; Chitosan roots = aplicação de quitosana (100 mg L⁻¹) nas raízes em solução nutritiva; Chitosan leaves = aplicação de quitosana (100 mg L⁻¹) nas folhas por pulverização. As barras compreendem os valores com o erro padrão das repetições.

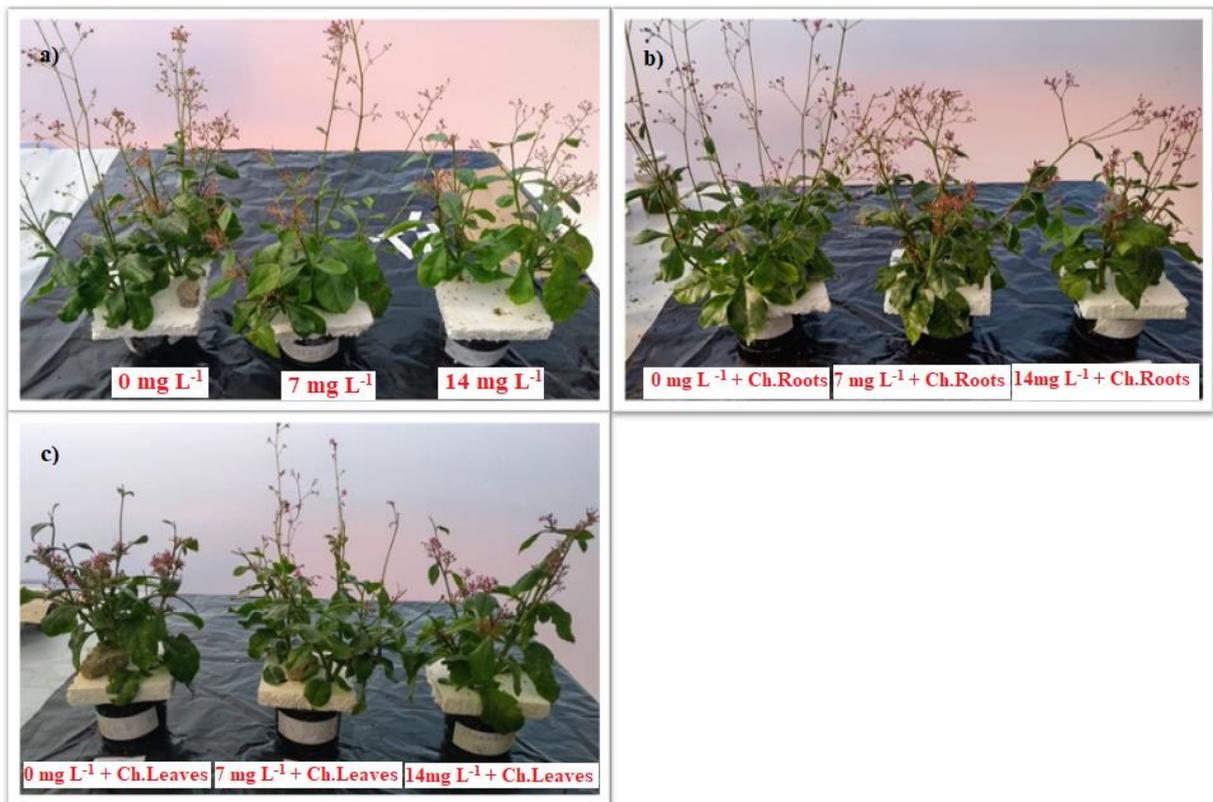


Figura S2: a) Parte aérea de tratamentos sem nenhuma aplicação de quitosana; b) Parte aérea de tratamentos com aplicação de quitosana via radicular; c) Parte aérea de tratamentos com aplicação de quitosana via foliar, após 30 dias de aplicação dos tratamentos.

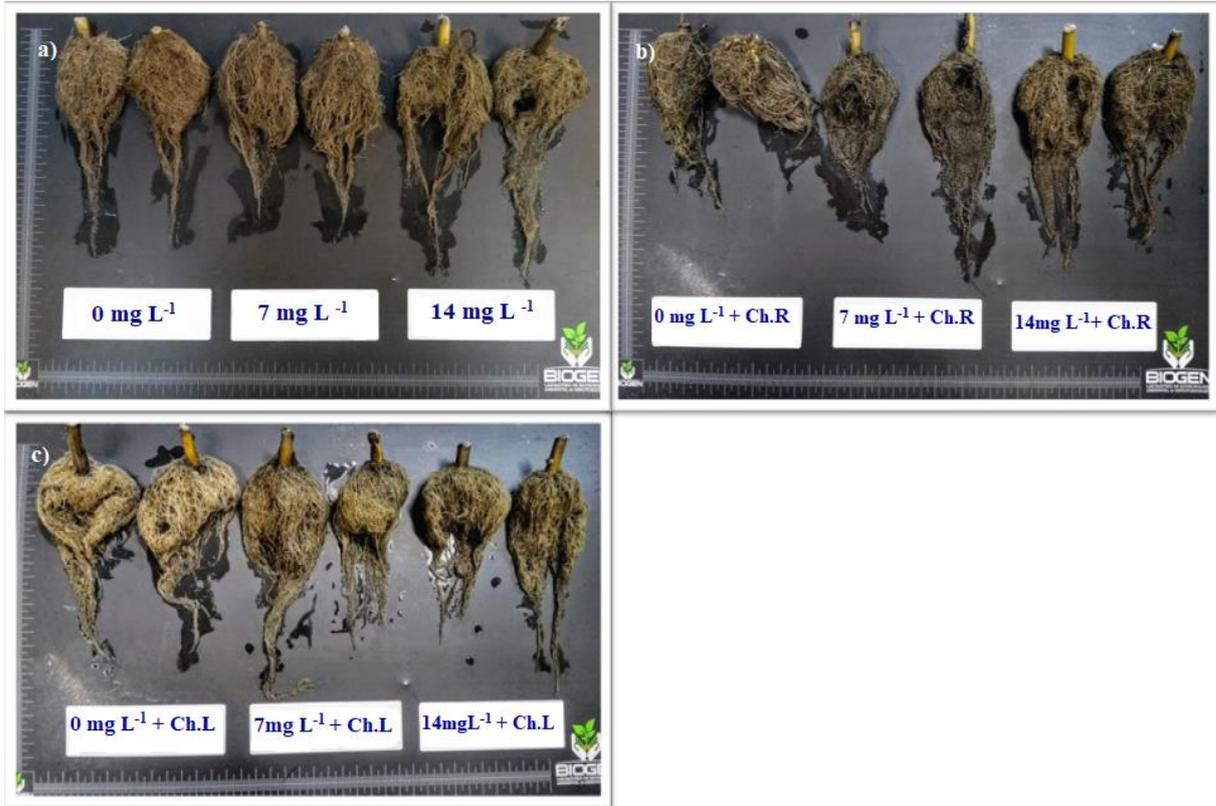


Figura S3: a) Raízes de tratamentos sem nenhuma aplicação de quitosana; b) Raízes de tratamentos com aplicação de quitosana via radicular; c) Raízes de tratamentos com aplicação de quitosana via foliar, após 30 dias de aplicação dos tratamentos.