



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE
E BIOTECNOLOGIA – REDE BIONORTE



**MECANISMO FISIOLÓGICO DO ÁCIDO 5-
AMINOLEVULÍNICO EXÓGENO NA TOLERÂNCIA DE PLANTAS
JOVENS DE PALHETEIRA (*Clitoria fairchildiana* R.A. HOWARD)
EXPOSTAS AO CÁDMIO: RESPOSTAS FOTOSSINTÉTICAS,
ANTIOXIDANTES E NUTRICIONAIS**

VITOR RESENDE DO NASCIMENTO

Belém - PA
2025

VITOR RESENDE DO NASCIMENTO

**MECANISMO FISIOLÓGICO DO ÁCIDO 5-
AMINOLEVULÍNICO EXÓGENO NA TOLERÂNCIA DE PLANTAS
JOVENS DE PALHETEIRA (*Clitoria fairchildiana* R.A. HOWARD)
EXPOSTAS AO CÁDMIO: RESPOSTAS FOTOSSINTÉTICAS,
ANTIOXIDANTES E NUTRICIONAIS**

Tese de doutorado apresentada ao curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto.

Coorientador: Prof. Dr. Glauco André dos Santos Nogueira.

**Belém - PA
FEVEREIRO/2025**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

-
- N244m Nascimento, Vitor Resende do.
Mecanismo fisiológico do ácido 5-aminolevulínico exógeno na tolerância de plantas jovens de palheteira (*Clitoria fairchildiana* R.A. Howard) expostas ao cádmio: respostas fotossintéticas, antioxidantes e nutricionais / Vitor Resende do Nascimento. — 2025.
104 f. : il. color.
- Orientador(a): Prof. Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto
Coorientador(a): Prof. Dr. Glauco André dos Santos Nogueira Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia, Belém, 2025.
1. Pigmentos fotossintéticos. 2. Enzimas antioxidativas. 3. Metal pesado. 4. Nutrição. I. Título.

CDD 581.1

VITOR RESENDE DO NASCIMENTO

**MECANISMO FISIOLÓGICO DO ÁCIDO 5-
AMINOLEVULÍNICO EXÓGENO NA TOLERÂNCIA DE PLANTAS
JOVENS DE PALHETEIRA (*Clitoria fairchildiana* R.A. HOWARD)
EXPOSTAS AO CÁDMIO: RESPOSTAS FOTOSSINTÉTICAS,
ANTIOXIDANTES E NUTRICIONAIS**

Tese de Doutorado apresentada ao Curso de
Doutorado do Programa de Pós-graduação
em Biodiversidade e Biotecnologia - Rede
BIONORTE, na UFPA, como requisito
parcial para a obtenção do título de Doutor
em Biodiversidade e Biotecnologia.

Aprovada em 28/02/2025

Banca examinadora



Documento assinado digitalmente

CANDIDO FERREIRA DE OLIVEIRA NETO

Data: 06/03/2025 18:08:47-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto (Orientador) – UFRA



Documento assinado digitalmente

CRISTINE BASTOS DO AMARANTE

Data: 10/03/2025 11:15:35-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr^a. Cristine Bastos do Amarante – MPEG



Documento assinado digitalmente

RICARDO SHIGUERU OKUMURA

Data: 12/03/2025 15:16:11-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Ricardo Shigueru Okumura - UFRA



Documento assinado digitalmente

LUMA CASTRO DE SOUZA

Data: 07/03/2025 17:58:51-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dr^a. Luma Castro de Souza - UFMA



Documento assinado digitalmente

ANA ECÍDIA DE ARAÚJO BRITO

Data: 07/03/2025 10:50:46-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr^a. Ana Ecídia de Araújo Brito – FAPESPA

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO

Eu, Vitor Resende do Nascimento, (X) autorizo () não autorizo a publicação da versão final aprovada de minha Tese de Doutorado intitulada “Mecanismo fisiológico do ácido 5-aminolevulínico exógeno na tolerância de plantas jovens de palheteira (*Clitoria fairchildiana* R.A. Howard) expostas ao cádmio: respostas fotossintéticas, antioxidantes e nutricionais” no Portal do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia – Rede BIONORTE (PPG-BIONORTE), bem como no repositório de Teses da CAPES ou junto à biblioteca da Instituição Certificadora.

Documento assinado digitalmente
 VITOR RESENDE DO NASCIMENTO
Data: 13/03/2025 00:35:20-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Vitor Resende do Nascimento

Local/Data: Belém/13 de março de 2025.

CPF: 008.215.302-75

RG: 6464639

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Avelino Neto e Arlene Resende, por sempre me apoiarem e confiarem em mim, além do investimento na minha vida pessoal e profissional.

Ao Marcello Robledo, por todo o apoio, paciência e carinho. Meu companheiro e melhor amigo que tornou essa jornada mais leve e feliz.

À Universidade Federal do Pará (UFPA) e à Rede BIONORTE, pela possibilidade de realizar o Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia.

À Fundação Amazônia de Amparo a Estudos e Pesquisas (FAPESPA), pelo apoio através da concessão da bolsa de estudos.

À Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), local aonde realizei a graduação, o mestrado, e o experimento desta tese de doutorado.

Ao Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG), no nome da Dra. Cristine Amarante, pela possibilidade de realizar as análises de elementos nutricionais nos laboratórios de Análises Químicas e Absorção Atômica da instituição. Agradeço também o apoio e ajuda do técnico do laboratório Me. Anderson Botelho.

Ao meu orientador, Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto, pela orientação, paciência, amizade e incentivo ao longo de 12 anos. Meu maior exemplo profissional e grande mentor, pois muito do que aprendi e do que sou hoje, devo a ele. Obrigado por ter sido meu “pai acadêmico” por todos esses anos. Nossa parceria jamais se encerrará, estarei sempre com o senhor. Sou eternamente grato.

Ao meu coorientador, Dr. Glauco André dos Santos Nogueira, pela dedicação, amizade, parceria e comprometimento neste trabalho. Um grande profissional e amigo.

A querida Girlanda Squires (*in memorian*), bolsista do EBPS e pessoa exemplar que infelizmente partiu muito cedo e nos deixou com muitas saudades.

Aos amigos e parceiros do famoso “Senadinho”, Ana Ecídia Brito, Dayse Braga, Raphael Leone, Profa. Joze Melisa e Prof. Antônio Moreira. Obrigado por todas as conversas, dicas e disponibilidade em ajudar. Vocês foram essenciais.

A todos os queridos estagiários e bolsistas do Laboratório de Estudos da Biodiversidade em Plantas Superiores (EBPS), em especial à equipe escalada para este trabalho, formada por Evelyn Luane, Tatiana Barros, Letícia Roberta, Vitória Passos, Juliana Freitas e Dayane Costa. Agradeço a confiança e respeito que sempre depositaram em mim.

Á todos que mesmo indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito OBRIGADO!

NASCIMENTO, Vitor Resende do. Mecanismo fisiológico do ácido 5-aminolevulínico exógeno na tolerância de plantas jovens de palheteira (*Clitoria fairchildiana* R.A. Howard) expostas ao cádmio: respostas fotossintéticas, antioxidantes e nutricionais. 2025. 104f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia- BIONORTE) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2025.

RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar os parâmetros biométricos, nutricionais, de pigmentos fotossintéticos e sistema antioxidante de mudas de *Clitoria fairchildiana* R.A. Howard submetidas à aplicação exógena do ácido 5-aminolevulínico e diferentes concentrações de cádmio (Cd). O experimento foi conduzido em casa de vegetação no período de maio à agosto de 2023. Inicialmente foram produzidas mudas a partir de sementes de palheteira. Após três meses, as mesmas foram transplantadas para vasos de 3kg contendo terra preta previamente corrigida e adubada. Dez dias após o transplântio, as plantas receberam aplicação exógena de 5-ALA, semanalmente durante 5 semanas, totalizando 5 aplicações. Após três dias de aclimação, as concentrações de cádmio foram aplicadas em uma única vez (42º DAT), na forma de cloreto de cádmio ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$): 0 (Controle), 15 e 30 mg L^{-1} . O delineamento experimental foi de blocos inteiramente casualizados (DBC), em esquema fatorial 3x3, assim especificado: três concentrações de Cd (0, 15 e 30 mg L^{-1} de $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$); e três concentrações de 5-ALA (0, 50 e 100 mg L^{-1} 5-ALA), com 9 repetições. As principais variáveis biométricas e de pigmentos fotossintéticos apresentaram alterações à aplicação de 5-ALA e pouca variação nos teores submetidas a presença de cádmio. Para o sistema antioxidante, A atividade das enzimas peroxidase do guaiacol (G-POD), peroxidase do ascorbato (APX), dismutase do superóxido (SOD), Catalase (CAT) e Malondialdeído (MDA) sofreram oscilações em seus teores devido a aplicação de 5-ALA e Cd, variando conforme a concentração do metal e a parte da planta. As principais variáveis de biomassa apresentaram alterações à aplicação de Cd (diminuição de biomassa) e maior eficiência de 5-ALA na dose de 50 mg L^{-1} . Observou-se acúmulo do metal nas raízes e IT (Índice de Tolerância ao cádmio) classificado como alto.

Palavras chave: Pigmentos fotossintéticos; Enzimas antioxidativas; Metal pesado; Nutrição

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the biometric, nutritional, photosynthetic pigment and antioxidant system parameters of *Clitoria fairchildiana* R.A Howard seedlings subjected to exogenous application of 5-aminolevulinic acid and different concentrations of cadmium (Cd). The experiment was conducted in a greenhouse from May to August 2023. Initially, seedlings were produced from straw seeds. After three months, they were transplanted into 3 kg pots containing previously corrected and fertilized black soil. Ten days after transplanting, the plants received exogenous application of 5-ALA, weekly for 5 weeks, totaling 5 applications. After three days of acclimatization, cadmium concentrations were applied in a single time (42nd DAT), in the form of cadmium chloride ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$): 0 (Control), 15 and 30 mg L^{-1} . The experimental design was completely randomized blocks (CRB), in a 3x3 factorial scheme, specified as follows: three concentrations of Cd (0, 15 and 30 mg L^{-1} of $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$); and three concentrations of 5-ALA (0, 50 and 100 mg L^{-1} 5-ALA), with 9 replicates. The main biometric and photosynthetic pigment variables showed changes with the application of 5-ALA and little variation in the levels subjected to the presence of cadmium. For the antioxidant system, the activity of the enzymes guaiacol peroxidase (G-POD), ascorbate peroxidase (APX), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and malondialdehyde (MDA) suffered oscillations in their levels due to the application of 5-ALA and Cd, varying according to the concentration of the metal and the part of the plant. The main biomass variables showed changes with the application of Cd (decrease in biomass) and greater efficiency of 5-ALA at a dose of 50 mg L^{-1} . Accumulation of the metal was observed in the roots and IT (Cadmium Tolerance Index) was classified as high.

Keywords: Photosynthetic pigments; Antioxidative enzymes; Heavy metal; Nutrition

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Figura 1 - Contaminação por metais pesados e os efeitos da sua toxidez em micróbios, plantas e animais	17
Figura 2 - Fontes antrópicas e naturais de cádmio.....	18
Figura 3 – Ligação entre estresse oxidativo e metal pesado em plantas.....	19
Figura 4 - Vias biossintéticas e vias a jusante do ácido 5-aminolevulínico.....	23

CAPÍTULO I

Figura 1 - Source of metal contamination and toxic effects.....	31
Figura 2 – ALA biosynthesis pathway in plants	34

CAPÍTULO II

Figura 1 – Experiment recently implemented in a greenhouse (0 DAT) with young straw bale plants (<i>Clitoria fairchildiana</i> R.A. Howard)	46
Figura 2 - Biometric measurements performed on <i>Clitoria fairchildiana</i> R.A Howard plants the day before withdrawal from the experiment (69 DAT).....	47
Figura 3 - Use of the chlorophyll meter to measure chlorophyll a, b, and total.....	48
Figura 4 - Influence of 5-aminolevulinic acid (0, 50 and 100 mg L ⁻¹) on height (H) in centimeters (a), diameter (D) in mm (b) and number of leaves (NL) (c) in palheteira seedlings (<i>Clitoria fairchildiana</i> R.A Howard) under cadmium doses (0, 15 and 30 mg L ⁻¹).....	51
Figura 5 - Influence of 5-aminolevulinic acid (0, 50 and 100 mg L ⁻¹) on chlorophyll <i>b</i> (a), total (b) and pheophytin (c) contents of palheteira seedlings (<i>Clitoria fairchildiana</i> R.A Howard) under cadmium doses (0, 15 and 30 mg L ⁻¹).....	52
Figura 6 – Influence of 5-aminolevulinic acid (0, 50 and 100 mg L ⁻¹) on the enzymatic activity of ascorbate peroxidase (APX) in leaves (a) and roots (b) of palheteira seedlings (<i>Clitoria fairchildiana</i> R.A Howard) under cadmium doses (0, 15 and 30 mg L ⁻¹).....	53
Figura 7 – Influence of 5-aminolevulinic acid (0, 50 and 100 mg L ⁻¹) on the enzymatic activity of catalase (CAT) in leaves (a) and roots (b) of palheteira seedlings (<i>Clitoria fairchildiana</i> R.A Howard) under cadmium doses (0, 15 and 30 mg L ⁻¹).....	54
Figura 8 – Influence of 5-aminolevulinic acid (0, 50 and 100 mg L ⁻¹) on the enzymatic activity of guaiacol peroxidase (G-POD) of leaves (a) and roots (b) of palheteira seedlings (<i>Clitoria fairchildiana</i> R.A Howard) under cadmium doses (0, 15 and 30 mg L ⁻¹).....	55
Figura 9 – Influence of 5-aminolevulinic acid (0, 50 and 100 mg L ⁻¹) on the enzymatic activity of superoxide dismutase (SOD) in leaves (a) and roots (b) of palheteira seedlings (<i>Clitoria fairchildiana</i> R.A Howard) under cadmium doses (0, 15 and 30 mg L ⁻¹).....	56
Figura 10 – Influence of 5-aminolevulinic acid (0, 50 and 100 mg L ⁻¹) on the Malondialdehyde (MDA) content of leaves (a) and roots (b) in palheteira seedlings (<i>Clitoria fairchildiana</i> R.A Howard) under cadmium doses (0, 15 and 30 mg L ⁻¹).....	57

CAPÍTULO III

Figura 1 – Mecanismos de estabilização ou mobilização de contaminantes na fitorremediação.....	70
---	----

Figura 2 - Localização da casa de vegetação onde ocorreu o experimento, no Instituto de Ciências Agrárias (ICA), na UFRA – Belém.....	71
Figura 3 - Influência do ácido 5-aminolevulínico (0, 50 e 100 mg L ⁻¹) no conteúdo de Cádmio nas raízes (A) e no índice de tolerância ao cádmio (B) em mudas de palheteira (<i>Clitoria fairchildiana</i> R.A Howard) sob doses de cádmio (0, 15 e 30 mg L ⁻¹).....	78
Figura 4 - Influência do ácido 5-aminolevulínico (0, 50 e 100 mg L ⁻¹) na massa seca do caule (A), massa seca da raiz (B), massa seca total (C) e relação parte aérea/raiz (D) em mudas de palheteira (<i>Clitoria fairchildiana</i> R.A Howard) sob doses de cádmio (0, 15 e 30 mg L ⁻¹).....	80
Figura 5 - Influência do ácido 5-aminolevulínico (0, 50 e 100 mg L ⁻¹) no conteúdo de Nitrogênio em folhas (A) e raízes (B), Fósforo em folhas (C) e raízes (D), Potássio em folhas (E) e raízes (F) em mudas de palheteira (<i>Clitoria fairchildiana</i> R.A Howard) sob doses de cádmio (0, 15 e 30 mg L ⁻¹).....	81
Figura 6 - Influência do ácido 5-aminolevulínico (0, 50 e 100 mg L ⁻¹) no conteúdo de Cálcio em folhas (A) e raízes (B), Magnésio em folhas (C) e raízes (D, E) em mudas de palheteira (<i>Clitoria fairchildiana</i> R.A Howard) sob doses de cádmio (0, 15 e 30 mg L ⁻¹).....	83
Figura 7 - Influência do ácido 5-aminolevulínico (0, 50 e 100 mg L ⁻¹) no conteúdo de Cobre em folhas (A) e raízes (B), Ferro em folhas (C) e raízes (D) e Manganês em folhas (E) e raízes (F) em mudas de palheteira (<i>Clitoria fairchildiana</i> R.A Howard) sob doses de cádmio (0, 15 e 30 mg L ⁻¹).....	85

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1 - Analysis of variance for height (H), diameter (D), number of leaves (NL), chlorophyll a (Clo a), chlorophyll b (Clo b), total chlorophyll (Clo total) and pheophytin in reedleaf seedlings (*Clitoria fairchildiana* R.A. Howard) as a function of different concentrations of cadmium (Cd) and 5-Aminolevulinic acid (5-ALA).....49

Tabela 2 - Analysis of variance for CAT, APX, GPOD, SOD and MDA (leaf and root) in reed seedlings (*Clitoria fairchildiana* R.A Howard) as a function of different concentrations of cadmium (Cd) and 5-Aminolevulinic acid (5-ALA) 50

CAPÍTULO III

Tabela 1 – Análise química do solo da camada de 0-20 cm de profundidade.....72

Tabela 2 - Análise granulométrica do solo da camada de 0-20 cm de profundidade.....72

Tabela 3 - Análise de variância para Nitrogênio (N), Fósforo (P), Potássio (K), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg), Ferro (Fe), Manganês (Mn), Cobre (Cu) nas folhas das mudas de palheteira (*Clitoria fairchildiana* R.A. Howard) em função de diferentes concentrações de cádmio (Cd) e 5-aminolevulínico (5-ALA)77

Tabela 4 - Análise de variância para Nitrogênio (N), Fósforo (P), Potássio (K), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg), Ferro (Fe), Manganês (Mn), Cobre (Cu) e Cádmio (Cd) nas raízes das mudas de palheteira (*Clitoria fairchildiana* R.A. Howard) em função de diferentes concentrações de cádmio (Cd) e 5-aminolevulínico (5-ALA)77

Tabela 5 - Matriz com os coeficientes de correlação de Pearson entre os elementos analisados nas folhas (A) e nas raízes (B) de plantas jovens de palheteira (*Clitoria fairchildiana* R.A Howard) sob aplicação foliar de 5-ALA e em função de concentrações de Cádmio (Cd).....87

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
1.1. HIPÓTESES	14
1.2. OBJETIVOS	14
1.2.1. Objetivo geral.....	14
1.2.2. Objetivos específicos	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1. METAIS PESADOS NO AMBIENTE	16
2.2. CÁDMIO	17
2.3. EFEITOS DA TOXIDEZ POR CÁDMIO NO SISTEMA ANTIOXIDANTE VEGETAL.....	18
2.4. EFEITOS DA TOXIDEZ POR CÁDMIO NO SISTEMA NUTRICIONAL	20
2.5. CLITORIA FAIRCHILDIANA R.A. HOWARD.....	20
2.6. ÁCIDO 5-AMINOLEVULÍNICO (5-ALA)	21
2.6.1. Biossíntese do ácido 5-aminolevulínico em plantas	22
3. CAPÍTULOS	24
3.1. CAPÍTULO I	24
3.2. CAPÍTULO II.....	40
3.3. CAPÍTULO III.....	65
4. DISCUSSÃO INTEGRADORA	94
5. CONCLUSÕES.....	95
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	96
ANEXOS.....	102

1. INTRODUÇÃO

Na natureza, as plantas são constantemente ameaçadas por estresses bióticos e abióticos, entre eles o estresse causado por metais pesados. Metais como Fe, Mn, Cu, Zn e Cd acumulam-se durante muito tempo nos solos através de atividades antrópicas, como resíduos industriais, aplicações de fertilizantes, fundição de metais e eliminação de esgotos (Aydinalp e Marinova, 2009), fazendo com que os metais lixiviem para as águas subterrâneas ou se acumulem na superfície do solo.

Dentre os metais pesados, o cádmio (Cd) é um dos principais contaminantes ambientais e um dos mais tóxicos (GALLEGO et al., 2012). O seu acúmulo em determinados tecidos da planta pode levar à rejeição comercial de certas cultivares, diminuição da produtividade, além de se tornar perigoso à saúde humana (DI BACCIO et al., 2014). Assim, o estudo do impacto do Cd sobre as culturas agrícolas e florestais tem elevada importância nas mais diversas áreas de estudo que compreendem a agronomia, medicina e biologia.

O Cd pode influenciar os processos fisiológicos, entre eles a superprodução de espécies reativas de oxigênio (EROs) produzidas pelas plantas quando expostas à metais pesados como o Cd, que possui potencial de causar danos de membrana. Entretanto, espécies vegetais são capazes de aumentar a atividade de enzimas antioxidantes como forma de reduzir os danos causados pelas EROs, aumentando assim a tolerância ao Cd em seus tecidos (SINGH et al., 2006).

As plantas são bioacumuladoras naturais, ou seja, extraem e concentram em si vários metais pesados do solo e da água que podem ou não ser necessários para o seu crescimento adequado (Ozturk e Turkan 1993; Aksoy e Ozturk 1996, 1997; Aksoy et al. 2000; Ali e Aboul-Enein 2002). A taxa de acumulação e tolerância das plantas aos metais pesados varia de espécie para espécie, com alguns tornando-se tóxicos a um ritmo mais rápido. As plantas que enfrentam toxicidade por metais pesados apresentam sintomas visíveis, como o crescimento atrofiado, clorose, escurecimento das raízes, declínio e morte (Ozturk et al. 2008, 2015b).

Assim, a fitorremediação é um tipo de biorremediação que utiliza plantas para reduzir os efeitos tóxicos dos metais pesados no meio ambiente (Ashraf et al., 2019). Sendo uma tecnologia alternativa emergente às abordagens convencionais de remediação, a fitorremediação oferece a vantagem de ser econômica e ecologicamente sustentável (Emenike et al., 2018; Li et al., 2020; Hasan et al., 2019).

Dentre as tecnologias de fitorremediação aplicáveis a solos contaminados com metais pesados, duas das mais utilizadas são a fitoextração e a fitoestabilização (Yan et al., 2020). Na

fitoextração, são utilizadas plantas de crescimento rápido e que toleram altas concentrações de metais em seus tecidos aéreos. Na fitoestabilização são utilizadas plantas que possuem forte capacidade de reduzir a mobilidade de metais na rizosfera ou raízes (Favas et al., 2014; Wei et al., 2021).

Assim, segundo Lorenzi (2009), a palheteira (*Clitoria fairchildiana* R.A Howard), também conhecida como sombreiro e entre outros, trata-se de uma espécie de rápido crescimento, que pode ser utilizada na recuperação de áreas degradadas e arborização rural e urbana, além de ser inserida em projetos de paisagismo e construção civil. É uma espécie arbórea nativa da região amazônica e pertencente à família Fabaceae. É encontrada em floresta ciliar, floresta de várzea, floresta ombrófila, cerrado (Clitoria, 2018), restinga (Ducke, 1949) e em capoeira (Zanuncio et al., 2013). Foi disseminada para outras regiões do País, com registro de ocorrência no Mato Grosso (Borges et al., 2014) e nos demais estados. Portanto é uma espécie em potencial para ser utilizada, pois é fixadora de Nitrogênio (Moreira et al., 1992).

No intuito de auxiliar a planta em situação de estresse, reguladores do crescimento vegetal (RCVs) como auxinas, citocininas, giberelinas, ácido abscísico (ABA), etileno e ácido salicílico têm sido extensivamente estudados na regulação do crescimento das plantas, bem como na mitigação do estresse abiótico. Os reguladores de crescimento vegetal desempenham um papel vital na regulação da transdução de sinal e da conversa cruzada com outros metabólitos nas plantas, o que resulta na melhoria dos processos vegetais e na tolerância direta ou indireta a diferentes estresses ambientais (Wani et al. 2016; Ahmad et al. 2018; Rhaman et al. 2021).

Recentemente, foi comprovado que o ácido 5-aminolevulínico (ALA) é um potencial regulador do crescimento vegetal, desempenhando um papel importante em determinados processos metabólicos, promovendo o crescimento e a capacidade de tolerância ao estresse, além de aumentar o rendimento através de uma melhor fixação da assimilação de CO₂ e N₂ (Maruyama-Nakashita et al. 2010; Naeem et al. 2010). Recentemente, foi relatado que o ALA funciona como um eliminador de espécies reativas de oxigênio (EROs) nas plantas.

Portanto, é importante conhecer espécies capazes de realizar técnicas de fitorremediação, e que assim possam ser indicadas como espécies potenciais para programas de recuperação de áreas degradadas. Bem como conhecer possíveis atenuadores e mitigadores de estresse causado por metais pesados nas plantas. Assim, o objetivo deste trabalho é avaliar os parâmetros biométricos, nutricionais, os pigmentos fotossintéticos e a capacidade protetiva das

enzimas do sistema antioxidante em plantas jovens de *Clitoria fairchildiana* R.A. Howard submetidas à aplicação do ácido 5-aminolevulínico e à diferentes dosagens de cádmio.

1.1. HIPÓTESES

- As variáveis biométricas (altura, diâmetro e número de folhas) sofrem alterações em função das concentrações crescentes do metal pesado cádmio ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0 mg L^{-1} , $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 15 mg L^{-1} e $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 30 mg L^{-1}) em plantas jovens de *Clitoria fairchildiana* R.A. Howard submetidas à aplicação do ácido 5-aminolevulínico (5-ALA 0 mg L^{-1} , 5-ALA 50 mg L^{-1} e 5-ALA 100 mg L^{-1}).
- Os pigmentos fotossintéticos (clorofila *a*, clorofila *b*, clorofilas totais e índice de feofitina) e a atividade das enzimas antioxidantes (APX, GPOD, CAT e SOD) e a peroxidação lipídica (MDA) passam por modificações em função das dosagens crescentes do metal pesado cádmio ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0 mg L^{-1} , $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 15 mg L^{-1} e $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 30 mg L^{-1}) em plantas jovens de *Clitoria fairchildiana* R.A. Howard submetidas à aplicação exógena do ácido 5-aminolevulínico (5-ALA 0 mg L^{-1} , 5-ALA 50 mg L^{-1} e 5-ALA 100 mg L^{-1}).
- Os elementos nutricionais (Cd, N, P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Mn) e o índice de tolerância ao cádmio (IT) sofrem alterações em função das dosagens crescentes de cádmio ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0 mg L^{-1} , $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 15 mg L^{-1} e $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 30 mg L^{-1}) em plantas jovens de *Clitoria fairchildiana* R.A. Howard submetidas à aplicação exógena do ácido 5-aminolevulínico (5-ALA 0 mg L^{-1} , 5-ALA 50 mg L^{-1} e 5-ALA 100 mg L^{-1}).

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. Objetivo geral

Avaliar os resultados biométricos, nutricionais, pigmentos fotossintéticos e a capacidade protetiva de enzimas antioxidantes em plantas jovens de *Clitoria fairchildiana* R.A. Howard submetidas à aplicação do ácido 5-aminolevulínico e à diferentes dosagens de cádmio.

1.2.2. Objetivos específicos

- Analisar o comportamento das variáveis biométricas (altura, diâmetro e número de folhas) em plantas jovens de *Clitoria fairchildiana* R.A. Howard submetidas à aplicação do ácido 5-aminolevulínico (5-ALA 0 mg L^{-1} , 5-ALA 50 mg L^{-1} e 5-ALA 100 mg L^{-1}) e à diferentes dosagens de cloreto de Cd ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0 mg L^{-1} , $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 15 mg L^{-1} e $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 30 mg L^{-1}).

- Avaliar o estado dos pigmentos fotossintéticos (Clorofila *a*, clorofila *b*, clorofilas totais e índice de feofitina) e a atividade das enzimas antioxidantes dismutase do superóxido (SOD), peroxidase do ascorbato (APX), peroxidase do guaiacol (G-POD) e catalase (CAT), além do conteúdo de Malondialdeído (MDA) em plantas jovens de *Clitoria fairchildiana* R.A. Howard submetidas à aplicação do ácido 5-aminolevulínico (5-ALA 0 mg L⁻¹, 5-ALA 50 mg L⁻¹ e 5-ALA 100 mg L⁻¹) e à diferentes dosagens de cloreto de Cd (CdCl₂.H₂O 0 mg L⁻¹, CdCl₂.H₂O 15 mg L⁻¹ e CdCl₂.H₂O 30 mg L⁻¹).
- Avaliar o estado nutricional de folhas e raízes (Cd, N, P, K, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn) e o índice de tolerância (IT) de plantas jovens de *Clitoria fairchildiana* R.A. Howard submetidas à aplicação do ácido 5-aminolevulínico (5-ALA 0 mg L⁻¹, 5-ALA 50 mg L⁻¹ e 5-ALA 100 mg L⁻¹) e à diferentes dosagens de cloreto de Cd (CdCl₂.H₂O 0 mg L⁻¹, CdCl₂.H₂O 15 mg L⁻¹ e CdCl₂.H₂O 30 mg L⁻¹).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. METAIS PESADOS NO AMBIENTE

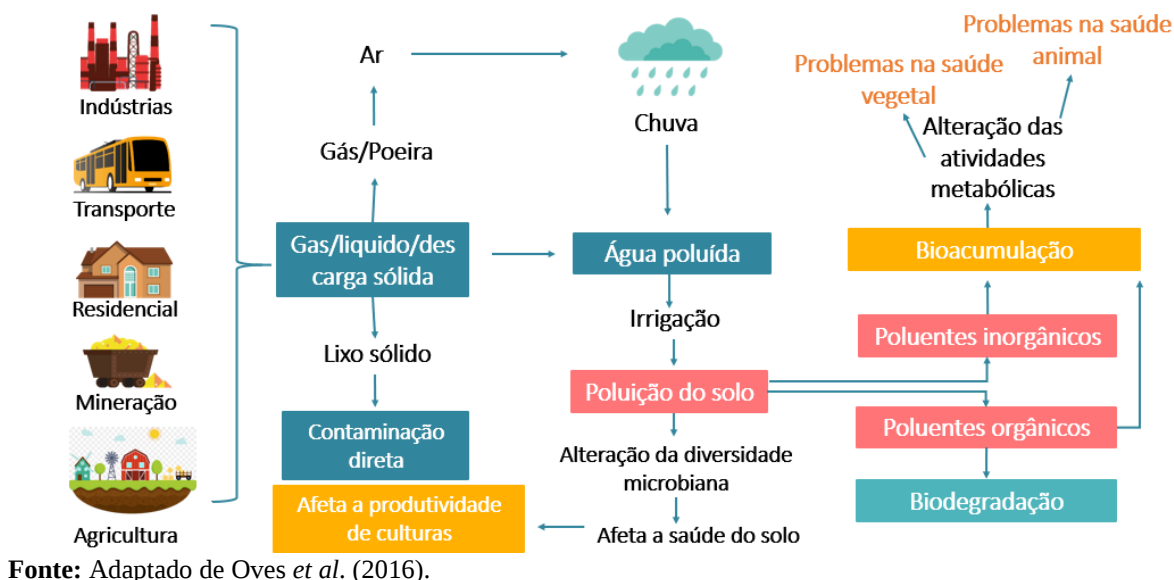
A poluição atmosférica e agrícola do solo com metais pesados é uma das mais atuais e urgentes questões ambientais. Os termos metal pesado, metais traço e elementos traço referem-se ao grupo de metais e metaloides de número atômico e massa relativamente elevados (> 20 e 5g cm^{-3} , respectivamente) (Alloway, 2011). Alguns metais pesados como zinco (Zn), cobre (Cu), níquel (Ni), molibdênio (Mo), manganês (Mn), cromo (Cr) e ferro (Fe) são oligoelementos essenciais, necessários em muitas funções estruturais e bioquímicas das plantas, incluindo o seu crescimento, reações de redução da oxidação, transporte de elétrons e muitos outros processos metabólicos (Kabata-Pendias, 2000).

Metais não essenciais como chumbo (Pb), cádmio (Cd), mercúrio (Hg) e arsênio (As) com função biológica desconhecida são tóxicos para as plantas mesmo em baixas concentrações (Shahid et al., 2017). A variabilidade espacial dos metais pesados na atmosfera (Xiong et al., 2016a, 2016b) e no solo (Street, 2012) pode ser afetada por fontes antropogênicas e naturais. No entanto, um aumento dramático de metais pesados em alguns ecossistemas está relacionado com a atividade antrópica (Sarma et al., 2012).

Inúmeras atividades humanas como indústria, metalurgia, mineração, uso de fertilizantes químicos contendo metais pesados (Megateli et al., 2009) e atividades de tráfego (Dinis e Fiúza, 2011) levam ao acúmulo de metais pesados em ambientes naturais. Os metais pesados liberados no ar, no solo e no meio ambiente podem ser absorvidos pelas plantas através das raízes e das folhas e causar disfunções no metabolismo das plantas, seguido de um possível risco grave à saúde humana (Li et al., 2010; Shahid et al., 2017).

Segundo Lopes & Albuquerque (2018), na última década, o Brasil expandiu em 190% o mercado de agrotóxicos, o que colocou o País em primeiro lugar no ranking mundial de consumo desde 2008. Isto mostra o impacto que a utilização de agrotóxicos tem causado na agricultura brasileira, refletindo na alimentação, qualidade do solo e entre outros aspectos. Entre os metais pesados, o cádmio é reconhecido como um dos mais nocivos para os organismos vivos, pois além de sua alta mobilidade, possui meia vida longa quando comparado a outros metais (DOBRIKOVA & APOSTOLOVA, 2019; HAIDER et al., 2021).

Figura 1. Contaminação por metais pesados e os efeitos da sua toxidez em micróbios, plantas e animais.



2.2. CÁDMIO

O cádmio é um metal pesado pertencente ao grupo IIB da tabela periódica, se caracterizando como metal de transição, possui um número atômico 48, peso atômico de 112,41u e densidade de 8,64 g/cm³ (UNSAL *et al.*, 2020; NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM, 2011). É descrito como um metal branco prateado e macio, com características químicas semelhantes ao mercúrio (IARC, 1993.; SAINI; DHANIA., 2019).

O Cd, segundo Popp (1998), é um metal maleável, utilizado em escala industrial na composição de ligas metálicas, para a fabricação de pilhas e células fotoelétricas, corantes na indústria têxtil e especialmente na composição de pesticidas agrícolas, sua principal forma de entrada e deposição na superfície terrestre. É encontrado na natureza em forma inerte e de fácil oxidação, associado aos sulfitos dos minérios de zinco, cobre e chumbo, em baixos percentuais. Como mineral, encontra-se na forma de grenoquita, em proporções muito pequenas da litosfera (CETESB, 2012).

Níveis elevados de Cd são resultado de atividades de indústrias, fundições de metais, mineração, composto de lodo de esgoto e, em alguns casos, fertilizantes fosfatados (Soares *et al.*, 2005). O cádmio pode atingir as plantas pelo ar e água ou poluição do solo (Westfall *et al.*, 2005).

Efeitos tóxicos para o homem aparecem quando o teor nas plantas consumidas como alimento excedem 3 mg kg⁻¹ (Malavolta, 1980). De acordo com a ATSDR (2013), o cádmio é uma substância cancerígena que afeta os sistemas cardiovascular, gastrointestinal, neurológico, renal e as vias respiratórias. O Cd apresenta grande mobilidade, podendo apresentar maior risco

ambiental, principalmente em solos com pouca matéria orgânica, baixos teores de óxidos de ferro e com baixa capacidade de troca catiônica (Costa *et al.*, 2007).

Faz-se necessário compreender a poluição por cádmio no ambiente, e de que forma ocorre seu ciclo e transporte (Figura 2).

Figura 2. Fontes antrópicas e naturais de cádmio.



Fonte: Adaptado de Shahid et al. (2017).

2.3. EFEITOS DA TOXIDEZ POR CÁDMIO NO SISTEMA ANTIOXIDANTE VEGETAL

O estresse por metais pesados causa diversas alterações químicas, fisiológicas e morfológicas no crescimento, fotossíntese, síntese de proteínas, metabolismo lipídico, respiração e produção de energia das plantas (Elzaawely et al., 2007; Sharma e Dietz, 2009). O resultado mais frequentemente evidenciado e mais precoce do estresse por metais pesados nas células vegetais é a geração excessiva de Espécie Reativas de Oxigênio (EROs), incluindo peróxido de hidrogênio (H_2O_2), oxigênio singlete (1O_2), ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), hidroxila ($HO^{\bullet}$), alcóxil ($RO^{\bullet}$) e radicais peróxil ($RO_2^{\bullet}$) (Schutzendübel e Polle, 2002). Segundo Sarma (2011), as respostas adaptativas das plantas a ambientes contaminados com metais pesados são processos eficientes, incluindo muitas características fisiológicas, moleculares, genéticas e ecológicas, que dão a certas espécies a capacidade de sobreviver ou de hiper acumular os metais tóxicos.

A toxicidade por Cd cria estresse oxidativo nas plantas e causa crescimento atrofiado relacionado a alterações na permeabilidade da membrana e à subsequente geração de EROs em nível subcelular (Mahmood et al. 2009). Sendo de natureza oxidativa, o estresse por Cd leva à formação de várias EROs, incluindo radical hidroxila ($OH^{\bullet}$), ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$) e

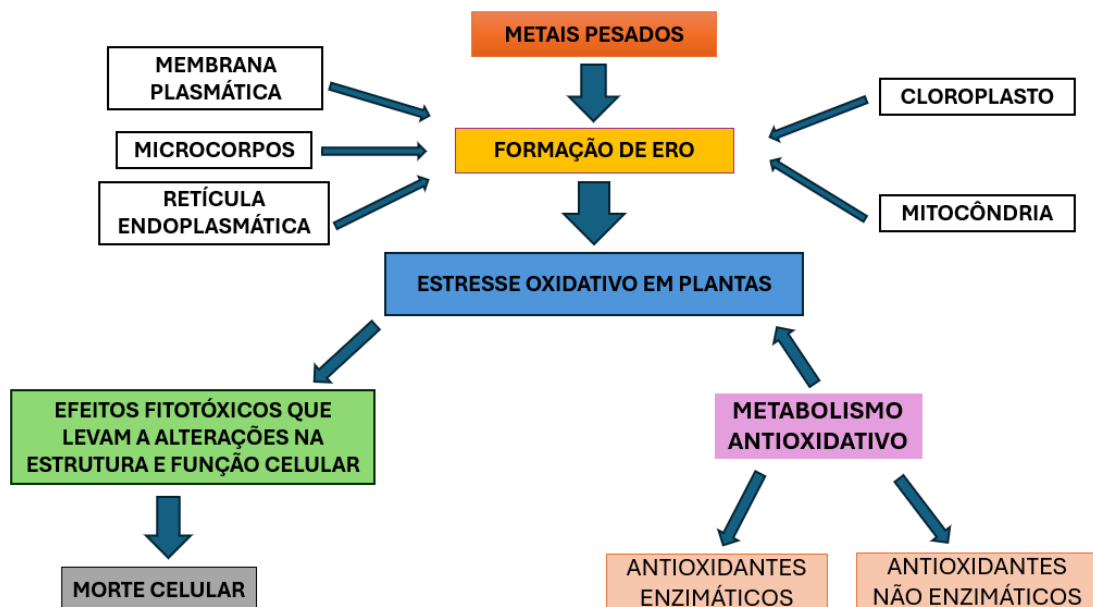
peróxidos de hidrogênio (H_2O_2), resultando em danos à membrana e à vazamento de eletrólitos (Khan et al. 2007).

Essas EROs geralmente levam à oxidação inespecífica de proteínas e lipídios membranosos com morte celular concomitante (Cho e Seo 2005; Khaliq et al. 2015a). Na natureza, a planta desenvolve uma ampla gama de sistemas de defesa e os utiliza como desafio contra o dano oxidativo.

A produção de EROs induzida pela toxicidade do Cd é facilmente eliminada pela ação do sistema de defesa antioxidante, como superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), e também alguns inibidores não enzimáticos, como o ascorbato (AsA), α -tocoferol, glutathiona (GSH) e carotenoides, que também são responsáveis por extinguir o excesso de EROs em plantas sob ambientes estressantes (Wu et al. 2007).

Alguns estudos mostram o papel de diferentes antioxidantes no alívio dos efeitos prejudiciais das condições de estresse. Por exemplo, a produção de SOD é considerada a etapa primária de defesa a nível celular (Noctor e Foyer 1998). Além disso, também foram relatados efeitos de eliminação de CAT e APX na extinção de H_2O_2 (Mobin e Khan 2007; Khaliq et al. 2015a, b).

Figura 3. Ligação entre estresse oxidativo e metal pesado em plantas.



Fonte: Adaptado de Fryzova et al. (2015).

2.4. EFEITOS DA TOXIDEZ POR CÁDMIO NO SISTEMA NUTRICIONAL

A composição ideal de nutrientes minerais é essencial para o metabolismo das plantas. O excesso de metais pesados geralmente afeta negativamente o conteúdo de nutrientes minerais (KOVÁČIK et al., 2009). Na relação solo-planta, o Cd pode influenciar os processos fisiológicos e os mecanismos bioquímicos afetando principalmente a concentração e as funções dos nutrientes minerais. Khan et al. (2007) demonstrou que o Cd interage com a disponibilidade de elementos nutricionais, e também alguns desses nutrientes têm papel protetor contra os efeitos tóxicos do estresse por Cd.

A existência de íons de Cd no solo pode influenciar a absorção da raiz e a distribuição e transporte subsequentes de elementos nutricionais nas plantas (Rochayati et al., 2011). Foi demonstrado que o cádmio interage com o uso, armazenamento e utilização de vários elementos (por exemplo, Ca, Mg, P e K) e a absorção de água pelas plantas (Tran e Popova, 2013).

O Cd pode inibir o ciclo de quelação do ferro e a injeção de ferro no xilema das raízes (Popova et al., 2012). Em solos alcalinos, o Cd compete pelos transportadores de Ca e minimiza o transporte de Ca no xilema das raízes das plantas (Choppala et al., 2014). Vários nutrientes das plantas têm impacto direto e indireto na toxicidade e disponibilidade de Cd para as plantas (Rizwan et al., 2016). Estratégias diretas são compostas de redução da solubilidade de Cd no solo, incentivando a adsorção e a precipitação (Matusik et al., 2008), tendo forte competição entre nutrientes das plantas e íons Cd por transportadores de membrana semelhantes, e acumulação de Cd em partes vegetativas para evitar seu sequestro em sementes e componentes comestíveis (Zhao et al., 2005). Estratégias indiretas envolvem a diluição de íons Cd, aumentando a produtividade e a biomassa das plantas e aliviando o estresse fisiológico (Tran et al., 2011).

Tendo reconhecido a importância dos nutrientes minerais para os sistemas agrícolas e os efeitos adversos do Cd nas plantas, é necessário compreender a interação entre os nutrientes para amenizar o estresse por Cd e, consequentemente, otimizar a produção.

2.5. CLITORIA FAIRCHILDIANA R.A. HOWARD

A espécie *Clitoria fairchildiana* R. A. Howard tem como sinonímia *Clitoria racemosa* Benth., pertence à família Fabaceae, e é popularmente conhecida como faveira, sombreiro ou palheteira, caracterizando-se como uma espécie arbórea de médio a grande porte, com copa frondosa e flores violáceas. Por apresentar crescimento rápido e flores atraentes, a espécie é muito usada para arborização urbana em parques, jardins e estradas (COSTA, 2011; SILVA; MORO, 2008).

Segundo Rando e Souza (2014), a espécie é endêmica do Brasil, e está distribuída nas regiões norte, nordeste, centro-oeste, e com domínios fitogeográficos na Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica. Possui uma madeira com resistência moderadamente pesada à média, podendo ser empregada na construção civil como divisórias de casas e na confecção de caixotaria e brinquedos, além da produção de celulose, forro, lambris, tacos, móveis, piso e laminados (GUAJARÁ et al., 2003; PORTELA et al., 2001).

Segundo Carneiro et al. (1998), a espécie proporciona ótima sombra e apresenta características ornamentais excelentes para arborização, e por ser uma espécie rústica e de rápido crescimento é extremamente útil nos reflorestamentos heterogêneos destinados à reconstituição da vegetação e recuperação de áreas alteradas, através do seu potencial como cobertura de áreas degradadas, atuando como adubo verde, sendo capaz de nodular e fixar nitrogênio (FORTES, 2000).

É classificada no grupamento ecológico como uma espécie clímax, mas pode ser considerada também como uma espécie secundária inicial (MIRANDA NETO et al., 2017). O fruto é uma vagem estreita, verde quando imatura e marrom-clara quando madura, contendo de 4 a 16 sementes discoides, com tegumento variando do marrom-claro a preto (CRUZ, 2019). A dispersão das sementes é autocórica, após a maturação as vagens desidratam e se abrem lançando as sementes no ambiente. Deve-se usar, preferencialmente, sementes com tegumento marrom, pois a taxa de germinação é superior às de tegumento preto (CRUZ, 2019).

As sementes da palheteira são exalbuminosas, orbiculares e achatadas, castanho esverdeadas, glabra e levemente rugosas, medindo em média cerca de 13,4 mm de comprimento, 14,2 mm de largura e 3 mm de espessura e com germinação fanerocotiledonar epígea, possuem um óleo comestível rico em vitamina A e provitamina D, de sabor e cheiro agradáveis (PRANCE; SILVA, 1975; SILVA; MÔRO, 2008).

2.6. ÁCIDO 5-AMINOLEVULÍNICO (5-ALA)

Os reguladores de crescimento vegetal (RCVs) desempenham um papel vital na regulação da transdução de sinal e conversa cruzada com outros metabólitos nas plantas, o que resulta no aprimoramento da planta em processos de desenvolvimento e tolerância das plantas direta ou indiretamente de diferentes estresses ambientais (Wani et al. 2016; Ahmad et al. 2018; Rhaman et al. 2021).

Os principais papéis desempenhados por RCVs como auxinas, citocininas, giberelinas, ácido abscísico (ABA), etileno e ácido salicílico têm sido extensivamente estudados na regulação do crescimento das plantas bem como mitigação do estresse abiótico. Recentemente,

foi provado que o ácido 5-aminolevulínico (5-ALA) é um potencial regulador de crescimento na planta, sendo um composto linear de cinco carbonos que atua como um precursor de moléculas heterocíclicas de tetra pirrol, incluindo clorofila (Chl), vitamina B12 em plantas superiores, e também em animais (Jahn et al. 2009; Tanaka e Tanaka 2011).

O ALA promove crescimento e habilidades de tolerância ao estresse, além de acelerar o desenvolvimento das plantas e aumentar o rendimento através da melhoria do verde da vegetação, dos pigmentos fotossintéticos, da fixação de CO₂ e assimilação de N₂ (Maruyama-Nakashita et al. 2010; Naeem et al. 2010). Recentemente, foi relatado que o ALA funciona como eliminador de espécies reativas de oxigênio (EROs) em plantas, podendo aumentar a tolerância ao stress através da eliminação de níveis de EROs e malondialdeído (MDA) (Rasheed et al. 2020).

Sabe-se que a aplicação de ALA em diferentes concentrações através de diferentes modos, como aplicação foliar, embebição de sementes, irrigação do solo e enraizamento, tem um papel importante no crescimento, rendimento e aprimoramento das plantas sob condições de estresse (Naeem et al. 2010; Akram e Ashraf 2013). Portanto, seleção de doses adequadas e modo de aplicação de ALA ainda é uma área a ser explorada.

2.6.1. Biossíntese do ácido 5-aminolevulínico em plantas

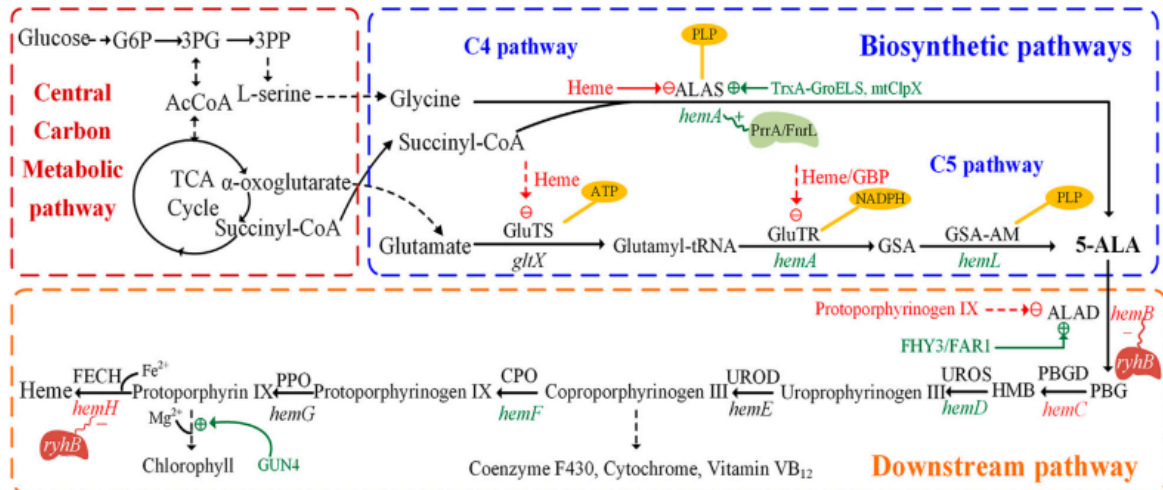
Descobriu-se que o ácido 5-aminolevulínico (ALA) aumenta a tolerância à vários estresses e é uma molécula química promissora para aplicação na agricultura. O 5-ALA é amplamente encontrado em vários organismos vivos, incluindo bactérias, algas, plantas e animais, e é um precursor universal para a síntese de todos os tetra pirróis (clorofila, heme, siroheme, vitamina B12 e fitocromobilina (Sasaki et al. 2002.; Agrawal et al.; 2020).

Portanto, existem duas vias para a biossíntese de ALA, a via C4 (ou via Shemin) e a via C5 (ou via Beale) (Iida & Kajiwara, 2008). A via C4 é encontrada em animais, fungos e algumas algas e bactérias. Nesta via, o ALA é produzido pela condensação direta de succinil-CoA e Gly catalisada pela ALA sintase. A via C5 é encontrada principalmente em plantas e consiste em uma reação enzimática de três etapas (Wu et al., 2019).

Primeiramente, o L-glutamato é ligado ao tRNAGlu, que é catalisado pela glutamyl-tRNA sintetase (GluTS) para formar L-glutamina-tRNA. Em segundo lugar, o grupo carboxila do Glu-tRNA é reduzido a um grupo formil e o L-Glu-tRNA é convertido em 1-semialdeído do ácido L-glutâmico (GSA). GluTR desempenha um papel fundamental durante a via de síntese do ALA. Por último, o GSA sofre uma reação de isomerização catalisada pela glutamato-1-

semialdeído aminotransferase (GSAT) para formar ALA. Todas essas reações estão localizadas no estroma do cloroplasto (Senge et al., 2014).

Figura 4. Vias biossintéticas e vias a jusante do ácido 5-aminolevulínico. A figura está dividida em três partes: vias metabólicas centrais do carbono, vias biossintéticas e vias a jusante. A linha verde tracejada indica regulação positiva, a linha vermelha tracejada indica inibição por feedback. Os genes em verde ou vermelho representam as enzimas que são positivas ou negativas para o acúmulo de ácido 5-aminolevulínico, respectivamente. Os polígonos representam reguladores transcricionais e vermelho ou azul representam regulação positiva/negativa. PBGD, porfobilinogênio desaminase; UROS, uroporfirinogênio III sintase; UROD, uroporfirinogênio descarboxilase; CPO, coproporfirinogênio oxidase; PPO, protoporfirinogênio oxidase; FECH, ferroquelatase; FHY3, Hipocótilo 3 alongado vermelho distante; FAR1, vermelho distante Resposta Prejudicada 1; ClpX mitocondrial (mtClpX); 3PG, 3-fosfoglicerato.



Fonte: Jiang et al. (2022).

3. CAPÍTULOS

3.1. CAPÍTULO I

Título: The use of attenuators in Amazonian forest species under heavy metal stress:
a literature review

O uso de atenuadores em espécies florestais da Amazônia sob estresse de
metais pesados: uma revisão de literatura.

Artigo publicado na revista: Contribuciones a Las Ciencias Sociales (CLCS) – A4

The use of attenuators in Amazonian forest species under heavy metal stress: a literature review

O uso de atenuadores em espécies florestais da Amazônia sob estresse de metais pesados: uma revisão da literatura

DOI: 10.55905/revconv.17n.2-110

Originals received: 01/04/2024

Acceptance for publication:
01/24/2024

Vitor Resende do Nascimento

PhD student in Biodiversity and Biotechnology
Institution: Universidade Federal do Pará (UFPA)
Address: Belém – Pará, Brasil
E-mail: vitoresf@gmail.com

Evelyn Luane Pinheiro de Figueiredo

Graduating in Forest Engineering
Institution: Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA)
Address: Belém – Pará, Brasil
E-mail: evelyn.eng.florestal@gmail.com

Leticia Roberta Melo Monteiro

Graduating in Forest Engineering
Institution: Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA)
Address: Belém – Pará, Brasil
E-mail: leticiaroberta.ef@gmail.com

Lilian Tatiana Costa Barros

Graduating in Forest Engineering
Institution: Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA)
Address: Belém – Pará, Brasil
E-mail: tatianalilian28@gmail.com

Glauco André dos Santos Nogueira

Post-PhD student in Forestry Sciences
Institution: Fundação Amazônia de Amparo a Estudos e Pesquisa (FAPESPA)
Address: Belém – Pará, Brasil
E-mail: glauand@yahoo.com.br

Raphael Leone da Cruz Ferreira

Master in Agronomy
Institution: Instituto Federal do Amapá (IFAP)
Address: Porto Grande – Amapá, Brasil
E-mail: raphael.ferreira@ifap.edu.br

Thalisson Johann Michelin de Oliveira

Master's student in Plant Science

Institution: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ/USP)

Address: Piracicaba - São Paulo, Brasil

E-mail: thalisson.johann@usp.br

Cândido Ferreira de Oliveira Neto

PhD in Agricultural Sciences

Institution: Universidade Federal Rural da Amazônia

Address: Belém – Pará, Brasil

E-mail: candidooliveiraneto@gmail.com

ABSTRACT

Anthropogenic activities such as industrial and mining activities have caused biotic and abiotic stress in plants through contamination by heavy metals deposited in the environment. Some of these are toxic to the plant in any concentration. Phytoremediation and its techniques then emerged as a measure capable of reducing heavy metal contamination. In addition to phytoremediation techniques, research shows the use of growth regulators to act as attenuators and mitigators of stress caused by heavy metals in plants. Thus, the objective of this bibliography was to gather information on contamination by heavy metals in Amazonian forest species, and to outline possible pathways and mechanisms capable of reducing this problem, enabling the use of specific species that can carry out phytoremediation of the soil, making contaminated and unproductive areas into productive ones and capable of being used in forest restoration programs and recovery of degraded areas. Understanding and studies on phytoremediation and its techniques have been deepened. However, it is necessary to increasingly understand the behavior of different species in the presence of heavy metals in the soil.

Keywords: toxicity, stress, growth regulators.

RESUMO

As atividades antropogênicas, como as industriais e de mineração, causaram estresse biótico e abiótico nas plantas por meio da contaminação por metais pesados depositados no ambiente. Alguns deles são tóxicos para as plantas em qualquer concentração. A fitorremediação e suas técnicas surgiram então como uma medida capaz de reduzir a contaminação por metais pesados. Além das técnicas de fitorremediação, pesquisas mostram o uso de reguladores de crescimento para atuar como atenuadores e mitigadores do estresse causado por metais pesados nas plantas. Assim, o objetivo desta bibliografia foi reunir informações sobre a contaminação por metais pesados em espécies florestais amazônicas e traçar possíveis caminhos e mecanismos capazes de reduzir esse problema, possibilitando a utilização de espécies específicas que possam realizar a fitorremediação do solo, tornando áreas contaminadas e improdutivas em produtivas e passíveis de serem utilizadas em programas de restauração florestal e recuperação de áreas degradadas. O entendimento e os estudos sobre a fitorremediação e suas técnicas têm se aprofundado. No entanto, é necessário entender cada vez mais o comportamento de diferentes espécies na presença de metais pesados no solo.

Palavras-chave: toxicidade, estresse, reguladores de crescimento

1 INTRODUCTION

In nature, plants are constantly threatened by biotic and abiotic stresses. Heavy metals such as Fe, Mn, Cu, Ci, Zn and Cd accumulate for a long time in soils through anthropogenic activities, such as industrial waste, fertilizer applications, metal smelting and sewage disposal (Aydinalp and Marinova, 2009). These activities cause metals to leach into groundwater or accumulate on the soil surface. Therefore, metals such as cadmium present in pesticides have no beneficial role and become toxic if their concentration exceeds a certain limit.

Plants are natural bioaccumulators, that is, they extract and concentrate various heavy metals from soil and water that may or may not be necessary for their adequate growth (Ozturk and Turkan 1993; Aksoy and Ozturk 1996, 1997; Aksoy et al. 2000; Ali and Aboul-Enein 2002).

The rate of accumulation and tolerance of plants to heavy metals varies from species to species, with some becoming toxic at a faster rate. Plants facing heavy metal toxicity have visible symptoms such as stunted growth, chlorosis, root browning, decline, and death (Ozturk et al. 2008, 2015b).

Thus, phytoremediation is a type of bioremediation that uses plants to reduce the toxic effects of heavy metals in the environment (Ashraf et al., 2019). As an emerging alternative technology to conventional remediation approaches, phytoremediation offers the advantage of being economically and ecologically sustainable (Emenike et al., 2018; Li et al., 2020; Hasan et al., 2019). Among the phytoremediation technologies applicable to soils contaminated with heavy metals, two of the most used are phytoextraction and phytostabilization (Yan et al., 2020). In phytoextraction, fast-growing plants that tolerate high concentrations of metals in their aerial tissues are used. In phytostabilization, plants are used that have a strong ability to reduce the mobility of metals in the rhizosphere or roots (Favas et al., 2014; Wei et al., 2021).

Plant growth regulators play a vital role in regulating signal transduction and cross-talk with other metabolites in plants, which result in the enhancement of plant processes and tolerance directly or indirectly of different environmental stresses (Wani et al. 2016; Ahmad et al. 2018; Rhaman et al. 2021). Growth regulators such as auxins, cytokinin, gibberellins, abscisic acid (ABA), ethylene and salicylic acid have been extensively studied in regulating plant growth as well as mitigating abiotic stress.

Recently, it has been proven that 5-aminolevulinic acid (ALA) is a potential plant growth regulator, playing an important role in certain metabolic processes, promoting growth and stress tolerance abilities, in addition to increasing yield through improved fixation. of CO₂ and N₂ assimilation (Maruyama-Nakashita et al. 2010; Naeem et al. 2010). Recently, ALA

was reported to function as a scavenger of reactive oxygen species (ROS) in plants.

Therefore, it is important to know species capable of carrying out phytoremediation techniques, and which can thus be indicated as potential species for programs to recover degraded areas. As well as knowing possible attenuators and mitigators of stress caused by heavy metals in plants.

2 OBJECTIVE

The objective of this bibliographical survey is to gather information about contamination by heavy metals in Amazonian forest species, and to outline possible pathways and mechanisms capable of reducing this problem, enabling the use of suitable species that can perform soil phytoremediation, making areas contaminated and unproductive into productive and capable of being used in forest restoration programs and recovery of degraded areas.

Furthermore, we seek to explore the most important characteristics of phytohormones and growth regulators, as well as existing heavy metals and Amazonian forest species, with the aim of seeking potential solutions and effective strategies to combat existing contamination, which appears to be an impediment to the success of forestry production in Amazonian regions.

This review aims to fill gaps in current knowledge about attenuators capable of mitigating plant stress due to heavy metal contamination, bringing together a series of information found in several separate studies, thus offering a more comprehensive view of the causes, origins and possible strategic approaches to prevention. Understanding the behavior of Amazonian forest species and which regulators or attenuators respond most efficiently is fundamental and crucial to improving and accelerating the diagnosis of contaminated areas, bringing effective approaches and treatments.

3 MATERIAL AND METHODS

The study was carried out through a bibliographical survey, consulting books, repositories and articles indexed in the main research bases, such as: *Google Scholar*, *Web of Science*, *Scielo*, *Scopus*, *Wiley Online Library* and *PubMed*. To locate articles, the following terms were used, both in Portuguese and English: attenuators; abiotic stresses; heavy metals; aminolevulinic; cadmium; heavy metals in plants; phytoremediation; forest restoration and reforestation.

This review is integrative and of a qualitative exploratory nature, addressing an important topic that has been the focus of discussion in recent years. Original articles written in both

Portuguese and English and indexed in the last decade were included, filtering the search for articles published between 2012 and 2023, thus seeking updated references that serve as a basis for future work and studies.

Through a bibliographical survey and in order to form a better understanding of the consequences and consequences of contamination by heavy metals in forest species native to the Amazon region, in addition to presenting possible mitigators that aim to mitigate the problem, this article was subdivided into topics: Summary; Summary; Introduction; Goal; Methodology; Results and Discussion (Heavy metals in the environment; Effects of heavy metals on plants; Forest species and the presence of heavy metals; Plant growth regulators; Biochar; 5- aminolevulinic acid; Relationship between heavy metals and stress attenuators; Conclusion; References.

4 RESULTS AND DISCUSSION

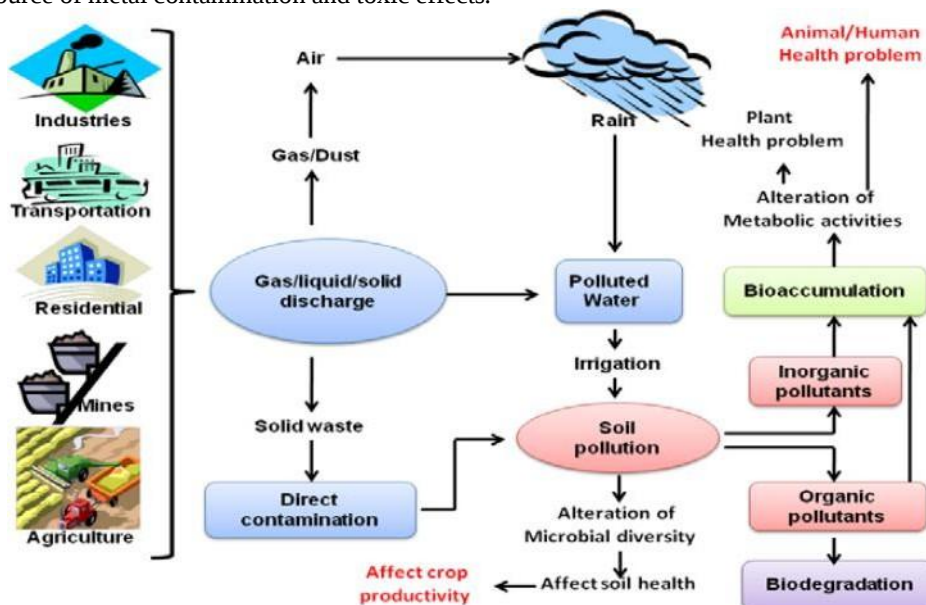
4.1 HEAVY METALS IN THE ENVIRONMENT

Heavy metals are those elements that have a specific weight greater than 5g cm^3 (Leonard et al. 2004). Metals that are at least 5 times denser than water are also defined as heavy metals (ASTDR, 2000). Heavy metals can be essential metals (Mo, Mn Cu, Ni, Fe, Zn) or non-essential metals (Cd, Ni, As, Hg, Pb).

Many heavy metals are essential for plants, as they act as cofactors, activate the enzymatic reaction and have ductility, conductivity and provide cationic stability (Stohs & Bagchi, 1995). However, these metals present in concentrations greater than necessary show toxicity. Deficiencies of essential heavy metals affect human health and agricultural yields. Non-essential metals present toxicity even at low concentrations, as they do not metabolize into other intermediate compounds and do not decompose in the environment.

Due to industrial, domestic, agricultural, medicinal, technological application or natural events such as rock weathering, heavy metals are released into the ecosystem. According to Carvalho et al. (2008), metals arising from environmental contamination are deposited in the soil, mainly in the agricultural or arable layer, often present in the soil solution and available to plants, becoming a source of risk and route of exposure to contamination for the population.

Figure 1. Source of metal contamination and toxic effects.



Source: Oves et al., 2012.

4.2 EFFECTS OF HEAVY METALS ON PLANTS

It is well documented that the presence of heavy metals in soil, water or plants significantly impairs crop growth and yield. The presence of metals causes stunted plant growth, wilting of crowns and degradation of Chlorophyll content, which results in decreased photosynthetic rate and therefore plant death (Prasad and Strzałka 1999; Zhang et al. 2010). Therefore, it is important to know the characteristics and particularities of each metal, and in what form and concentrations they can affect the functioning of the plant.

Some heavy metals (Fe, Cu and Zn) are essential for plants and animals (Wintz, 2002) their availability in the environment varies, and metals such as Cu, Zn, Fe, Mn, Mo, Ni and Co are essential micronutrients (Reeves & Baker, 2000) whose Excess absorption by the plant results in toxic effects (Monni, 2000).

The heavy metals available for absorption by plants are those present as soluble components in the soil solution or those solubilized by root exudates (Blaylock & Huang, 2000). Plants require certain heavy metals for their growth and maintenance, excessive amounts of these metals can become toxic to plants and the ability of plants to accumulate essential metals also allows them to acquire other non-essential metals (Djingova & Kuleff, 2000). As metals cannot be decomposed, when concentrations in the plant exceed optimal levels, they negatively affect the plant, both directly and indirectly, and some of the direct toxic effects caused by high metal concentrations include inhibition of cytoplasmic enzymes and damage to structural cells due to oxidative stress (Assche & Clijsters, 1990; Jadia & Fulekar, 1999).

The negative influence of heavy metals on the growth and activities of soil microorganisms also indirectly affects plant growth. The reduction in the number of beneficial microorganisms in the soil due to the high concentration of metals can lead to decreased decomposition of organic matter, leading to lower soil fertility. Enzymatic activities are very useful for plant metabolism, which is hampered by the interference of heavy metals in the activities of soil microorganisms. These toxic effects (direct and indirect) lead to a decrease in plant growth, which ultimately results in plant death (Schaller & Diez, 1991). Thus, the effect of heavy metal toxicity on plant growth and development differs depending on the specific heavy metal for this process.

4.3 FOREST SPECIES AND THE PRESENCE OF HEAVY METALS

According to Nori et al. (2009), plant species differ widely in their ability to accumulate heavy metals. Many authors have concluded that metal concentrations in plants growing in the same soil vary between species and even between genotypes of the same species (Kabata-Pendias, 2001; Hamon et al., 1997).

Some of the mechanisms that may be responsible for differences between plant species in metal concentrations have been identified. These mechanisms include differences in: 1) root architecture; 2) water use efficiency; 3) rhizosphere chemistry; 4) expression and affinity of root surface transport proteins for metals; 5) metal loading in the xylem and translocation within the plant (Hamon et al., 2003). Furthermore, the age and growth stage of the plant can affect the concentration of metals in plants (Elekes, 2014).

4.4 PLANT GROWTH REGULATORS

Various strategies have been adopted to alleviate heavy metal toxicity in plants; however, modulation of plant growth regulator by physiological or molecular processes has been a major goal in plant research. Among the main regulators, plant hormones [auxins, gibberellins (gibberellic acid, GA), cytokinin (CKs), abscisic acid (ABA), ethylene, jasmonic acid (JA), nitric oxide and brassinosteroids play significant roles mainly in developmental processes of plants and have been extensively researched.

The crucial roles that regulators play in the adaptation and survival of plants growing under different metals/metalloids including Cd are known (Arasimowicz-Jelonek et al. 2011; Masood et al. 2012; Piotrowska-Niczyporuk et al. 2012; Khan and Khan 2014). Furthermore, the role of regulators such as auxins and gibberellic acid in phytoextraction have also been reported (Bulak et al. 2014).

There are growth regulators that are currently gaining ground in research experiments, such as Biochar and 5-aminolevulinic acid:

4.5 *BIOCHAR*

Biochar is an organic substance with stable properties, a complex structure and substantial carbon and is formed by pyrolysis and carbonization of biomass materials at 300–700°C under oxygen-free or hypoxic conditions (Antal and Grønli 2003). The inherent characteristics of biochar, such as high carbon content, large specific surface area, rich pore structure, and stable physicochemical properties, provide an important structural basis for improving soil texture (Ahmed et al. 2016; Li et al. 2017; Lévesque et al. 2020; Mohan et al. 2014).

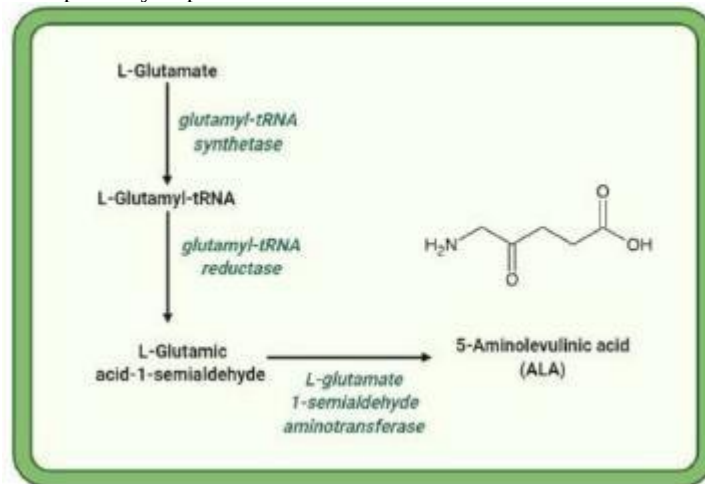
Numerous studies have demonstrated that biochar plays an important role in nutrient cycling in soil ecosystems (Esfandbod et al. 2017; Knowles et al. 2011) and improving soil fertility (Huang et al. 2013). Furthermore, biochar plays an active role in the process of biological nitrogen fixation in soil (Ogawa and Okimori 2010; Quilliam et al. 2013) and can regulate microbial activity (Lehmann et al. 2011).

4.6 *5 AMINOLEVULINIC ACID (5-ALA)*

5-aminolevulinic acid (ALA) is a plant growth regulator that is present in all plants and has a variety of biological activities. ALA is a key precursor in the biosynthesis of porphyrins such as chlorophyll, heme and cytochrome (An & Qi, 2016; Ali et al., 2015). Previous studies indicated that ALA was involved in several important physiological processes, promoting primary root elongation (An et al., 2019), including promoting seed germination (Wang et al., 2015), promoting biomass accumulation plant (Nunkaew et al., 2014), improving photosynthesis (Wang et al., 2004; Wang et al., 2018), contributing to the inhibition of ABA-induced stomatal closure (An et al. 2016). Notably, ALA is crucial for plant response to abiotic stress (Wu et al. 2019).

Previous studies demonstrated that pre-spraying ALA on leaves improved plant tolerance to various abiotic stresses, such as cold stress (Balestrasse et al., 2010), waterlogging, heat stress (Zhang et al., 2012), salinity (Naeem., 2012) and stress due to water deficit (Liu et al., 2011).

Figure 2. ALA biosynthesis pathway in plants.



Source: Authors

5 CONCLUSION

The toxicity of heavy metals caused by their accumulation in the soil can be removed using hyperaccumulator plants through phytoremediation, a process effectively used to treat soils polluted by heavy metals.

Plants employ different mechanisms in the remediation of soils polluted by heavy metals and phyto extraction is the most common phytoremediation method used to treat soils polluted by heavy metals, which guarantees complete removal of the pollutant.

The understanding and studies on phytoremediation and its techniques have deepened. However, it is necessary to increasingly understand the behavior of different species in the presence of heavy metals in the soil.

REFERENCES

- AHMAD, S. *et al.* Cotton productivity enhanced through transplanting and early sowing. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 40, p. 1-7, 2018.
- AHMED MB, ZHOU JL, NGO HH, GUO W, CHEN M. Progress in the preparation and application of modified biochar for improved contaminant removal from water and wastewater. **Bioresour Technol** 214:836–851. 2016.
- AKSOY, Ahmet; ÖZTÜRK, M. Phoenix dactylifera L. as a biomonitor of heavy metal pollution in Turkey. **Journal of Trace and Microprobe Techniques**, v. 14, n. 3, p. 605-614, 1996.
- ALI, B.; GILL, R.A.; YANG, S.; GILL, M.B.; FAROOQ, M.A.; LIU, D.; DAUD, M.K.; ALI, S.; ZHOU, W. Regulation of Cadmium-Induced Proteomic and Metabolic Changes by 5-Aminolevulinic Acid in Leaves of Brassica napus L. **PLoS ONE** 2015, 10, e0123328. [CrossRef] [PubMed].
- ALI, I; ABOUL-ENEIN, H.Y. Speciation of arsenic and chromium metal ions by reversed phase high performance liquid chromatography. **Chemosphere**, v. 48, n. 3, p. 275-278, 2002.
- AN, Y.; LIU, L.; CHEN, L.; WANG, L. ALA Inhibits ABA-induced Stomatal Closure via Reducing H₂O₂ and Ca²⁺ Levels in Guard Cells. **Front. Plant. Sci.** 7, 482, 2016 [CrossRef].
- AN, Y.Y.; CHENG, D.X.; RAO, Z.X.; SUN, Y.P.; TANG, Q.; WANG, L.J. 5-Aminolevulinic acid (ALA) promotes primary root elongation through modulation of auxin transport in Arabidopsis. **Acta Physiol. Plant.** 41, 1–11, 2019 [CrossRef].
- AN, Y.Y.; QI, L.; WANG, L.J. ALA Pretreatment Improves Waterlogging Tolerance of Fig Plants. **PLoS ONE** 11, e0147202.[CrossRef]. 2016.
- ANTAL, M.J.; GRØNLI, M. The art, science, and technology of charcoal production. **Ind Eng Chem Res** 42:1619–1640. 2003
- ANWAR, A.; WANG, J.; YU, X.C.; HE, C.X.; LI, Y.S. Substrate Application of 5-Aminolevulinic Acid Enhanced Low-temperature and Weak-light Stress Tolerance in Cucumber (Cucumis sativus L.). **Agronomy**, 10, 472. [CrossRef]. 2020.
- ARASIMOWICZ-JELONEK, M.; FLORYSZAK-WIECZOREK, J.; GWOZDZ, E.A. The message of nitric oxide in cadmium challenged plants. **Plant Sci** 181:612–620. 2011.
- ASHRAF, S.; ALI, Q.; ZAHIR, Z.; ASGHAR, H. Phytoremediation: Environmentally sustainable way for reclamation of heavy metal polluted soils. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** 174, 714–727. [Google Scholar] [CrossRef]. 2019.
- ASSCHE, F.; CLIJSTERS, H. Effects of metals on enzyme activity in plants. **Plant, Cell and Environment**, vol. 24, pp. 1–15. 1990.

ASTDR. Toxicological profile for manganese. Atlanta Georgia. US Department of Health and Human Services. Agency for Toxic Substances and disease Registry; 1-466, 2000.

AYDINALP, C.; MARINOVA, S.BJoAS. The effects of heavy metals on seed germination and plant growth on alfalfa plant (*Medicago sativa*). **Bulgarian Journal of Agricultural Science**, v. 15, n. 4, p. 347-350, 2009.

BALESTRASSE, K.B.; TOMARO, M.L.; BATLLE, A.; NORIEGA, G.O. The role of 5-aminolevulinic acid in the response to cold stress in soybean plants. **Phytochemistry**, 71, 2038–2045. 2010. [CrossRef] [PubMed]

BLAYLOCK, M.J.; HUANG, J.W. Phytoextraction of metals in Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean up the Environment, I. Raskin and B. D. Ensley, Eds., **Wiley**, New York, NY, USA, pp. 53–70. 2000.

BULAK, P.; WALKIEWICZ, A.; BRZEZIŃSKA, M. Plant growth regulators assisted phytoextraction. **Biol Plant** 58:1–8. 2014.

CARVALHO, A.V.S. *et al.* Produção de matéria seca e de grãos por plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivadas em solos tratados com metais pesados. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 949-955. 2008.

DJINGOVA, R.; KULEFF, I. Instrumental techniques for trace analysis, in Trace Elements: Their Distribution and Effects in the Environment, **J. P. Vernet**, Ed., Elsevier, London, UK. 2000.

ELEKES, C.C. Eco-Technological Solutions for the Remediation of Polluted Soil and Heavy Metal Recovery. In: Hernández-Soriano, M.C., Ed., Environmental Risk Assessment of Soil Contamination, **InTech, Rijeka**, 309-335. 2014.

EMENIKE, C.; JAYANTHI, B.; AGAMUTHU, P.; FAUZIAH, S. Biotransformation and removal of heavy metals: A review of phytoremediation and microbial remediation assessment on contaminated soil. **Environ. Rev.** 26, 156–168. [Google Scholar] [CrossRef] [Green Version]. 2018.

ESFANDBOD, M. *et al.* Aged acidic biochar increases nitrogen retention and decreases ammonia volatilization in alkaline bauxite residue sand. **Ecol Eng.** 98:157–165. 2017.

FAVAS, P.; PRATAS, J.; VARUN, M.; SOUZA, R.; PAUL, M. Phytoremediation of Soils Contaminated with Metals and Metalloids at Mining Areas: Potential of Native Flora. In Environmental Risk Assessment of Soil Contamination; **IntechOpen**: London, UK, 2014; pp. 485–517. 2014. [Google Scholar].

HAMON, R.; MCLAUGHLIN, M. Food Crop Edibility on the Ok Tedi/Fly River Flood Plain. **Report for OK**, 66 p. 2003.

HAMON, R.E.; WUNDKE, J.; MCLAUGHLIN, M.J.; NAIDU, R. Availability of Zinc and Cadmium to Different Plant Species. **Australian Journal of Soil Research**, 35, 1267-1277. <http://dx.doi.org/10.1071/S97052>. 1997.

HASAN, M.; UDDIN, M.; ARA-SHARMEEN, I.; ALHARBY, H.; ALZAHIRANI, Y.; HAKEEM, K.; ZHANG, L. Assisting Phytoremediation of Heavy Metals Using Chemical Amendments. **Plants**, 8, 295. 2019. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)].

HUANG M, YANG L, QIN HD, JIANG LG, ZOU YB. Quantifying the effect of biochar amendment on soil quality and crop productivity in Chinese rice paddies. **Field Crops Res** 154:172–177. 2013.

JADIA, C.D.; FULEKAR, M.H. Phytoremediation of heavy metals: recent techniques. **African Journal of Biotechnology**, vol. 8, no. 6, pp. 921–928. 1999.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. Trace Elements in Soils and Plants. 3rd Edition, **CRC Press**, Boca Raton, 403 p. 2001.

KHAN, M.I.R.; KHAN, N.A. Ethylene reverses photosynthetic inhibition by nickel and zinc in mustard through changes in PS II activity, photosynthetic nitrogen use efficiency, and antioxidant metabolism. **Protoplasma** 251:1007–1019. 2014.

KNOWLES, O.A.; ROBINSON, B.H.; CONTANGELO, A.; CLUCAS, L. Biochar for the mitigation of nitrate leaching from soil amended with biosolids. **Sci Total Environ** 409:3206–3210. 2011.

LEONARD, S.S.; MARRES, G.K.; SHI, X.L. Metal-induced oxidative stress and signal transduction, **Free Rad. Biol. Med.** 37. 1921–1942, 2004.

LÉVESQUE, V. *et al.* Greenhouse gas emissions and soil bacterial community as affected by biochar amendments after periodic mineral fertilizer applications. **Biol Fertil Soils** 56:907–925. 2020.

LI, S.; ZHAO, B.; JIN, M.; HU, L.; ZHONG, H.; HE, Z. A comprehensive survey on the horizontal and vertical distribution of heavy metals and microorganisms in soils of a Pb/Zn smelter. **J. Hazard. Mater.** 400, 123255. 2020. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)].

LIU, D.; PEI, Z.F.; NAEEM, M.S.; MING, D.F.; LIU, H.B.; KHAN, F.; ZHOU, W.J. 5-Aminolevulinic Acid Activates Antioxidative Defence System and Seedling Growth in *Brassica napus* L. under Water-Deficit Stress. **J. Agron. Crop. Sci.** 197, 284–295. 2011. [[CrossRef](#)].

MARUYAMA-NAKASHITA, A. *et al.* Exogenous application of 5-aminolevulinic acid increases the transcript levels of sulfur transport and assimilatory genes, sulfate uptake, and cysteine and glutathione contents in *Arabidopsis thaliana*. **Soil Science & Plant Nutrition**, v. 56, n. 2, p. 281-288, 2010.

MASOOD, A.; IQBAL, N.; KHAN, N.A. Role of ethylene in alleviation of cadmium-induced photosynthetic capacity inhibition by sulphur in mustard. **Plant Cell Environ** 35:524–533.

2012.

MOHAN, D.; SARSWAT, A.; OK, Y.S.; PITTMAN, C.U.. Organic and inorganic contaminants removal from water with biochar, a renewable, low cost and sustainable adsorbent - a critical review. **Bioresour Technol** 160:191–202. 2014.

MONNI, S.; SALEMMA, M.; MILLAR, N. The tolerance of *Empetrum nigrum* to copper and nickel. **Environ Pollut** 109:221–229. 2000.

NAEEM, M.S.; *et al.* 5-Aminolevulinic acid alleviates the salinity-induced changes in *Brassica napus* as revealed by the ultrastructural study of chloroplast. **Plant. Physiol. Bioch.** 57, 84–92. 2012. [CrossRef] [PubMed].

NOURI, J. *et al.* Accumulation of Heavy Metals in Soil and Uptake by Plant Species with Phytoremediation Potential. **Environmental Earth Sciences**, 59, 315–323. <http://dx.doi.org/10.1007/s12665-009-0028-2>. 2009.

NUNKAEW, T. *et al.* Effects of 5-aminolevulinic acid (ALA)-containing supernatants from selected *Rhodospseudomonas palustris* strains on rice growth under NaCl stress, with mediating effects on chlorophyll, photosynthetic electron transport and antioxidative enzymes. **Electron. J. Biotechn.** 17, 4. 2014. [CrossRef]

OGAWA, M.; OKIMORI, Y. Pioneering works in biochar research, Japan. **Soil Res** 48:489–500. 2010.

OVES, M.; SAGHIR KHAN, M.; ZAIDI, A.; AHMAD, E. Soil contamination, nutritive value, and human health risk assessment of heavy metals: an overview. **Toxicity of Heavy Metals to Legumes and Bioremediation**. Springer-Verlag Wien, 2012.

OZTURK, Bengu *et al.* Formation and stabilization of nanoemulsion-based vitamin E delivery systems using natural biopolymers: Whey protein isolate and gum arabic. **Food Chemistry**, v. 188, p. 256-263, 2015.

OZTURK, M.; TURKAN, I. Heavy metal accumulation by plants growing alongside the motor roads: a case study from Turkey. **Plants as biomonitors: indicators for heavy metals in the terrestrial environment**, p. 515-522, 1993.

PIOTROWSKA-NICZYPORUK, A.; BAJGUZ, A.; ZAMBRZYCKA, E.; GODLEWSKAZYLKIEWICZ, B. Phytohormones as regulators of heavy metal Minimising cadmium-phytotoxicity using plant growth regulators 411 biosorption and toxicity in green alga *Chlorella vulgaris* (Chlorophyceae). **Plant Physiol Biochem** 52:52–65. 2012.

PRASAD, M. N. V. *et al.* Impact of heavy metals on photosynthesis. **Heavy metal stress in plants: from molecules to ecosystems**, p. 117-138, 1999.

QUILLIAM, R.S.; DELUCA, T.H.; JONES, D.L. Biochar application reduces nodulation but increases nitrogenase activity in clover. **Plant Soil** 366:83–92. 2013.

REEVES, R.D.; BAKER, A.J.M. Metal-accumulating plants. In: Raskin I, Ensley BD (eds) *Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment*. **Wiley**, New York, pp 193–229, 2000.

RHAMAN, M.S. *et al.* 5-aminolevulinic acid-mediated plant adaptive responses to abiotic stress. **Plant Cell Reports**, v. 40, p. 1451-1469, 2021.

SCHALLER, A; DIEZ, T. Plant specific aspects of heavy metal uptake and comparison with quality standards for food and forage crops,” in *Der Einfluß von festen Abfällen auf Boden, Pflanzen*, D. Sauerbeck and S. Lubben,“ Eds., pp. 92–125, KFA, Julich,“ Germany, (German). 1991.

STOHS, S.J.; BAGCHI, D. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions, **Free Rad. Biol. Med.** 18, 321–336, 1995.

WANG, L.J.; JIANG, W.B.; HUANG, B.J. Promotion of 5-aminolevulinic acid on photosynthesis of melon (*Cucumis melo*) seedlings under low light and chilling stress conditions. **Physiol Plant**, 121, 258–264. 2004. [CrossRef].

WANG, L.J.; JIANG, W.B.; LIU, H.; LIU, W.Q.; KANG, L.; HOU, X.L. Promotion by 5-aminolevulinic acid of germination of pakchoi (*Brassica campestris* ssp *chinensis* var. *communis* Tsen et Lee) seeds under salt stress. **J. Integr. Plant. Biol.** 47, 1084–1091, 2005. [CrossRef].

WANI, S.H. *et al.* Phytohormones and their metabolic engineering for abiotic stress tolerance in crop plants. **The crop journal**, v. 4, n. 3, p. 162-176, 2016.

WEI, Z.; VAN, L.; PENG, W.; YANG, Y.; YANG, H.; GU, H.; LAM, S.; SONNE, C. A review on phytoremediation of contaminants in air, water and soil. **J. Hazard. Mater.** 403, 123658, 2021.[Google Scholar] [CrossRef] [PubMed].

WINTZ, H.; FOX, T.; VULPE C. Responses of plants to iron, zinc and copper deficiencies. **Biochem Soc Trans** 30:766–768, 2002.

WU, Y.; LIAO, W.B.; DAWUDA, M.M.; HU, L.L.; YU, J.H. Correction to: 5-Aminolevulinic acid (ALA) biosynthetic and metabolic pathways and its role in higher plants: A review. **Plant. Growth Regul.** 88, 327, 2019. [CrossRef]

YAN, A.; WANG, Y.; TAN, S.; MOHD-YUSOF, M.; GHOSH, S.; CHEN, Z. Phytoremediation: A promising approach for revegetation of heavy metal-polluted land. **Front. Plant Sci.** 11, 359, 2020.[Google Scholar] [CrossRef]

ZHANG, J.; LI, D.M.; GAO, Y.; YU, B.; XIA, C.X.; BAI, J.G. Pretreatment with 5-aminolevulinic acid mitigates heat stress of cucumber leaves. **Biol. Plant.** 56, 780–784. [CrossRef] 12, 1112 18 of 20. 2012.

ZHANG, X.F.; XIA, H.P.; ZHUANG, L.I.; GAO, B. Potential of four forage grasses in remediation of Cd and Zn contaminated soils. **Bioresource Technol**, 101 (6), pp. 2063-2066, 2010.

3.2. CAPÍTULO II

Título: Alleviation of cadmium toxicity by improving antioxidant defense mechanism and photosynthetic pigments in *Clitoria fairchildiana* R.A Howard seedlings through foliar application of 5-ALA

Alívio da toxicidade do cádmio a partir do mecanismo de defesa antioxidante e dos pigmentos fotossintéticos em *Clitoria fairchildiana* R.A Howard sob aplicação foliar de 5-ALA

Artigo publicado na revista: Contribuciones a Las Ciencias Sociales (CLCS) – A4

Alleviation of cadmium toxicity by improving antioxidant defense mechanism and photosynthetic pigments in *Clitoria fairchildiana* R.A Howard seedlings through foliar application of 5-ALA

Alívio da toxicidade do cádmio a partir do mecanismo de defesa antioxidante e dos pigmentos fotossintéticos em *Clitoria fairchildiana* R.A Howard sob aplicação foliar de 5-ALA

DOI: 10.55905/revconv.18n.1-423

Originals received: 12/27/2024

Acceptance for publication: 01/20/2025

Vitor Resende do Nascimento

PhD student in Biodiversity and Biotechnology
Institution: Universidade Federal do Pará (UFPA)
Address: Belém – Pará, Brasil
E-mail: vitoresf@gmail.com

Evelyn Luane Pinheiro de Figueiredo

Graduating in Forest Engineering
Institution: Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA)
Address: Belém – Pará, Brasil
E-mail: evelyn.eng.florestal@gmail.com

Leticia Roberta Melo Monteiro

Graduating in Forest Engineering
Institution: Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA)
Address: Belém – Pará, Brasil
E-mail: leticiaroberta.ef@gmail.com

Vitoria Luiza dos Passos

Graduating in Forest Engineering
Institution: Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA)
Address: Belém – Pará, Brasil
E-mail: vitoriapassos485@gmail.com

Lilian Tatiana Costa Barros

Graduating in Forest Engineering
Institution: Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA)
Address: Belém – Pará, Brasil
E-mail: tatianalilian28@gmail.com

Raphael Leone da Cruz Ferreira

Master in Agronomy
Institution: Instituto Federal do Amapá (IFAP)
Address: Porto Grande – Amapá, Brasil
E-mail: raphael.ferreira@ifap.edu.br

Glauco André dos Santos Nogueira

Post-PhD student in Forestry Sciences

Institution: Fundação Amazônia de Amparo a Estudos e Pesquisa (FAPESPA)

Address: Belém – Pará, Brasil

E-mail: glauand@yahoo.com.br

Cândido Ferreira de Oliveira Neto

PhD in Agricultural Sciences

Institution: Universidade Federal Rural da Amazônia

Address: Belém – Pará, Brasil

E-mail: candidooliveiraneto@gmail.com

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the biometric parameters, photosynthetic pigments and the antioxidant system of *Clitoria fairchildiana* R.A Howard seedlings subjected to exogenous application of 5-aminolevulinic acid and different concentrations of cadmium (Cd). The experiment was conducted in a greenhouse from May to August 2023. Initially, seedlings were produced from straw seeds. After three months, they were transplanted into 3 kg pots containing previously corrected and fertilized black soil. Ten days after transplanting, the plants received exogenous application of 5-ALA, weekly for 5 weeks, totaling 5 applications. After three days of acclimatization, cadmium concentrations were applied in a single time (42nd DAT), in the form of Cadmium Chloride ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$): 0 (Control), 15 and 30 mg/L-1. The experimental design was completely randomized blocks (CRB), in a 3x3 factorial scheme, specified as follows: three concentrations of Cd (0, 15 and 30 mg L-1 of $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$); and three concentrations of 5-ALA (0, 50 and 100 mg L-1 5-ALA), with 9 replicates. The main biometric and photosynthetic pigment variables showed changes with the application of 5-ALA and little variation in the levels subjected to the presence of cadmium. For the antioxidant system, the activity of the enzymes guaiacol peroxidase (G-POD), ascorbate peroxidase (APX), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and malondialdehyde (MDA) suffered oscillations in their levels due to the application of 5-ALA and Cd, varying according to the concentration of the metal and the part of the plant.

Keywords: Photosynthetic pigments, antioxidative enzymes, heavy metal

RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar os parâmetros biométricos, pigmentos fotossintéticos e o sistema antioxidante de mudas de *Clitoria fairchildiana* R.A Howard submetidas à aplicação exógena do ácido 5- aminolevulínico e diferentes concentrações de cádmio (Cd). O experimento foi conduzido em casa de vegetação no período de maio à agosto de 2023. Inicialmente foram produzidas mudas a partir de sementes de palheteira. Após três meses, as mesmas foram transplantadas para vasos de 3kg contendo terra preta previamente corrigida e adubada. Dez dias após o transplântio, as plantas receberam aplicação exógena de 5- ALA, semanalmente durante 5 semanas, totalizando 5 aplicações. Após três dias de aclimação, as concentrações de cádmio foram aplicadas em uma única vez (42º DAT), na forma de Cloreto de Cádmio ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$): 0 (Controle), 15 e 30 mg/L^{-1} . O delineamento experimental foi de blocos inteiramente casualizados (DBC), em esquema fatorial 3x3, assim especificado: três concentrações de Cd (0, 15 e 30 mg L^{-1} de $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$); e três concentrações de 5- ALA (0, 50 e 100 mg L^{-1} 5-ALA), com 9 repetições. As principais variáveis biométricas e de pigmentos fotossintéticos apresentaram alterações à aplicação de 5- ALA e pouca variação nos teores submetidas a presença de cádmio. Para o sistema antioxidante, A atividade das enzimas peroxidase do guaiacol (G-POD), peroxidase do ascorbato (APX), dismutase do superóxido (SOD), Catalase (CAT) e Malondialdeído (MDA) sofreram oscilações em seus teores devido a aplicação de 5- ALA e Cd, variando conforme a concentração do metal e a parte da planta.

Palavras-chave: pigmentos fotossintéticos, enzimas antioxidativas, metal pesado

1. INTRODUCTION

In nature, plants are constantly threatened by biotic and abiotic stresses, including stress caused by heavy metals. Metals such as Fe, Mn, Cu, and Cd accumulate over a long period of time in soil through human activities, such as industrial waste, fertilizer applications and sewage disposal (Aydinalp and Marinova, 2009), causing the metals to leach into groundwater or accumulate on the soil surface.

Among heavy metals, cadmium (Cd) is one of the main environmental contaminants and one of the most toxic (GALLEGO et al., 2012). Its accumulation in certain plant tissues can lead to the commercial rejection of certain cultivars, decreased productivity, and become dangerous to human health (DI BACCIO et al., 2014). Cd can influence the overproduction of reactive oxygen species (ROS) produced by plants when exposed to heavy metals such as Cd, which has the potential to cause membrane damage. However, plant species are capable of increasing the activity of antioxidant enzymes as a way to reduce the damage caused by ROS, thus increasing tolerance to Cd in their tissues (SINGH et al., 2006).

Plants are natural bio accumulators, meaning they extract and concentrate various heavy metals from soil and water that may or may not be necessary for their proper growth (Ozturk and Turkan 1993; Aksoy and Ozturk 1996, 1997; Aksoy et al. 2000; Ali and Aboul-Enein 2002). The rate at which plants accumulate and tolerate heavy metals varies from species to species, with some becoming toxic at a faster rate. Plants facing heavy metal toxicity exhibit visible symptoms such as stunted growth, chlorosis, browning of roots, decline, and death (Ozturk et al. 2008, 2015b).

Thus, phytoremediation is a type of bioremediation that uses plants to reduce the toxic effects of heavy metals in the environment (Ashraf et al., 2019). Being an emerging alternative technology to conventional remediation approaches, it offers the advantage of being economically and ecologically sustainable (Emenike et al., 2018; Li et al., 2020; Hasan et al., 2019).

Thus, according to Lorenzi (2009), the palheteira (*Clitoria fairchildiana* R.A Howard), also known as sombrero and among others, is a fast-growing species that can be used in the recovery of degraded areas and rural and urban afforestation, in addition to being included in landscaping and civil construction projects. It is a tree species native to the Amazon region and belongs to the Fabaceae family. It is found in riparian forests, floodplain forests, ombrophilous forests, cerrado (*Clitoria*, 2018), restinga (Ducke, 1949) and in capoeira (Zanuncio et al., 2013).

Plant growth regulators (PGRs) such as auxins, cytokinin, gibberellins, abscisic acid (ABA), ethylene and salicylic acid have been extensively studied in the regulation of plant growth, as well as in the mitigation of abiotic stress.

It has been proven that 5-aminolevulinic acid (ALA) is a potential regulator of plant growth, playing an important role in certain metabolic processes, promoting growth and stress tolerance capacity, in addition to increasing yield through better fixation of CO₂ and N₂ assimilation (Maruyama-Nakashita et al. 2010; Naeem et al. 2010). It is important to know species capable of performing phytoremediation techniques, and thus can be indicated as potential species for recovery programs of degraded areas. As well as to know possible attenuators and mitigators of stress caused by heavy metals in plants. Thus, the objective of this study is to evaluate the biometric results, photosynthetic pigments and the protective capacity of the enzymes of the antioxidant system in young plants of *Clitoria fairchildiana* R.A. Howard subjected to the application of 5-aminolevulinic acid and different doses of cadmium.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Plant Material

The seeds of *Clitoria fairchildiana* R.A. Howard were collected within the area of the Federal Rural University of the Amazon (Belém-PA) between January and February 2023, and after collection they were sown in plastic trays containing fine expanded vermiculite to aid in the availability of water for the plant.

2.2. Growth conditions

The experiment was conducted in a greenhouse belonging to UFRA (Federal Rural University of the Amazon) in Belém, Pará state, Brazil (01° 27' 31" S, 48° 26' 04.5") from May to August 2023. The climate classification, according to Köppen and Geiger, is Af with an average temperature of 26.8 °C and relative humidity of 95%. Palheteira seedlings with approximately 3 months old were transplanted from a tray with vermiculite to polyethylene pots with a capacity of 3 kg, containing as substrate the soil collected in an area of native forest (within the premises of UFRA - Belém) in the layer of 0 to 20 cm deep.

2.3. Soil

The collected soil underwent an air-drying process, followed by crushing and sieving. The soil acidity was corrected, and it underwent macro and micronutrient fertilization. After, the seedlings were transplanted into pots (0 Days After Transplanting), where they were watered daily within field capacity throughout the experiment.

Figure 1. Experiment recently implemented in a greenhouse (0 DAT) with young straw bale plants (*Clitoria fairchildiana* R.A. Howard).



Source: The author (2024).

2.4. Application of 5-aminolevulinic acid (5-ALA)

Ten days after transplanting (10th DAT), the plants received an application of 5-aminolevulinic acid in the form of 5-aminolevulinic acid hydrochloride. The solution was applied via foliar spray using sprayers, at concentrations of 0 (Control), 50 and 100 mg/L⁻¹, spraying all leaves of each plant. Applications were made weekly for 5 weeks, totaling 5 applications, always at around 5 pm.

2.5. Exposure of plants to cadmium dosages

After 5 weeks of application of 5-aminolevulinic acid, followed by three days of acclimatization, cadmium doses were applied in a single time (42nd DAT), through 3 doses of Cadmium Chloride (CdCl₂.H₂O): 0 (Control), 15 and 30 mg/L⁻¹. Approximately 300 mL (field capacity) of CdCl₂.H₂O were applied to each pot. After application of the doses, the seedlings were watered every day within field capacity.

2.6. Collection and storage of material

After 4 weeks (28 days) of applying the CdCl₂.H₂O doses and 70 days of implantation, the experiment was withdrawn due to the size of the plants, as many were already almost 80 cm tall. The material was collected and separated into leaves, stems and roots, stored and taken to the freezer for later laboratory analysis. Subsequently, part of the leaves and roots were freeze-dried with a freeze-dryer (model LS 3000, Terroni) to be used in the analysis of antioxidant system enzymes. Another part of the material was stored in a freezer to be used in the analysis of photosynthetic pigments and Malondialdehyde (MDA) content.

2.7. Height (cm), diameter (mm) and number of leaves

On the day before the experiment was removed (69 DAT), all plants had their heights and diameters measured using a ruler graduated in centimeters and a digital caliper graduated in millimeters (Digimass), respectively. The number of all leaves on each plant was also counted (Figure 2).

To measure height (H), the ruler was used from the base of the stem to the last leaf intersection. To measure diameter, the digital caliper was used approximately 5 cm above the base and close to the stem.

Figure 2. Biometric measurements performed on *Clitoria fairchildiana* R.A Howard plants the day before withdrawal from the experiment (69 DAT).



Source: The author (2024).

2.8. Chlorophylls a, b, total and pheophytins

The values of chlorophyll a, b, and total were obtained using a chlorophyll meter (Falker brand ClorofiLOG model CFL 2060), thus obtaining the Falker chlorophyll index. The measurements were taken the day before the experiment was removed, at around 5:00 p.m., by measuring an intermediate and healthy leaf per plant (Figure 3).

Figure 3. Use of the chlorophyll meter to measure chlorophyll a, b, and total.



Source: The author (2024).

To obtain the extract required for the pheophytin concentration assay, the methodology recommended by Sims & Gamon (2002) was used, in which 100 mg of fresh leaves from each sample were weighed and placed in a mortar containing 3 mL of 80% acetone, followed by maceration and then filtration with paper towels. The supernatant was transferred to a 25 mL volumetric flask and the volume was measured with 80% acetone. Previously, the blank was placed to zero the apparatus (80% acetone). All extraction was performed on ice and in the dark, and the samples were read in a spectrophotometer at 435 nm (absorption in red light) and 415 nm (absorption in blue light), according to the methodology proposed by Vernon (1960) and Moss (1976), respectively.

To obtain the index that estimates the degradation of chlorophyll to pheopigments, the division was made: $435\text{nm}/415\text{nm}$ (Ronen & Galun, 1984).

2.9. Antioxidant system

The analysis of antioxidant enzymes and lipid peroxidation were performed at the Laboratory of Biodiversity Studies in Higher Plants (EBPS) of UFRA Campus Belém. The variables analyzed were: superoxide dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), according to the method recommended by Gianopolitis and Ries (1977); ascorbate peroxidase (APX, EC 1.11.1.11) according to the methodology of Nakano and Asada (1981); guaiacol peroxidase (G-POD, EC 1.11.1.9) according to Kar and Mishra (1976); catalase (CAT, EC 1.11.1.6) according to that recommended by Havir and McHale (1987); and malondialdehyde (MDA) content, according to the methodology of Heath and Packer (1968). The samples were extracted and then the

analytical process for each variable was carried out, with readings of 560 nm (SOD), 290 nm (APX), 470 nm (GPOD), 240 nm (CAT) and 532 and 600 nm (MDA).

2.10. Experimental design and statistical analysis

The experimental design used was randomized blocks (DBC), with a 3x3 factorial scheme: three concentrations of Cd (0, 15 and 30 mg L⁻¹); and three concentrations of 5-ALA (0, 50 and 100 mg L⁻¹), with 4 replicates, totaling 36 experimental units (one plant/pot).

The data were subjected to analysis of variance using the F test, and when significant, the Tukey test was applied to compare the treatment means at a 5% probability level. The collected data were analyzed using the AgroEstat statistical program (Barbosa and Júnior, 2014), and the graphs were generated using Microsoft Office Excel version 2016.

3. RESULTS

The variables showed significant interaction ($p < 0.05$) between the factors cadmium doses (Cd) and 5-aminolevulinic acid doses (ALA), with the exception of the variable Chlorophyll a (Clo a) which did not show statistically significant differences ($p < 0.05$).

Table 1. Analysis of variance for height (H), diameter (D), number of leaves (NL), chlorophyll a (Clo a), chlorophyll b (Clo b), total chlorophyll (Clo total) and pheophytin in reedleaf seedlings (*Clitoria fairchildiana* R.A. Howard) as a function of different concentrations of cadmium (Cd) and 5-Aminolevulinic acid (5-ALA).

Source of variation	LD	Mean Square						
		H	D	NL	Clo a	Clo b	Total	Pheophytins
Cadmium (Cd)	2	168 ^{ns}	0,17 ^{ns}	7,58 ^{ns}	12,81 ^{ns}	107**	170**	0,013 ^{ns}
5-aminolevulinic acid (ALA)	2	121 ^{ns}	9,29*	3,25 ^{ns}	13,57 ^{ns}	96**	179**	0,035**
Cd x ALA	4	479**	8,90*	12,58**	6,28 ^{ns}	58**	75*	0,014*
CV (%)	-	16	17	14	5	16	8	6

CV = coefficient of variation; ns = not significant; * = significant ($p < 0,05$); ** = significant ($p < 0,01$) by F test.

Table 2. Analysis of variance for CAT, APX, GPOD, SOD and MDA (leaf and root) in reed seedlings (*Clitoria fairchildiana* R.A Howard) as a function of different concentrations of cadmium (Cd) and 5-Aminolevulinic acid (5-ALA).

Source of variation	LD	Mean Square									
		APX Leaf	APX Root	CAT Leaf	CAT Root	GPOD Leaf	GPOD Root	SOD Leaf	SOD Root	MDA Leaf	MDA Root
Doses of Cadmium (Cd)	2	0,06**	0,35 ^{ns}	2,85**	32,98*	0,28*	6,42 ^{ns}	505*	113**	0,002**	0,0009**
5-aminolevulinic acid (ALA)	2	0,10**	1,30**	3,39**	51,64*	0,23*	28,82*	489*	7 ^{ns}	0,001**	0,0004 ^{ns}
Cd x ALA	4	0,09**	0,91**	2,07**	18,09*	0,43**	43,96*	592*	103*	0,002**	0,0014**
CV (%)	-	2	7	13	23	18	16	25	15	18	25

CV = coefficient of variation; ns = not significant; * = significant (p<0,05); ** = significant(p<0,01) by F test.

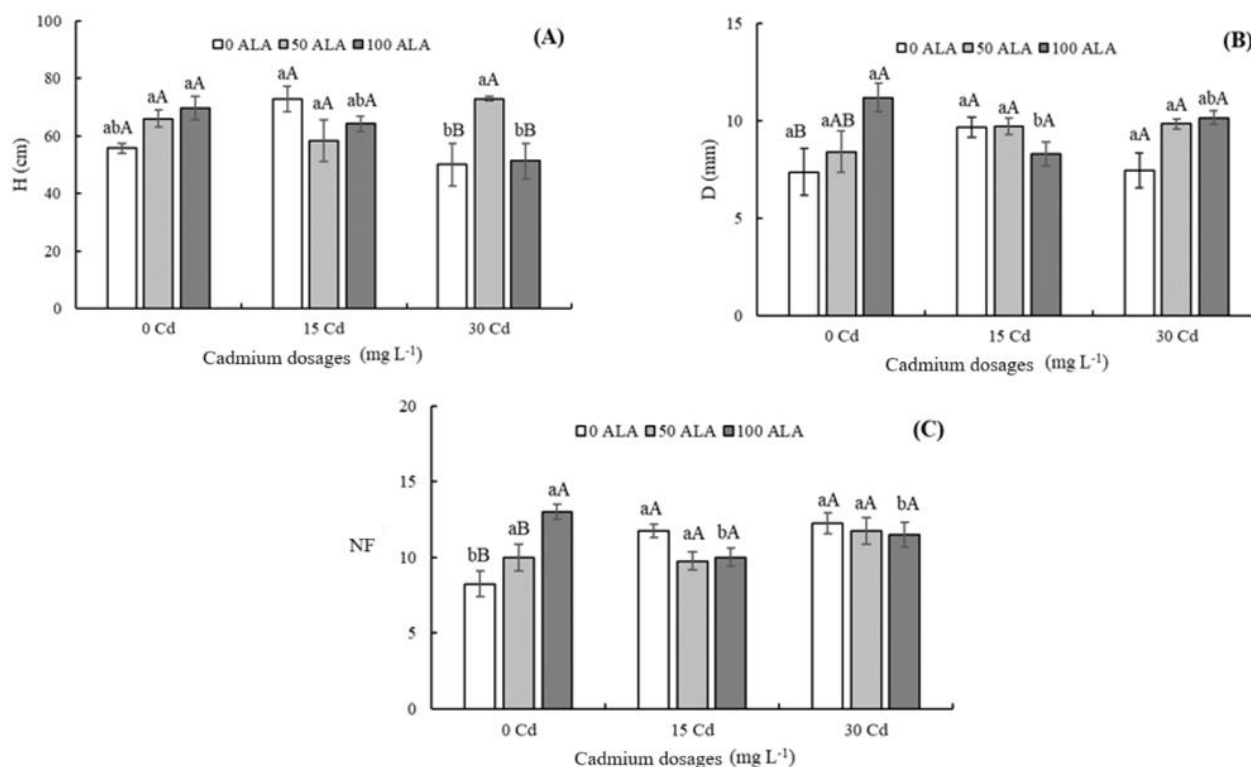
3.1. Biometrical variables

The results obtained indicated that the application of cadmium in *C. fairchildiana* seedlings caused, in general, greater height (H) in plants with the dose of 15 mg L⁻¹ Cd, representing 2% and 12% more than the control plants (0 Cd) and those with 30 mg L⁻¹ Cd, respectively. Also noteworthy are the plants that were subjected to 50 mg L⁻¹ of 5-ALA and 30 mg L⁻¹ of Cd, presenting an average of 73 cm in height, representing an increase of approximately 10% in relation to plants with a dosage of 50 mg L⁻¹ of 5-ALA but without Cd doses (0 Cd).

The diameter showed progressive growth of 52% in plants without cadmium (0 Cd), going from 7.37 mm (0 ALA) to 11.2 mm (100 ALA). At the dose of 15 mg L⁻¹ Cd, there was a decrease of 14% in diameter in relation to the control (0 ALA), and an increase of 52% in plants with a dose of 30 mg L⁻¹ Cd in relation to the control (0 ALA).

The number of leaves showed higher values at the dose of 30 mg L⁻¹ Cd, with an average of 12 leaves, while at the doses of 0 and 15 mg L⁻¹ Cd, the average was the same between them, 10 leaves. Similar to what occurred in the diameter (Figure 4B), the number of leaves also showed progressive growth in plants without cadmium (0 Cd), with an increase of 57%, going from 8 (0 ALA) to 13 leaves (100 ALA).

Figure 4. Influence of 5-aminolevulinic acid (0, 50 and 100 mg L⁻¹) on height (H) in centimeters (a), diameter (D) in mm (b) and number of leaves (NL) (c) in palheteira seedlings (*Clitoria fairchildiana* R.A Howard) under cadmium doses (0, 15 and 30 mg L⁻¹). Means followed by the same lowercase letter do not differ by Tukey's test ($p < 0.05$) between cadmium doses at the same concentration of 5-ALA. Means followed by the same uppercase letter do not differ by Tukey's test ($p < 0.05$) between 5-ALA concentrations at the same dose of Cadmium. Mean $\pm$ Standard error.



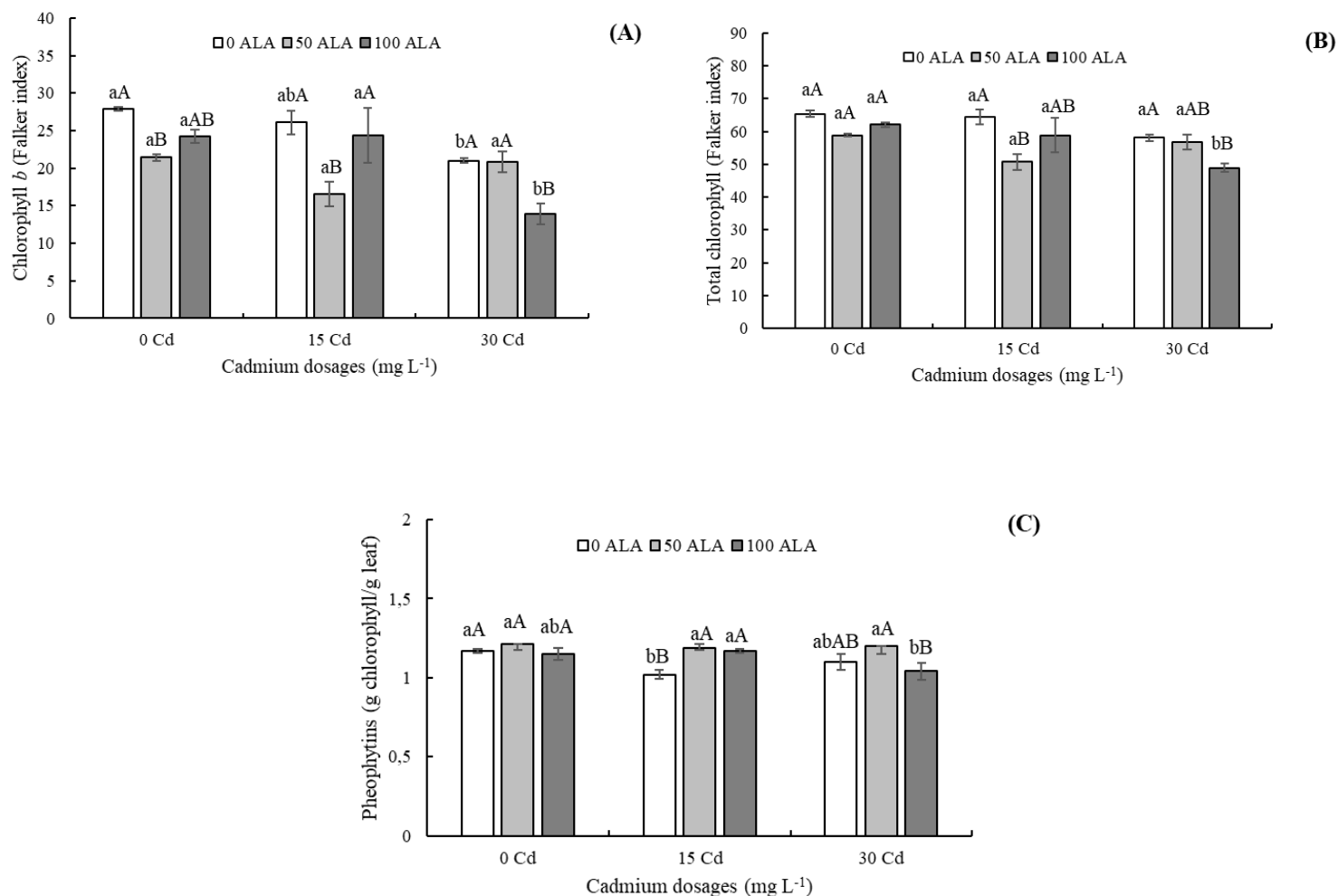
3.2. Photosynthetic pigments

In general, chlorophyll *b* (Figure 5A), total chlorophylls (Figure 5B) and pheophytins (Figure 3C) showed differences in levels after applications of 5-aminolevulinic acid, with an increasing tendency for pheophytins when subjected to cadmium concentrations.

Chlorophyll *b* (Figure 5A) decreased by 25% in plants without 5-ALA application and as cadmium doses increased, but did not differ statistically despite the increase in cadmium. In plants with 30 mg L⁻¹ of 5-ALA, the decrease was 43%. Despite the small difference (7% higher compared to plants with 15 mg L⁻¹ Cd and 11% higher in plants with 30 mg L⁻¹ Cd), total chlorophyll contents (Figure 5B) were higher in plants without cadmium doses (0 Cd), with an average of 63 in the F index. Meanwhile, in plants with 30 mg L⁻¹ Cd, the decrease in relation to the controls (0 Cd) was 11%. Therefore, Chlorophyll *b* and total chlorophylls showed higher levels in plants without application of 5-ALA and without application of Cadmium, which demonstrates that the application of 5-ALA and Cadmium did not result in high concentrations of photosynthetic pigments compared to control plants.

The pheophytin levels were similar, regardless of the application of Cd and 5-ALA, with a slight advantage of 5% in plants without Cd doses (0 Cd).

Figure 5. Influence of 5-aminolevulinic acid (0, 50 and 100 mg L⁻¹) on chlorophyll *b* (a), total (b) and pheophytin (c) contents of palheteira seedlings (*Clitoria fairchildiana* R.A Howard) under cadmium doses (0, 15 and 30 mg L⁻¹). Means followed by the same lowercase letter do not differ by Tukey's test ($p < 0.05$) between cadmium doses at the same 5-ALA concentration. Means followed by the same uppercase letter do not differ by Tukey's test ($p < 0.05$) between 5-ALA concentrations at the same cadmium dose. Mean $\pm$ Standard error.



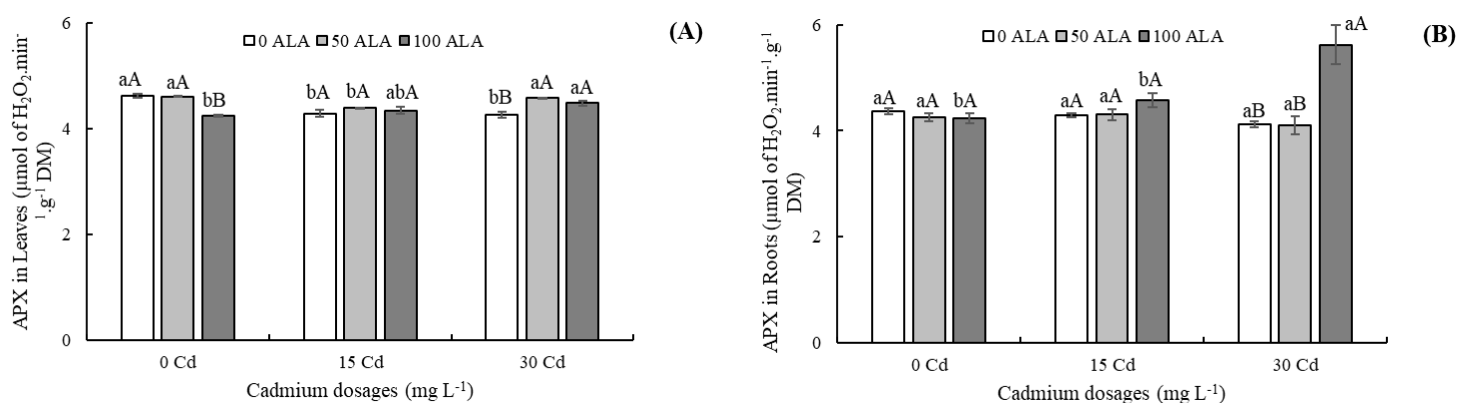
3.3. Antioxidant enzymes (APX, CAT, G-POD, SOD) and lipid peroxidation (MDA)

3.3.1. Ascorbate peroxidase (APX)

The results obtained indicated that the application of cadmium concentrations in *C. fairchildiana* plants promoted a significant increase ($p < 0.05$) in the APX content in the roots of plants with 30 mg L⁻¹ Cd and 100 mg L⁻¹ 5-ALA, increasing by 33% at the dose of 30 mg L⁻¹ compared to the control plants (Figure 6B). In the leaves, the results showed that the APX contents (Figure 4A) at both doses of cadmium (15 and 30 mg L⁻¹) were little changed, when compared to the control plants (0 mg L⁻¹ Cd).

The results obtained for the behavior of APX in the leaves of *C. fairchildiana* (Figure 6A) show that the exogenous application of 5-ALA promoted a significant difference ($p < 0.01$) between the plants subjected to cadmium (15 and 30 mg L⁻¹), as well as there was a difference ($p < 0.01$) between the plants not subjected to the metal (0 mg L⁻¹). However, the content decreased only 9% in the leaves without the presence of Cd and with 100 mg L⁻¹ 5-ALA, in relation to the plants without application of 5-ALA (0 mg L⁻¹). In the roots (Figure 6B), when 5-ALA was applied, *C. fairchildiana* plants showed an increase ($p < 0.05$) of 8% and 33% at doses of 15 and 30 mg L⁻¹ of Cd, respectively, in plants that received application of 100 mg L⁻¹ of 5-ALA compared to plants without application of 5-ALA.

Figure 6. Influence of 5-aminolevulinic acid (0, 50 and 100 mg L⁻¹) on the enzymatic activity of ascorbate peroxidase (APX) in leaves (a) and roots (b) of palheteira seedlings (*Clitoria fairchildiana* R.A Howard) under cadmium doses (0, 15 and 30 mg L⁻¹). Means followed by the same lowercase letter do not differ by Tukey's test ($p < 0.05$) between cadmium doses at the same concentration of 5-ALA. Means followed by the same uppercase letter do not differ by Tukey's test ($p < 0.05$) between 5-ALA concentrations at the same dose of Cadmium. Mean $\pm$ Standard error.



3.3.2. Catalase (CAT)

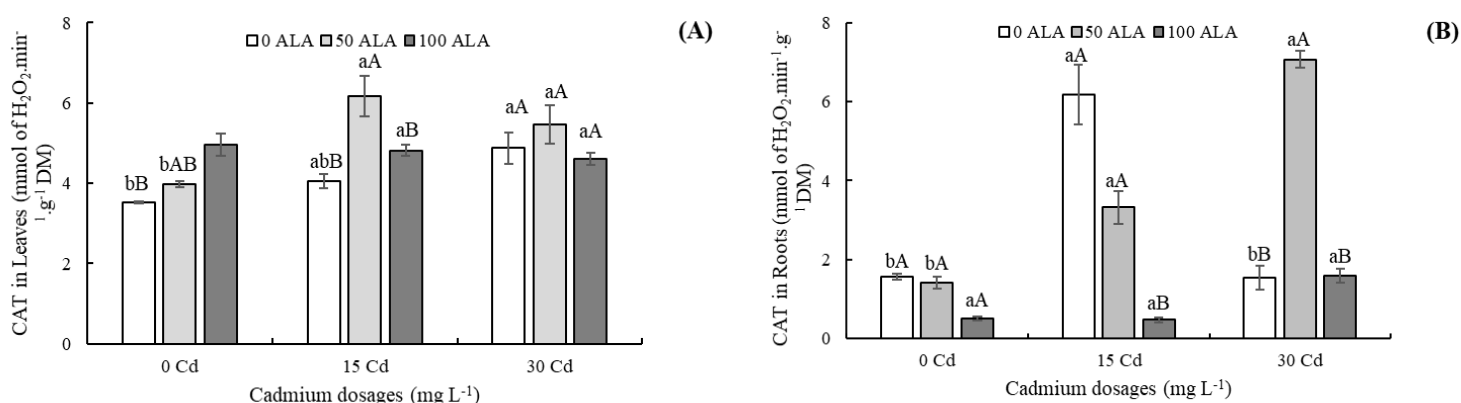
The results showed that the application of cadmium concentrations in *C. fairchildiana* promoted a significant increase ($p < 0.05$) of 55% for plants with 15 mg L⁻¹ Cd and a decrease of 7% for the dose of 30 mg L⁻¹ Cd in the CAT contents in the leaves (Figure 7A) when compared to the control (0 mg L⁻¹ Cd). In the roots (Figure 7B), the CAT contents increased significantly ($p < 0.05$) by 293% for the dose of 15 mg L⁻¹ Cd and 401% in plants with 30 mg L⁻¹ Cd when compared to the control (0 mg L⁻¹ Cd).

Regarding the exogenous application of 5-ALA, there was a significant increase ($p < 0.05$) of 41% and 37% in the CAT levels in the leaves (Figure 7A) of the control plants (0 mg L⁻¹ Cd) and 30 mg L⁻¹ Cd, respectively, when compared to the plants without the application of 5-ALA. In the root (Figure 5B), a significant increase ($p < 0.05$) in the CAT levels was observed in the plants subjected to dosages of 50 mg L⁻¹ 5-ALA, when the dosages of 15 and 30 mg L⁻¹

Cd were applied, representing an increase of 135% and 401%, respectively, when compared to the plants without application of cadmium ($0 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cd}$).

The application of ALA without the presence of cadmium promoted an increase in CAT activity, generating a significant difference between the ALA doses. However, when the plants were exposed to cadmium stress (15 and 30 Cd), the action of ALA (50) showed greater enzyme activity. The highest dose of ALA applied (100) did not promote differences with the increase in stress, which shows that the dose of 50 mg L^{-1} of 5-ALA was more efficient in the action of the CAT enzyme.

Figure 7. Influence of 5-aminolevulinic acid (0, 50 and 100 mg L^{-1}) on the enzymatic activity of catalase (CAT) in leaves (a) and roots (b) of palheteira seedlings (*Clitoria fairchildiana* R.A Howard) under cadmium doses (0, 15 and 30 mg L^{-1}). Means followed by the same lowercase letter do not differ by Tukey's test ($p < 0.05$) between cadmium doses at the same concentration of 5-ALA. Means followed by the same uppercase letter do not differ by Tukey's test ($p < 0.05$) between 5-ALA concentrations at the same dose of Cadmium. Mean $\pm$ Standard error.

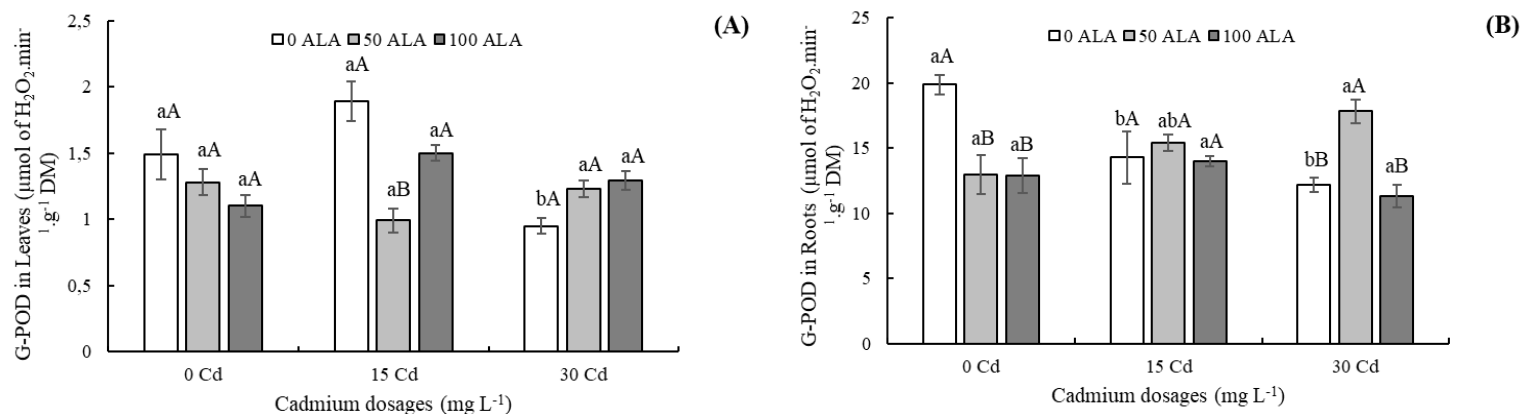


3.3.3. Guaiacol peroxidase (G-POD)

In the leaves of *C. fairchildiana* (Figure 8A), the dose of $15 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cd}$ showed the greatest significant increase ($p < 0.05$) in the G-POD content, with a 27% increase for plants without 5-ALA ($0 \text{ mg L}^{-1} \text{ 5-ALA}$) when compared to the control plants ($0 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cd}$). In plants without Cd application (0 Cd), the increase in the doses of 5-ALA did not promote enzymatic action of the G-POD enzyme, in addition to the dose of 100 mg L^{-1} of 5-ALA being more efficient in plants subjected to 15 mg L^{-1} of Cd.

Meanwhile, in the roots (Figure 8B), the G-POD levels were generally much higher than in the leaves, with an average of $1.30 \mu\text{mol of H}_2\text{O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{ DM}$ in the leaves and $14.52 \mu\text{mol of H}_2\text{O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{ DM}$ in the roots, representing an increase of 1017%. The plants presented high levels of the G-POD enzyme in the roots, including the plants without application of cadmium ($0 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cd}$) and without application of 5-ALA ($0 \text{ mg L}^{-1} \text{ 5-ALA}$).

Figure 8. Influence of 5-aminolevulinic acid (0, 50 and 100 mg L⁻¹) on the enzymatic activity of guaiacol peroxidase (G-POD) of leaves (a) and roots (b) of palheteira seedlings (*Clitoria fairchildiana* R.A Howard) under cadmium doses (0, 15 and 30 mg L⁻¹). Means followed by the same lowercase letter do not differ by Tukey's test ($p < 0.05$) between cadmium doses at the same concentration of 5-ALA. Means followed by the same uppercase letter do not differ by Tukey's test ($p < 0.05$) between 5-ALA concentrations at the same dose of Cadmium. Mean $\pm$ Standard error.

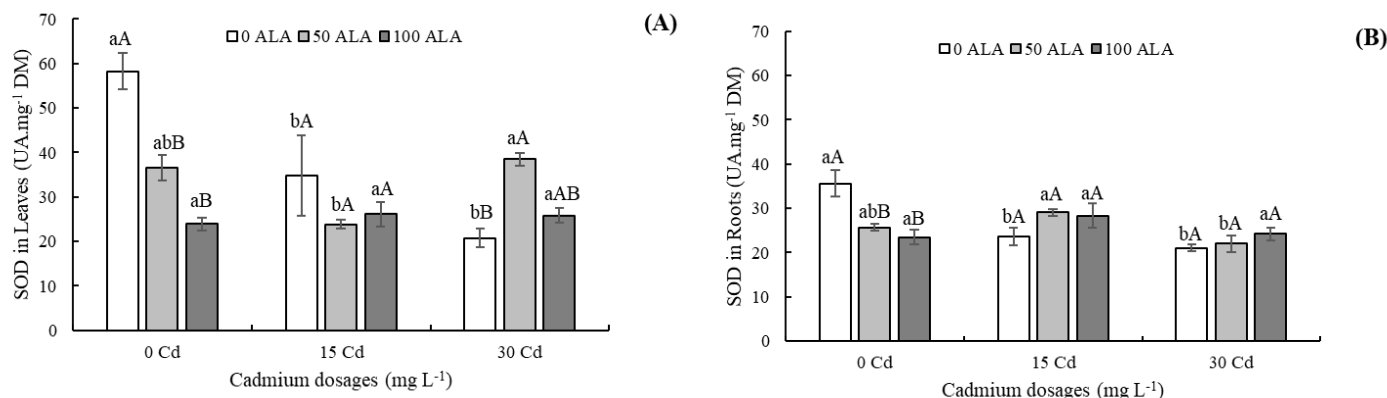


3.3.4. Superoxide dismutase (SOD)

The application of cadmium in *C. fairchildiana* did not provide a significant increase in SOD in the leaves (Figure 9A), since the control plants (0 mg L⁻¹ Cd) presented higher levels than the leaves subjected to 5 and 30 mg L⁻¹ Cd, presenting an average of 39.55 AU mg⁻¹ DM against 28.35 AU mg⁻¹ DM of the plants with 30 mg L⁻¹ Cd, which represents a 40% higher SOD content in the leaves of the control plants (0 mg L⁻¹ Cd). No increase was observed in the roots, and both cadmium doses were not significant in relation to the control.

Plants without 5-ALA application (0 ALA) presented higher SOD contents in the leaves (Figure 7A), with values of 58 AU mg⁻¹ DM in plants without cadmium doses (0 Cd), while it presented 35 AU mg⁻¹ DM in plants with 15 mg L⁻¹ Cd, which shows a decrease of 60% in the SOD contents in the leaves. While in the roots (Figure 7B), the SOD contents were closer with averages of 27 AU mg⁻¹ DM for the control plants (0 ALA), 26 AU mg⁻¹ DM for the 50 mg L⁻¹ 5-ALA dose, and 25 AU mg⁻¹ DM for the 100 mg L⁻¹ 5-ALA dose. Therefore, the 50 mg L⁻¹ 5-ALA dose was more efficient than the 100 mg.

Figure 9. Influence of 5-aminolevulinic acid (0, 50 and 100 mg L⁻¹) on the enzymatic activity of superoxide dismutase (SOD) in leaves (a) and roots (b) of palheteira seedlings (*Clitoria fairchildiana* R.A Howard) under cadmium doses (0, 15 and 30 mg L⁻¹). Means followed by the same lowercase letter do not differ by Tukey's test ($p < 0.05$) between cadmium doses at the same concentration of 5-ALA. Means followed by the same uppercase letter do not differ by Tukey's test ($p < 0.05$) between 5-ALA concentrations at the same dose of Cadmium. Mean $\pm$ Standard error.



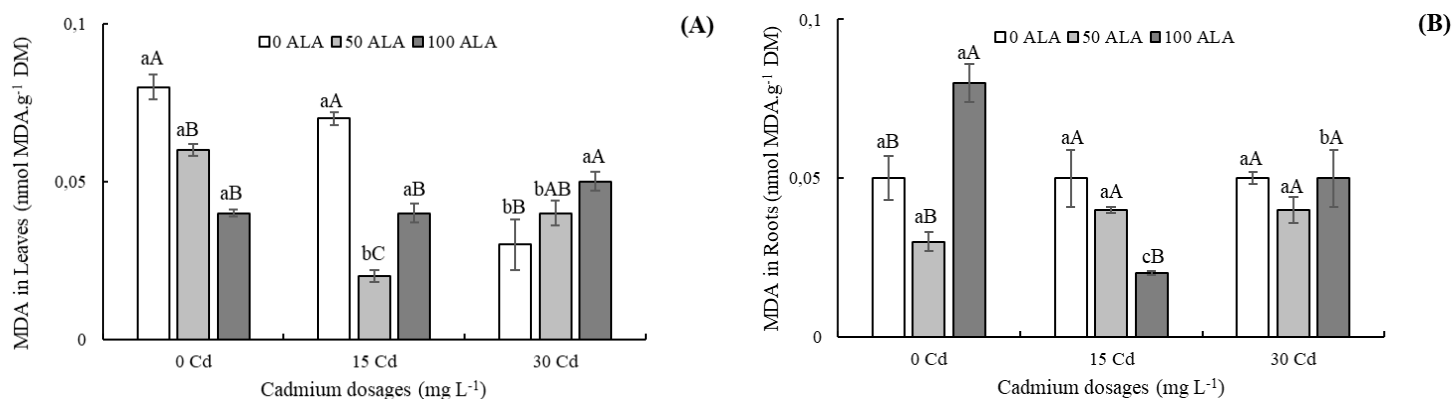
3.3.5. Malondialdehyde (MDA)

In general, MDA levels in the roots (Figure 10B) were lower in the presence of cadmium. In plants treated with 5-ALA and with cadmium, there was a reduction in MDA production when compared to controlling plants.

The doses of 5-ALA caused a progressive decrease in the MDA levels in the leaves (Figure 18A) without the presence of cadmium, with a reduction of 25% and 50% in the plants with 50 ALA and 100 ALA, respectively. At the dose of 15 mg L⁻¹ Cd, once again the plants without application of 5-ALA presented higher MDA values in the leaves. At the dose of 30 mg L⁻¹ Cd, there was a progressive increase of 65%, evidence that at this dose (30 Cd) the doses of 5-ALA caused an increase in the MDA levels.

In the roots (Figure 8B), the highest MDA content was in plants with the maximum dose of ALA (100 ALA) and without the presence of cadmium (0 Cd), resulting in a 60% increase in the levels, in relation to plants without application of 5-ALA (0 ALA).

Figure 10. Influence of 5-aminolevulinic acid (0, 50 and 100 mg L⁻¹) on the Malondialdehyde (MDA) content of leaves (a) and roots (b) in palheteira seedlings (*Clitoria fairchildiana* R.A Howard) under cadmium doses (0, 15 and 30 mg L⁻¹). Means followed by the same lowercase letter do not differ by Tukey's test ($p < 0.05$) between cadmium doses at the same 5-ALA concentration. Means followed by the same uppercase letter do not differ by Tukey's test ($p < 0.05$) between 5-ALA concentrations at the same cadmium dose. Mean $\pm$ Standard error.



4. DISCUSSION

4.1. Biometrical variables

4.1.1. Height, diameter stem and number of leaves

The greater heights observed in plants (Figure 4A) without cadmium application and with doses of 5-ALA (50 and 100 mg L⁻¹ 5-ALA) show that 5-ALA plays a vital role in improving plant growth, as well as in carbon and nitrogen fixation processes (Maruyama-Nakashita et al., 2010).

According to the results, the stem diameter and the number of leaves (Figures 4B and 4C) in plants with the presence of cadmium (15 and 30 mg L⁻¹ Cd) decreased in relation to the control plants (0 Cd), which demonstrates the adverse effects of Cd on the roots, so that the plants were not able to absorb nutrients and continue their activity completely normally. According to Aidid and Okamoto (1993), Cd can suppress plant growth by interfering with several metabolic processes, i.e., inhibition of the proton pump, reduction of root elongation and damage to the photosynthetic machinery (Najeeb et al. 2011).

At the same time, plants treated with foliar application of 5-ALA (50 and 100 mg L⁻¹ 5-ALA) showed growth when under Cd stress. The effect may be linked to the fact that 5-ALA has a promoting role in the regulation of a series of metabolic processes, thus improving the growth and yield of most plants under biotic stress (Akram et al., 2012).

4.2. Photosynthetic pigments

The reduction in the levels of photosynthetic pigments (Figure 5), mainly in *Clo b* (Figure 5A), although a minor reduction that does not constitute severe stress, demonstrates that the following may have occurred, albeit to a lesser extent: Cd toxicity directly influencing photosynthetic electron transport and net CO₂ assimilation, resulting in an indirect decrease in chlorophyll content (by indirect inhibition of chlorophyll biosynthesis), or dampening the photosynthetic apparatus at different levels of its organization; the fine structure of the chloroplast and the lipid and protein composition of thylakoid membranes (Burzynski and Kłobus, 2004; Sárvári et al., 2008). The effects induced by Cd in plants depend on the concentration applied, the duration of action and the plant species.

According to Saini et al. (2019), chlorophyll content is one of the variables most susceptible to cadmium contamination and is therefore one of the main markers for monitoring the physiological condition in plants that undergo abiotic stress caused by this metal.

The fact that the levels of Chlorophyll *b* and total chlorophyll were higher in the control plants (0 ALA and 0 Cd) demonstrates that the doses of cadmium did not lead the plant to a severe degree of stress, showing no major differences in their levels. As for the levels of pheophytins (Figure 5D), the exogenous application of 5-ALA did not show a significant effect, evidencing that, according to Schelbert *et al.* (2009) and Szafrńska *et al.* (2017), this occurs when the exogenous application of a plant growth regulator has no effect on the chlorophyll degradation activity with the participation of pheophytin *a*, this is because the release of Mg leads to the formation of pheophytin *a*, one of the compounds present in the pheophytin levels.

5-ALA is a growth promoter and is the main precursor of all porphyrin compounds, directly involved in the synthesis of chlorophyll, mainly chlorophyll *a*, in addition to protecting the chloroplast from the damaging effect of ROS (AKRAM; ASHRAF, 2013; ALI *et al.*, 2018; YANG *et al.*, 2021; SUN *et al.*, 2022), thus explaining the higher levels of pheophytins in plants with 50 ALA (Figure 5C).

4.3. Antioxidant system

4.3.1. (APX, CAT, G-POD, SOD) and lipid peroxidation (MDA)

The increase in antioxidant enzymes, such as APX (Figure 6), for example, is a response given by the plant to deal with oxidative stress and may indicate a possible tolerance (Saleh et al. 2020). Although Cd does not generate ROS directly, the increase in ROS production and the consequent effects of oxidative stress have been widely reported in several plant species, and

this effect has been widely used as an indicator of oxidative damage (Sanità di Toppi and Gabrielli, 1999; Yılmaz and Parlak, 2011). In the present study, the MDA content (Figure 18) in both roots and leaves under Cd stress did not change significantly, showing very similar values. To eliminate ROS, both enzymatic and non-enzymatic antioxidant mechanisms are employed in plants (Wu et al., 2007; Malčovská et al., 2014). The leaves and roots under 15 and 30 mg L⁻¹ Cd presented SOD activities (Figure 7), even with similar levels indicating a better O₂^{•-} elimination capacity, with this stimulus being slightly more apparent in the leaves.

According to Chaoui et al. (1997), MDA formation is used as a general indicator of the extent of lipid peroxidation resulting from oxidative stress, and Cd toxicity was found to increase lipid peroxidation in plant cells, reflected by increased MDA concentration. Cadmium accumulation in *C. fairchildiana* promoted MDA production (Figure 8), albeit mild, through excessive generation of free radicals. This suggests that Cd indirectly leads to the production of superoxide radicals, resulting in increased lipid peroxidation products and oxidative stress in the *C. fairchildiana* plants in this study.

Lipid peroxidation causes disruption of the functional and structural integrity of biological membranes, as well as leakage of K⁺ ions, oxidation of amino acids, and eventually cell death (Tewari et al. 2008).

Increased SOD activity (Figure 9) is associated with protection against oxidative damage (Sharma et al., 2012). Generally, high SOD activity is associated with an accumulation of H₂O₂ (Gill and Tuteja, 2010). However, less oxidative damage was observed in roots, while SOD activity in leaves was higher, which may be partly because leaves have a more strongly activated defense system to remove H₂O₂, and accumulated H₂O₂ is also toxic and is subsequently eliminated by CAT or G-POD (Malčovská et al., 2014).

According to Balestrasse *et al.* (2010) and Pattanayak & Tripathia (2011), high levels of ALA can promote greater production of ROS, thus increasing the metabolism of oxidative stress in plants, since 5-ALA undergoes enolization and subsequent aerobic oxidation catalyzed by the metal at physiologically active pH to produce superoxide (O₂^{•-}), hydrogen peroxide (H₂O₂), and hydroxyl radical (•OH). This behavior was not observed in this study, evidencing that the levels of ALA used may not have been sufficient to cause a considerable increase in ROS production.

5. CONCLUSION

The doses of 50 and 100 mg L⁻¹ of 5-ALA used in exogenous application in *C. fairchildiana* plants showed a positive effect on biometric variables (H and D) and photosynthetic pigments (Clo *b* and Pheophytins), and caused oscillations in the responses of the variables SOD, APX, CAT, G-POD and MDA, varying according to the concentration of the metal and the part of the plant.

In general, despite the statistical difference, severe stress was not evidenced, in which no major differences were observed in the variables analyzed, resulting in a mild condition in which the plant did not need to produce larger quantities of ROS.

However, 5-ALA proved to be a possible attenuator of straw plants under cadmium doses. However, it is important to further analyze in order to elucidate the physiological and antioxidant behavior of the species in relation to contact with cadmium, the application of 5-ALA and the interaction between these factors.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank UFRA (Universidade Federal Rural da Amazônia), the EBPS laboratory and mainly FAPESPA (Fundação Amazônia de Amparo a Estudos e Pesquisas) for enabling us to carry out this work.

REFERENCES

- AIDID, S.B.; OKAMOTO, H. Responses of elongation growth rate, turgor pressure and cell wall extensibility of stem cells of *Impatiens balsamina* to lead, cadmium and zinc. **Biomaterials** 6:245–249, 1993.
- AKRAM, Nudrat Aisha; ASHRAF, Muhammad. Regulation in plant stress tolerance by a potential plant growth regulator, 5-aminolevulinic acid. **Journal of plant growth regulation**, v. 32, p. 663-679, 2013.
- ALI, Imran; ABOUL-ENEIN, Hassan Y. Speciation of arsenic and chromium metal ions by reversed phase high performance liquid chromatography. **Chemosphere**, v. 48, n. 3, p. 275-278, 2002.
- ASHRAF, Sana et al. Phytoremediation: Environmentally sustainable way for reclamation of heavy metal polluted soils. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 174, p. 714-727, 2019.
- BALESTRASSE, K.B.; TOMARO, M.L.; BATLLE, A.; *et al.* The role of 5-aminolevulinic acid in the response to cold stress in soybean plants. **Phytochemistry** 71:2038–2045, 2010.
- BARBOSA, J. C.; JUNIOR, W. M. AgroEstat – Sistema para análises estatísticas de ensaios agronômicos. Jaboticabal, 2014.
- BURZYNSKI, M.; KŁOBUS, G. Changes of photosynthetic parameters in cucumber leaves under Cu, Cd, and Pb stress. *Photosynthetica* 42, 505–510, 2004.
- CHAOUI, A.; MAZHOUDI, S.; GHORBAL, M.H.; FERJANI, E.E.L. Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant Sci** 127:139–147, 1997.
- CLITORIA. In: FLORA do Brasil 2020 em construção. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2018. Disponível em: . Acesso em: 10 ago. 2018.
- DI BACCIO, D *et al.* Early responses to cadmium of two poplar clones that differ in stress tolerance. **Journal of Plant Physiology**, v. 171, n. 18, p. 1693–1705, 15 nov, 2014.
- DUCKE, A. 1949. Notas sobre a flora neotrópica II: As leguminosas da Amazônia brasileira. 2. ed. rev. aum Belém: IAN, 1949. 248 p. (IAN. Boletim técnico, Nº 18).
- EMENIKE, C.; JAYANTHI, B.; AGAMUTHU, P.; FAUZIAH, S. Biotransformation and removal of heavy metals: A review of phytoremediation and microbial remediation assessment on contaminated soil. *Environ. Rev.* **2018**, 26, 156–168. [Google Scholar] [CrossRef] [Green Version].
- GALLEGO, S.M *et al.* Unraveling cadmium toxicity and tolerance in plants: Insight into regulatory mechanisms. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 83, p. 33–46, 2012.
- GIANOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, p. 309-314, 1977.

GILL, S.S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiol Biochem**, 48: 909-930, 2010.

HASAN, M.; UDDIN, M.; ARA-SHARMEEN, I. *et al.* Assisting Phytoremediation of Heavy Metals Using Chemical Amendments. *Plants* 8, 295. 2019. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)].

HAVIR, E.; McHALE, N.A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalases in tobacco leaves. **Plant Physiology**, v. 84, p. 450-455, 1987.

HEATH, Robert L.; PACKER, Lester. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 125, n. 1, p. 189-198, 1968.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**.57: 315-319. 1976.

LI, S.; ZHAO, B.; JIN, M.; *et al.* A comprehensive survey on the horizontal and vertical distribution of heavy metals and microorganisms in soils of a Pb/Zn smelter. **J. Hazard. Mater.** 400, 123255. 2020 [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)].

MALČOVSKÁ, S.M.; DUČAIOVÁ, Z.; MASLAŇÁKOVÁ, I.; BAČKOR, M. Effect of silicon on growth, photosynthesis, oxidative status and phenolic compounds of maize (*Zea mays* L.) grown in cadmium excess. **Water Air Soil Pollut**, 225: 2056, 2014.

MARUYAMA-NAKASHITA, A. *et al.* Exogenous application of 5-aminolevulinic acid increases the transcript levels of sulfur transport and assimilatory genes, sulfate uptake, and cysteine and glutathione contents in *Arabidopsis thaliana*. **Soil Science & Plant Nutrition**, v. 56, n. 2, p. 281-288, 2010.

MARUYAMA-NAKASHITA, A. *et al.* Exogenous application of 5-aminolevulinic acid increases the transcript levels of sulfur transport and assimilatory genes, sulfate uptake, and cysteine and glutathione contents in *Arabidopsis thaliana*. **Soil Science & Plant Nutrition**, v. 56, n. 2, p. 281-288, 2010.

MOSS, G.I. Temperature effects on flower initiation in sweet orange (*Citrus sinensis*). **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 27, n. 3, p. 399-407, 1976.

NAEEM, M.S.; WARUSAWITHARANA, H.; LIU, H.B.; Liu, D.; *et al.* 5-Aminolevulinic acid alleviates the salinity-induced changes in *Brassica napus* as revealed by the ultrastructural study of chloroplast. **Plant. Physiol. Bioch.**, 57, 84–92. 2012. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

NAJEEB, U.; JILANI, G.; ALI, S. *et al.* Insight into cadmium induced physiological and ultra-structural disorders in *Juncus effusus* L. and its remediation through exogenous citric acid. **J Hazard Mater** 186:565–574, 2011.

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

OZTURK, B. *et al.* Formation and stabilization of nanoemulsion-based vitamin E delivery systems using natural biopolymers: Whey protein isolate and gum arabic. **Food Chemistry**, v. 188, p. 256-263, 2015.

OZTURK, M.; TURKAN, I. Heavy metal accumulation by plants growing alongside the motor roads: a case study from Turkey. **Plants as biomonitors: indicators for heavy metals in the terrestrial environment**, p. 515-522, 1993.

PATTANAYAK, G.K.; TRIPATHY, B.C. Overexpression of protochloro phyllide oxidoreductase C regulates oxidative stress in Arabidopsis. **PLoS ONE** 6:e26532, 2011.

RONEN, R.; GALUN, M. Pigment extraction from lichens with dimethyl sulfoxide (DMSO) and estimation of chlorophyll degradation. **Environmental and experimental botany**, v. 24, n. 3, p. 239-245, 1984.

SAINI, S.; DHANIA, G. Cadmium as an environmental pollutant: ecotoxicological effects health hazards, and bioremediation approaches for its detoxification from contaminated sites. **Bioremediation of industrial waste for environmental safety Volume II: biological agents and methods for industrial waste management**, p. 357-387, 2020.

SALEH, S.R. *et al.* Wheat biological responses to stress caused by cadmium, nickel and lead. **Science of The Total Environment**, v. 706, p. 136013, 2020.

SANITÀ DI TOPPI, L.; GABBRIELLI, R. Response to cadmium in higher plants. **Environ Exp Bot**, 41: 105–130, 1999.

SÁRVÁRI, E.; CSEH, E.; BALCZER, T. *et al.* Effect of Cd on the iron re-supply-induced formation of chlorophyll-protein complexes in cucumber. **Acta Biol. Szeged** 52 (1), 183–186, 2008.

SCHELBERT, S.; AUBRY, S.; BURLA, B.; AGNE, B.; KESSLER, F. *et al.* Pheo phytin pheophorbide hydrolase (pheophytinase) is involved in chlorophyll breakdown during leaf senescence in Arabidopsis. **Plant Cell** 21(3):767–785, 2009.

SHARMA, S.S., DIETZ, K.J. The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance. **Trend Plant Sci.** 14 (1), 43–50, 2009.

SIMS, D.A.; GAMON, J.A. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. **Remote sensing of environment**, v. 81, n. 2-3, p. 337-354, 2002.

SINGH, K. P., MALIK, A., MOHAN. *et al.* Evaluation of groundwater quality in Northern Indo-Gangetic alluvium region. **Environmental Monitoring and Assessment**, 112, 211–230, 2006.

SUN, Yuee *et al.* Soil applied silicon and manganese combined with foliar application of 5-aminolevulinic acid mediate photosynthetic recovery in Cd-stressed *Salvia miltiorrhiza* by regulating Cd-transporter genes. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 1011872, 2022.

SZAFRAŃSKA, K.; REITER, R.J.; POSMYK, M.M. Melatonin improves the photosynthetic apparatus in pea leaves stressed by paraquat via chlorophyll breakdown regulation and its accelerated de novo synthesis. **Front Plant Sci** 8:878, 2017.

TEWARI, A.; SINGH, R.; SINGH, N.K.; RAI, U.N. Amelioration of municipal sludge by *Pistia stratiotes* L.: role of antioxidant enzymes in detoxification of metals. **Bioresource Technol** 99:8715–8721, 2008.

VERNON, L.P. Spectrophotometric determination of chlorophylls and pheophytins in plant extracts. **Analytical chemistry**, v. 32, n. 9, p. 1144-1150, 1960.

WU, L.Q.; CHENG, S.P.; YANG, L.H.; WU, Z.B. Stress responses and resistance mechanism of *Canna indica* Linn. to cadmium and copper. **J Agro-Environ Sci**, 26: 1365–1369, 2007.

YILMAZ, D.D.; PARLAK, K.U. Changes in proline accumulation and antioxidative enzyme activities in *Groenlandia densa* under cadmium stress. **Ecol Indic**, 11: 417–423, 2011.

ZANUNCIO, J.C.; PARREIRA, D.S.; MIELKE, *et al.* *Hyperchiria incisa incisa* (Lepidoptera: Saturniidae) on plants of *Clitoria fairchildiana* in Viçosa, Minas Gerais state, Brazil. **Journal of the Lepidopterists' Society**, v. 67, n. 2, p. 131-133, 2013.

3.3. CAPÍTULO III

Título: Avaliação nutricional em plantas jovens de *Clitoria fairchildiana* R.A Howard sob doses de cádmio e aplicação foliar de 5-ALA

Nutritional evaluation in young plants of *Clitoria fairchildiana* R.A Howard under cadmium doses and foliar application of 5-ALA.

Artigo a ser submetido.

Avaliação nutricional (N, P, K, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, Cd) em plantas jovens de *Clitoria fairchildiana* R.A Howard sob doses de cádmio e aplicação foliar de 5-ALA

Nutritional evaluation (N, P, K, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, Cd) in young plants of *Clitoria fairchildiana* R.A Howard under cadmium doses and foliar application of 5-ALA

Vitor Resende do Nascimento

PhD student in Biodiversity and Biotechnology
Institution: Universidade Federal do Pará (UFPA)
Address: Belém – Pará, Brasil
E-mail: vitoresf@gmail.com

Evelyn Luane Pinheiro de Figueiredo

Graduating in Forest Engineering
Institution: Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA)
Address: Belém – Pará, Brasil
E-mail: evelyn.eng.florestal@gmail.com

Anderson de Santana Botelho

PhD student in Chemistry
Institution: Universidade Federal do Pará (UFPA)
Address: Belém – Pará, Brasil
E-mail: andersonbotelho@museu-goeldi.br

Vitoria Luiza dos Passos

Graduating in Forest Engineering
Institution: Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA)
Address: Belém – Pará, Brasil
E-mail: vitoriapassos485@gmail.com

Lilian Tatiana Costa Barros

Graduating in Forest Engineering
Institution: Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA)
Address: Belém – Pará, Brasil
E-mail: tatianalilian28@gmail.com

Raphael Leone da Cruz Ferreira

Master in Agronomy
Institution: Instituto Federal do Amapá (IFAP)
Address: Porto Grande – Amapá, Brasil
E-mail: raphael.ferreira@ifap.edu.br

Glauco André dos Santos Nogueira

Post-PhD student in Forestry Sciences
Institution: Fundação Amazônia de Amparo a Estudos e Pesquisa (FAPESPA)
Address: Belém – Pará, Brasil
E-mail: glauand@yahoo.com.br

Cristine Bastos do Amarante

PhD in Chemistry

Institution: Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG)

Address: Belém – Pará, Brasil.

E-mail: cbamarante@museu-goeldi.br

Cândido Ferreira de Oliveira Neto

PhD in Agricultural Sciences

Institution: Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA)

Address: Belém – Pará, Brasil

E-mail: candidooliveiraneto@gmail.com

RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar os parâmetros de massa seca e nutricionais de mudas de *Clitoria fairchildiana* R.A Howard submetidas à aplicação exógena do ácido 5-aminolevulínico e diferentes concentrações de cádmio (Cd). O experimento foi conduzido em casa de vegetação no período de maio à agosto de 2023. Inicialmente foram produzidas mudas a partir de sementes de palheteira. Após três meses, as mesmas foram transplantadas para vasos de 3kg contendo terra preta previamente corrigida e adubada. Dez dias após o transplantio, as plantas receberam aplicação exógena de 5-ALA, semanalmente durante 5 semanas, totalizando 5 aplicações. Após três dias de aclimação, as concentrações de cádmio foram aplicadas em uma única vez (42º DAT), na forma de Cloreto de Cádmio ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$): 0 (Controle), 15 e 30 mg/L^{-1} . O delineamento experimental foi de blocos inteiramente casualizados (DBC), em esquema fatorial 3x3, assim especificado: três concentrações de Cd (0, 15 e 30 mg L^{-1} de $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$); e três concentrações de 5-ALA (0, 50 e 100 mg L^{-1} 5-ALA), com 9 repetições. As principais variáveis de biomassa apresentaram alterações à aplicação de Cd (diminuição de biomassa) e maior eficiência de 5-ALA na dose de 50 mg L^{-1} . Observou-se acúmulo do metal nas raízes e IT classificado como alto.

Palavras chave: elementos traço, nutrição, biomassa, tolerância

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the dry mass and nutritional parameters of *Clitoria fairchildiana* R.A Howard seedlings subjected to exogenous application of 5-aminolevulinic acid and different concentrations of cadmium (Cd). The experiment was conducted in a greenhouse from May to August 2023. Initially, seedlings were produced from straw seeds. After three months, they were transplanted into 3 kg pots containing previously corrected and fertilized black soil. Ten days after transplanting, the plants received exogenous application of 5-ALA, weekly for 5 weeks, totaling 5 applications. After three days of acclimatization, cadmium concentrations were applied in a single time (42nd DAT), in the form of Cadmium Chloride ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$): 0 (Control), 15 and 30 mg/L^{-1} . The experimental design was completely randomized blocks (CRB), in a 3x3 factorial scheme, specified as follows: three concentrations of Cd (0, 15 and 30 mg L^{-1} of $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$); and three concentrations of 5-ALA (0, 50 and 100 mg L^{-1} 5-ALA), with 9 replicates. The main biomass variables showed changes with the application of Cd (decrease in biomass) and greater efficiency of 5-ALA at a dose of 50 mg L^{-1} . Accumulation of the metal was observed in the roots and TI was classified as high.

Keywords: trace elements, nutrition, biomass, tolerance

1 INTRODUÇÃO

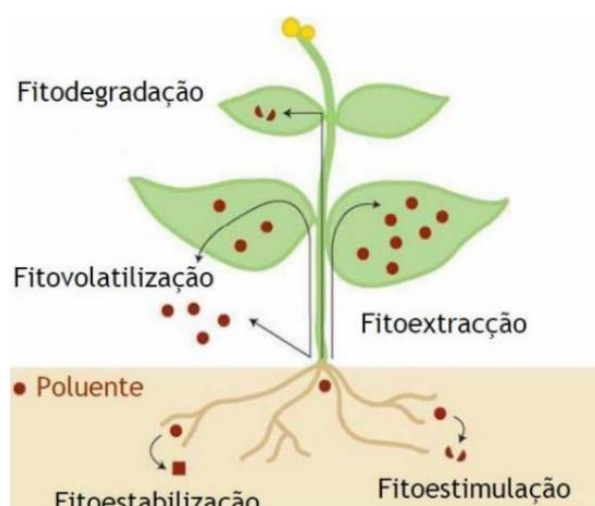
A espécie *Clitoria fairchildiana* R.A. Howard, mais conhecida como palheteira ou sombreiro, é uma espécie arbórea pertencente à família Fabaceae, sendo nativa da região amazônica (Lorenzi, 2002). Se destaca não somente na arborização urbana por ter crescimento rápido, mas também pela rusticidade e capacidade de fixação de nitrogênio, características relevantes para programas de restauração de áreas degradadas (Silva et al., 2017).

Na natureza, as plantas são constantemente ameaçadas por estresses bióticos e abióticos, incluindo estresse causado por metais pesados. Metais como Fe, Mn, Cu e Cd acumulam-se ao longo de um considerável período de tempo nos solos por meio de atividades humanas, como resíduos industriais, aplicações de fertilizantes e disposição de esgoto (Aydinalp e Marinova, 2009), fazendo com que os metais lixiviem para as águas subterrâneas ou se acumulem na superfície do solo. Ao serem acumulados no solo, esses metais (Al, Cu, Cr, Cd e outros) podem ser absorvidos pelas raízes das plantas (Clemens et al. 2013). Especificamente no interior do tecido vegetal, o Cd atua de forma disruptiva no metabolismo, competindo com nutrientes essenciais, o que gera estresse oxidativo por meio do aumento das espécies reativas de oxigênio (EROs) e o sistema vegetal entra em desequilíbrio, comprometendo a homeostase da célula (Schutzendubel & Polle, 2002).

As plantas são bioacumuladores naturais, o que significa que extraem e concentram vários metais pesados do solo e da água que podem ou não ser necessários para seu crescimento adequado (Ozturk e Turkan 1993; Aksoy e Ozturk 1996, 1997; Aksoy et al. 2000; Ali e Aboul-Enein 2002). A taxa na qual as plantas acumulam e toleram metais pesados varia de espécie para espécie, com algumas se tornando tóxicas em uma taxa mais rápida. As plantas que enfrentam a toxicidade de metais pesados exibem sintomas visíveis, como crescimento atrofiado, clorose, escurecimento das raízes, declínio e morte (Ozturk et al. 2008, 2015b).

Assim, a Fitorremediação é o uso de plantas para remoção, degradação ou contenção *in situ* ou no local de contaminantes em solos, lodos, sedimentos, águas superficiais e subterrâneas (Devi et al., 2016). A técnica de fitorremediação é um método limpo, eficiente, barato e ambientalmente não disruptivo. É menos custoso, não invasivo e é uma forma publicamente aceitável de corrigir a remoção de contaminantes ambientais (Schwitzguebel et al., 2009). Esta técnica é potencialmente aplicável a uma variedade de contaminantes e abrange uma série de métodos diferentes que podem levar à remoção de contaminantes por meio de acumulação (fitoextração) ou fitovolatilização, fitodegradação ou imobilização (fitoestabilização) (Devi et al., 2016).

Figura 1. Mecanismos de estabilização ou mobilização de contaminantes na fitorremediação.



Fonte: Pilon-Smits (2005).

Atualmente muitas estratégias com o objetivo de mitigar os efeitos fitotóxicos dos metais pesados são discutidas. Dentre os compostos atenuadores que podem ser aplicados nos vegetais, como auxina, giberelina, ácido abscísico (ABA) e outros, o ácido 5-aminolevulínico (5-ALA) vem ganhando destaque (Ali et al., 2018). O 5-ALA é um precursor da biossíntese de clorofilas e heme clorofilas, compostos importantes para o desenvolvimento respiratório e fotossintético das plantas (Hotta et al., 1997). Estudos mais recentes mostram que o 5-ALA não apenas melhora a eficiência do aparato fotossintético, mas como também possui papel relevante na regulação de respostas hormonais ao estresse, assim como atua na ativação de mecanismos antioxidantes, contribuindo assim para a tolerância de plantas em ambientes que estejam contaminados por metais pesados (Fang et al., 2014).

Em espécies arbóreas como a *Clitoria fairchildiana*, a combinação de estratégias de manejo nutricional com a aplicação de atenuadores como o 5-ALA, podem melhorar significativamente a resiliência de plantas que estão em ambientes contaminados. Assim, a investigação dos efeitos integrados do cádmio e do 5-ALA, pode fornecer informações importante para a sustentabilidade de ecossistemas e para o manejo florestal.

Assim, o presente estudo teve como objetivo determinar a concentração dos macronutrientes nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), e os micronutrientes como cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e do Cd em plantas jovens de *Clitoria fairchildiana* R.A. Howard submetidas à aplicação foliar de 5-ALA e crescentes doses de Cd.

2 MATERIAL E MÉTODOS

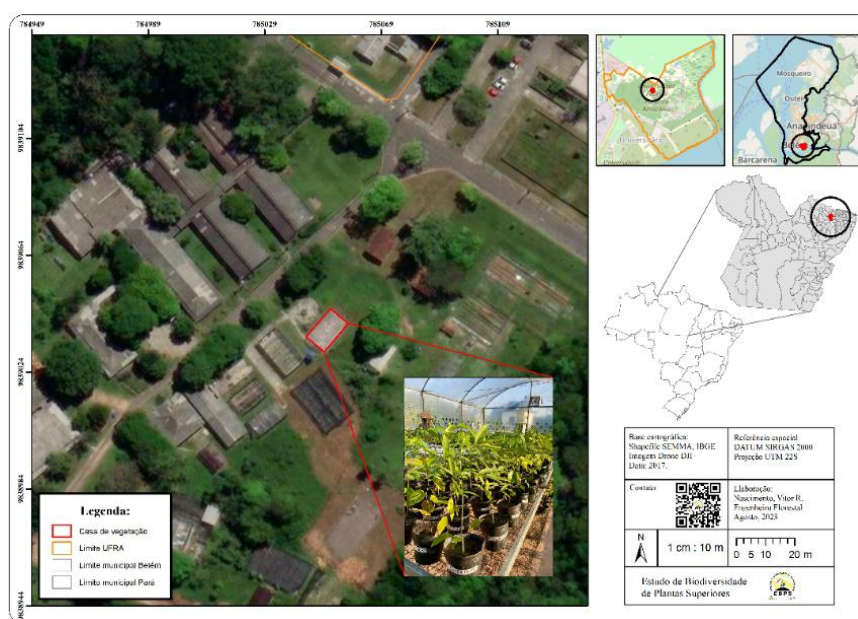
2.1. Material vegetal

As sementes de *Clitoria fairchildiana* R.A. Howard foram coletadas dentro da área da Universidade Federal Rural da Amazônia (Belém-PA) entre janeiro e fevereiro de 2023, e após a coleta foram semeadas em bandejas de plástico contendo vermiculita expandida fina para auxiliar na disponibilidade de água para a planta.

2.2. Condições de cultivo

O experimento foi conduzido em casa de vegetação pertencente à UFRA (Universidade Federal Rural da Amazônia) em Belém, estado do Pará, Brasil (01° 27' 31" S, 48° 26' 04.5") no período de Maio à Agosto de 2023. A classificação do clima, segundo Köppen e Geiger, é Af com temperatura média de 26,8 °C e umidade relativa do ar de 95%.

Figura 2. Localização da casa de vegetação onde ocorreu o experimento, no Instituto de Ciências Agrárias (ICA), na UFRA - Belém.



Fonte: O Autor (2024).

As mudas de palheteira com aproximadamente 3 meses de vida, foram transplantadas de bandeja com vermiculita para vasos de polietileno com capacidade de 3kg, contendo como substrato o solo coletado em área de mata nativa (dentro das dependências da UFRA – Belém) na camada de 0 a 20 cm de profundidade.

2.3. Solo

O solo coletado passou pelo processo de secagem ao ar, seguido de destorroamento e peneiração em malhas de 2 mm. Uma amostra composta do solo de aproximadamente 200 g foi coletada e encaminhada para o laboratório de análises IBRA Megalab, em Sumaré – SP, para a

sua caracterização química (Tabela 1) e análise granulométrica (Tabela 2), conforme preconizado por Brasil *et al.* (2020) e Claessen (1997), respectivamente.

Tabela 1. Análise química do solo da camada de 0-20 cm de profundidade.

Prof.	pH	MO	P	+	Ca+Mg	a ²⁺	Al	H+Al	B	CTC (pH7)	*	**
-	CaCl ₂	g/Kg	mg/dm ³	mmol _c /dm ³							%	
0-20	3,5	29	6	0,6	6	4	8	133	7	140	5	2

pH = potencial hidrogeniônico; MO = matéria orgânica; P = fósforo; K = potássio; Ca = cálcio; Mg = magnésio; Al = alumínio; H = hidrogênio; CTC = capacidade de troca catiônica; SB = soma de bases; *saturação por bases, **Saturação por alumínio.

Tabela 2. Análise granulométrica do solo da camada de 0-20 cm de profundidade.

Camada	argila	areia	silte	Classificação textural
cm	g kg ⁻¹			SBCS*
0-20	212	693	95	Franco-argiloarenosa

*Sistema Brasileiro de Classificação de Solos.

Com a obtenção dos resultados da análise química do solo (Tabela 1), a acidez do solo foi então corrigida, utilizando o método de saturação por bases (V%) através do uso de 9,78 g de calcário dolomítico por vaso (Ca 22,80%; Mg 18,10%; PRNT 97,4%), a fim de se obter 50% de saturação por bases.

Após o período de 30 dias para a fixação do calcário no solo, o substrato passou por adubação de macronutrientes (N, P e K) e micronutrientes (Cu e Mn) calculada a partir do resultado apresentado na análise química do substrato (Tabela 1) e de acordo com a recomendação proposta no manual de adubação (Bittencourt, 2020).

Assim, aplicou-se por vaso: 100,4 mg de N (Ureia), 175,77 mg de P (Superfosfato Simples), 155,86 mg de K (KCl), 11,2 mg de Cu (Sulfato de Cobre) e 61,5 mg de Mn (Sulfato de Manganês). A adubação na forma de sulfato de cobre e sulfato de manganês ocorreu, pois, a análise química do solo (Tabela 1) indicou baixos níveis de Cu e Mn no solo.

Após estas etapas, houve o transplântio das mudas para os vasos (0 Dias Após o Transplântio, DAT), onde foram regadas diariamente dentro da capacidade de campo ao longo de todo o experimento.

2.4. Aplicação do ácido 5-aminolevulínico (5-ALA)

10 dias após o transplântio (10° DAT), as plantas receberam aplicação de ácido 5-aminolevulínico (Figura 9) na forma de Cloridrato de ácido 5-aminolevulínico, preparado com água deionizada e TWEEN 20 (Tensoativo Hidrofílico Polisorbato) para melhor fixação e aderência do 5-ALA nas folhas. A solução foi aplicada via foliar (spray) com o auxílio de borrifadores, obedecendo as concentrações de 0 (Controle), 50 e 100 mg/L⁻¹, borrifando em todas as folhas de cada planta. As aplicações ocorreram semanalmente, durante 5 semanas, totalizando 5 aplicações (para absorção exógena/foliar de forma adequada), realizadas sempre por volta das 17h.

2.5. Exposição das plantas às dosagens de Cádmio

Após as 5 semanas de aplicação do ácido 5-aminolevulínico, seguidas de três dias de aclimação, as dosagens de cádmio foram aplicadas em uma única vez (42° DAT), através de 3 doses de Cloreto de Cádmio (CdCl₂.H₂O): 0 (Controle), 15 e 30 mg L⁻¹. Cerca de 300 mL (capacidade de campo) de CdCl₂.H₂O foram aplicados em cada vaso. Após a aplicação das dosagens, as mudas foram regadas todos os dias dentro da capacidade de campo.

2.6. Coleta e armazenamento do material

Após 4 semanas (28 dias) da aplicação das dosagens de CdCl₂.H₂O (70° DAT), o experimento foi retirado devido ao tamanho das plantas, pois muitas já apresentavam quase 80cm de altura. O material foi coletado e separado em folha, caule e raízes, armazenados em sacos plásticos identificados e levados ao freezer para posteriores análises de laboratório.

Posteriormente, parte das folhas e raízes foi liofilizada com liofilizador (modelo LS 3000, marca Terroni) para ser utilizada nas análises de enzimas do sistema antioxidante, e uma outra parte do material foi armazenada em freezer para ser utilizado nas análises de pigmentos fotossintéticos e de conteúdo de Malondialdeído (MDA). O restante do material de folhas e raízes foi levado à estufa de circulação forçada a 65° por 48h, e após isso foi moído, obtendo assim um pó fino para ser utilizado nas análises nutricionais.

2.7. Variáveis nutricionais

A análise da concentração de Nitrogênio (N) foi realizada no laboratório de Física do Solo do campus de pesquisa do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG, Belém – PA), de acordo com metodologia preconizada por Tedesco *et al.* (1995).

As análises dos demais Macronutrientes (P, K, Ca, Mg), Micronutrientes (Fe, Mn, Cu) e Cd foram realizadas no Laboratório de Análises Químicas e no Laboratório de Absorção Atômica do campus de pesquisa do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG, Belém – PA), de

acordo com metodologia preconizada pelo Manual de Análises Químicas de Solos, Plantas e Fertilizantes (EMBRAPA, 2009).

2.7.1. Digestão das amostras e análise para quantificação do teor de Nitrogênio (N)

Com a obtenção do material seco e moído, foram pesados 200 mg de cada amostra e colocados em tubos digestores. Adicionou-se aos tubos 1mL de H₂O₂ 30%, 2 mL de H₂SO₄ concentrado e 700 mg da mistura de digestão (Na₂SO₄, CuSO₄.5H₂O e Selênio). Os tubos foram levados para o bloco digestor inicialmente à 160-180°C (até evaporar a água), posteriormente a temperatura foi aumentada para 350-375°C, sendo mantidos nesta temperatura após o clareamento (cor amarelo-esverdeada) por uma hora. Retirou-se os frascos do bloco digestor e após resfriamento o volume foi completado com H₂O destilada até 50mL, sendo o conteúdo dos tubos digestores transferido para tubos de Falcon de 50mL, obtendo assim o extrato em que se retiraram as alíquotas para as determinações.

10 mL do extrato de digestão foram pipetados para balão de destilação de 100 mL, adicionando-se 5mL de NaOH 10M, iniciando-se assim a destilação com destilador de arraste de vapor (micro-Kjeldahl). Destilou-se até coletar aproximadamente 35-40mL, seguindo-se titulação com H₂SO₄ 0,025M. Cada mL de H₂SO₄ 0,025M utilizado na titulação corresponde a 700µg de N.

Foram feitos os cálculos a partir da fórmula: %N= (mLH⁺am – mL H⁺br) x 700 x 5 x 5/ 10.000.

2.7.2. Digestão das amostras e análise para quantificação dos teores de Fósforo (P), Potássio (K), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg), Ferro (Fe), Manganês (Mn), Cobre (Cu) e Cádmio (Cd).

A digestão das amostras foi realizada na forma de Digestão úmida em forno de micro-ondas, em que se transferiu 500 mg de amostra (material seco e moído) para vaso de Teflon de 100 ml, adicionando 5 ml de HNO₃ 65%. Após, os tubos foram fechados e introduzidos em forno micro-ondas modelo ETHOS™ EASY da marca Milestone para a digestão ácida das amostras. Retirou-se os frascos do forno micro-ondas e após resfriamento o volume foi completado com H₂O destilada até 50mL, sendo o conteúdo dos tubos digestores transferido para tubos de Falcon de 50mL, obtendo assim o extrato em que se retiraram as alíquotas para as determinações.

2.7.2.1. *Fósforo (P)*

Para a quantificação do teor de P nas amostras, utilizou-se o método da Espectrofotometria – amarelo de vanadato, em que se pipetou 5 ml do extrato de digestão para tubos de ensaio comuns, completando o volume para 20 ml com H₂O (alíquota *b*). Pipetou-se 10 ml da alíquota *b* em novos tubos, adicionando 4 ml da mistura de reagentes A (solução de molibdato 5% + solução de vanadato 0,25%). Após 5 minutos, efetuou-se a leitura das amostras no espectrofotômetro UV-Visível (marca Thermo scientific, modelo Genesys 50) a 420 nm.

$$\text{Cálculo: } P \text{ g kg}^{-1} = \text{mg L}^{-1} \times 0,2$$

2.7.2.2. *Potássio (K)*

Para a quantificação do teor de K nas amostras, utilizou-se o método da Espectrometria de absorção atômica (EAA) com chama de ar-acetileno, em que se pipetou 2 ml do extrato de digestão para tubos de ensaio, completando o volume para 20 ml com H₂O (alíquota *b*). Ajustou-se o fotômetro de chama com a solução padrão de K e se efetuou a leitura da alíquota *b* (amostra).

$$\text{Cálculo: } K \text{ g kg}^{-1} = \text{mg L}^{-1} \times 0,5$$

2.7.2.3. *Cálcio (Ca) e Magnésio (Mg)*

Para a quantificação do teor de Ca e Mg nas amostras, utilizou-se o método da Espectrofotometria de absorção atômica (EAA) com chama ar-acetileno, em que se pipetou 1 ml do extrato de digestão para tubos de ensaio comuns, completando o volume para 20 ml com H₂O (alíquota *b*). Pipetou-se 1 ml da alíquota *b* em novos tubos, adicionando 4 ml da solução de La 1%. Após isto, para a quantificação de Ca e Mg, ocorreu a leitura das amostras em espectrômetro de absorção atômica de chama da marca Thermo scientific, modelo iCE 3500.

$$\text{Cálculo para Ca e Mg: } \text{mg kg}^{-1} = \text{mg L}^{-1} \times 5$$

2.7.2.4. *Micronutrientes (Cu, Mn, Fe) e Cádmio (Cd)*

Após o ajuste do espectrômetro de absorção atômica (EAA) com chama de ar-acetileno, conforme manual do equipamento, efetuou-se a leitura da solução padrão (de acordo com o elemento a ser analisado) e do extrato de digestão das amostras no EAA de chama (Ice 3500).

$$\text{Cálculo (para Cu, Mn, Fe e Cd): } \text{mg kg}^{-1} = \text{mg L}^{-1} \times 50$$

2.7.2.4.1. Índice de Tolerância ao cádmio

O índice de tolerância (IT) foi determinado para avaliar a capacidade da planta de se desenvolver na presença de Cd. O IT das plantas ao cádmio, de acordo com Zayed *et al.* (1998), foi calculado pela razão entre a biomassa total das plantas expostas às concentrações de Cd, e a biomassa total das plantas controle (sem cádmio), de acordo com a equação:

$$IT = \frac{MS \text{ vaso com Cd}}{MS \text{ vaso sem Cd}} \times 100$$

em que MS é massa seca, e os valores de IT podem variar de 0 (sensibilidade máxima) à 1 (tolerância máxima).

2.8. Delineamento experimental e análise estatística

Foi utilizado o delineamento experimental em blocos casualizados (DBC), em esquema fatorial 3x3: três concentrações de Cd (0, 15 e 30 mg L⁻¹); e três concentrações de 5-ALA (0, 50 e 100 mg L⁻¹), com 4 repetições, totalizando 36 unidades experimentais (uma planta/vaso).

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F, e quando significativos, aplicou-se o teste de Tukey para comparação das médias dos tratamentos a nível de 5% de probabilidade. Os dados coletados foram analisados no programa estatístico AgroEstat (Barbosa e Júnior, 2014), e os gráficos foram gerados no software Microsoft Office Excel versão Mondo 2016.

Para criar as matrizes de correlação, os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($p \leq 0,05$). Foi utilizado o software AgroEstat (Barbosa e Júnior, 2014).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas raízes (Tabela 3) e folhas (Tabela 4), as variáveis apresentaram interação significativa ($p < 0,05$) entre os fatores doses de cádmio (Cd) e doses de ácido 5-aminolevulínico (ALA), com exceção das variáveis Mg Folhas e P Raízes, que apresentaram significância ($p < 0,05$) apenas nos fatores isolados e no Cd, respectivamente.

Tabela 3. Análise de variância para Nitrogênio (N), Fósforo (P), Potássio (K), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg), Ferro (Fe), Manganês (Mn), Cobre (Cu) nas folhas das mudas de palheteira (*Clitoria fairchildiana* R.A. Howard) em função de diferentes concentrações de cádmio (Cd) e 5-aminolevulínico (5-ALA).

Fonte de variação	GL	Quadrado médio							
		N Folha	P Folha	K Folha	Ca Folha	Mg Folha	Fe Folha	Mn Folha	Cu Folha
Cádmio (Cd)	2	7,74**	0,79*	12,69 ^{ns}	9,6 ^{ns}	1,64*	2207**	690 ^{ns}	30**
Ácido 5- Aminolevulínico (ALA)	2	0,94 ^{ns}	7,76**	73,40 ^{ns}	88**	2,11**	3640**	2340 ^{ns}	124**
Cd x ALA	4	16,57**	2,82**	198**	27,87*	0,72 ^{ns}	2003**	7040**	47**
CV (%)	-	25	13	28	13	14	20	24	8

Tabela 4. Análise de variância para Nitrogênio (N), Fósforo (P), Potássio (K), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg), Ferro (Fe), Manganês (Mn), Cobre (Cu) e Cádmio (Cd) nas raízes das mudas de palheteira (*Clitoria fairchildiana* R.A. Howard) em função de diferentes concentrações de cádmio (Cd) e 5-aminolevulínico (5-ALA).

Fonte de variação	GL	Quadrado médio								
		N Raiz	P Raiz	K Raiz	Ca Raiz	Mg Raiz	Fe Raiz	Mn Raiz	Cu Raiz	Cd Raiz
Cádmio (Cd)	2	2,13*	0,59*	9,86 ^{ns}	0,34*	1,59*	8,33**	181**	100**	9303**
Ácido 5- Aminolevulínico (ALA)	2	7,68**	0,28 ^{ns}	105**	0,35*	12,3**	1,88 ^{ns}	42 ^{ns}	89**	482**
Cd x ALA	4	33,33**	0,42 ^{ns}	66**	0,48*	6,0**	13,32**	365**	332**	368**
CV (%)	-	23	19	19	15	14	20	11	13	14

3.1. Concentração de Cd e Índice de Tolerância ao Cd

A concentração de cádmio nas raízes subiu progressivamente, com aproximadamente 67% de aumento entre as plantas com doses de 15 e de 30 mg L⁻¹, o que mostra que o sistema radicular foi o órgão que neste experimento promoveu o maior acúmulo de Cd, com valor máximo de 49,90 mg/kg na dose de 30 mg L⁻¹. A concentração de Cd não foi significativa nas folhas e no caule, pois não foi detectado pelo limite de detecção do EAA.

O Índice de Tolerância ao Cd apresentou uma média de 86% nas plantas submetidas as doses de Cd (15 e 30 mg L⁻¹), com valor máximo de 138% nas plantas sem aplicação de 5-ALA e com 30 mg L⁻¹ de Cd. De modo geral, o IT pôde ser classificado como alto, por estar na faixa entre 75 e 100% de tolerância.

De acordo com Mehes-Smith *et al.* (2013), a retenção de cádmio nas raízes ocorre, pois como observado (Figura 3A), o metal se liga a grupos funcionais como tiol, presentes na parede celular, além de se ligar a outros compostos. A quantidade de cádmio acumulada nas raízes de *Clitoria fairchildiana*, e o fato de ter detectado presença de cádmio apenas neste órgão, indica a habilidade em absorver o cádmio da solução do solo e reter principalmente nas raízes, o que sugere a quelação do metal nos compartimentos celular e subcelular do sistema radicular. Isso pode ter contribuído para um transporte restrito de Cd da raiz para a parte aérea das plantas, sendo uma estratégia para proteger o aparato fotossintético, assim como a alta capacidade de tolerância da planta ao Cd (Dai et al. 2013), e no caso deste trabalho, não houve este transporte.

A concentração do teor de Cd nas raízes de *Clitoria fairchildiana* corrobora com o Índice de tolerância (IT) obtido (Figura 3B), pois plantas tolerantes são frequentemente excludentes, limitando a entrada e translocação de metais pesados da raiz para a parte aérea (Gallego et al. 2012).

De acordo com esquema proposto por Lux *et al.* (2004), em relação ao índice de tolerância, as plantas podem apresentar tolerância alta (IT > 60), tolerância média (IT entre 0,35 e 60) e tolerância baixa (IT < 0,35). Os resultados obtidos neste trabalho em relação ao IT (Figura 3B) indica que a *C. fairchildiana* apresenta alta tolerância ao Cd.

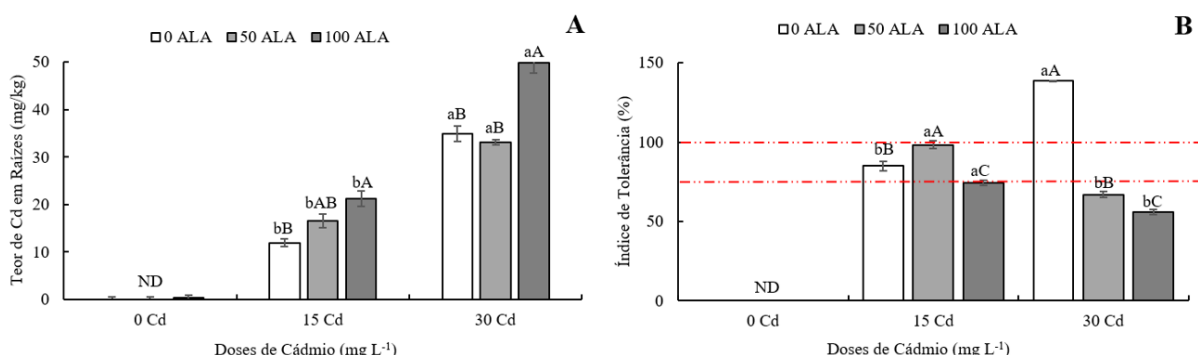


Figura 3. Influência do ácido 5-aminolevulínico (0, 50 e 100 mg L⁻¹) no conteúdo de Cádmio nas raízes (A) e no índice de tolerância ao cádmio (B) em mudas de palheteira (*Clitoria fairchildiana* R.A Howard) sob doses de cádmio (0, 15 e 30 mg L⁻¹). Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) entre as doses de cádmio na mesma concentração de 5- ALA. Médias seguidas da mesma letra maiúscula não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) entre as concentrações de 5- ALA na mesma dose de Cádmio. Média $\pm$ Erro padrão.

3.2. Efeito do cádmio e 5-ALA nos parâmetros de massa seca

A massa seca do caule (Figura 4A) mostra pesos próximos entre as dosagens de Cd e de 5-ALA, porém, é possível observar que as plantas sem Cd (0 Cd) apresentaram MSC média de 8,26 g, enquanto as plantas com Cd (15 e 30) apresentam menos, sendo 7,16 e 6,6 g respectivamente.

A massa seca da raiz (Figura 4B) e a massa seca total (Figura 4C) demonstram maior valor nas plantas com 15 mg L⁻¹ Cd e 50 mg L⁻¹ de 5-ALA, com 26 g e 34 g respectivamente, enquanto as plantas sem 5-ALA apresentam diminuição na massa seca tanto na raiz quanto total à medida que aumenta as doses de Cd, com decréscimo de quase 50% na MSR e quase 70% na MST.

A relação parte aérea/Raiz (Figura 4D) apresenta maiores valores nas plantas sem 5-ALA, de 3 g (plantas 0 ALA/15 Cd), 1,9 g (plantas 0 ALA/30 Cd) e 1,3 g (plantas 0 ALA/0 Cd).

A biomassa é o principal indicador de acumulação de energia nas plantas (Zang et al., 2014). Sendo assim, a sobrevivência da planta em condições de estresse por Cd é dependente de um balanço na distribuição de fotoassimilados entre as suas várias partes. A menor razão raiz parte aérea em *C. fairchildiana* sob o efeito do Cd (Figura 4D) indica que o crescimento do sistema de raiz foi mais reduzido do que a parte aérea. Isso pode ser explicado pelo maior acúmulo de Cd na raiz de *C. fairchildiana*, corroborando com o observado por Andrade Júnior et al., (2019). Isto pode ter contribuído para a menor absorção e transporte de macro e micronutrientes (Figuras 5, 6 e 7). Por outro lado, a menor razão da biomassa raiz parte aérea pode ser uma estratégia de tolerância ao metal, reservando menos energia às raízes para reduzir a absorção de Cd e o maior investimento de energia nas folhas para a manutenção das funções vitais. Resultados similares foram evidenciados em outras espécies arbóreas submetidas ao Cd (Abdul Qados, 2015; Silva et al., 2017; Nikolić et al., 2017).

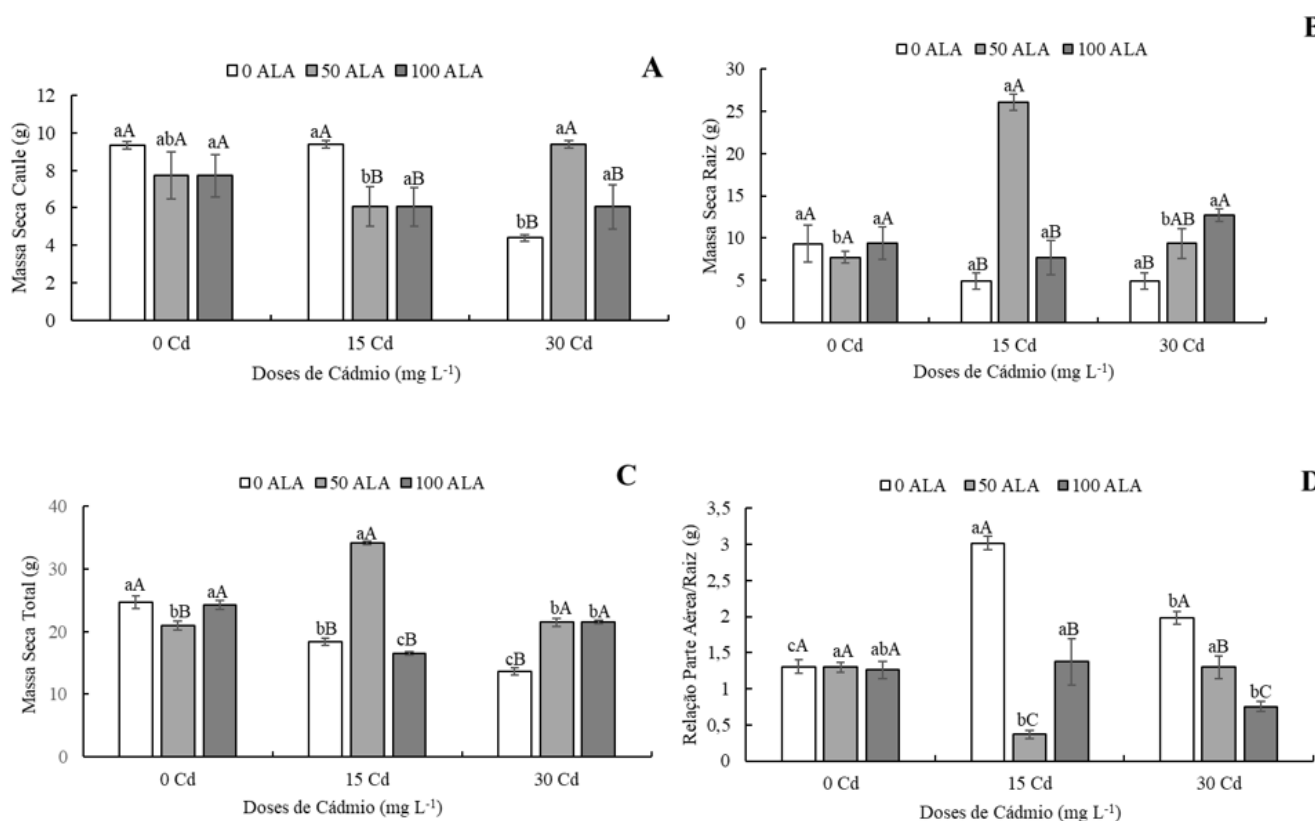


Figura 4. Influência do ácido 5-aminolevulínico (0, 50 e 100 mg L⁻¹) na massa seca do caule (A), massa seca da raiz (B), massa seca total (C) e relação parte aérea/raiz (D) em mudas de palheteira (*Clitoria fairchildiana* R.A Howard) sob doses de cádmio (0, 15 e 30 mg L⁻¹). Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) entre as doses de cádmio na mesma concentração de 5- ALA. Médias seguidas da mesma letra maiúscula não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) entre as concentrações de 5- ALA na mesma dose de Cádmio. Média $\pm$ Erro padrão.

3.3. Nitrogênio (N), Fósforo (P) e Potássio (K)

As concentrações de N e P apresentaram-se ligeiramente maiores nas folhas (3% e 2,5 g/kg, respectivamente) do que nos raízes (2% e 2 g/kg). Já a concentração de K mostrou-se maior nas folhas, com média de 12,3 g/kg, e maior concentração de K nas plantas sem aplicação de 5-ALA. Enquanto nas raízes apresentou média de 10 g/kg, com maior concentração de K nas plantas com 50 mg L⁻¹ de 5-ALA.

De modo geral, a pouca variação nas concentrações de N, P e K demonstra a baixa influência que as doses de Cd tiveram nestes elementos, evidenciando que eles não foram afetados pelas doses aplicadas, evidenciando a dose de 50 mg L⁻¹ de 5-ALA como a mais eficiente.

Pesquisas revelam que o Cd afeta negativamente o metabolismo do nitrogênio, devido ativação ou inativação de proteínas e enzimas envolvidas na absorção, transporte e assimilação do N, resultando em reduções deste nutriente nos tecidos da planta (Nikolié et al., 2017; Liu et al., 2015). Sendo assim, sugere-se que a redução do N (Figuras 5A e 5B) em *C. fairchildiana*

submetidas as doses de Cd pode ter causado alterações no metabolismo do nitrogênio, com efeito negativo no crescimento e na produção da biomassa vegetal (Figura 4).

A redução do K (Figura 5F) mesmo que com pouca diferença pode ter causado alterações no potencial osmótico e interferido no potencial hídrico, na translocação de íons minerais e aminoácidos ou inativando enzimas envolvidas na fotossíntese resultando em reduções nos parâmetros de crescimento vegetativo Kapoor et al. (2013).

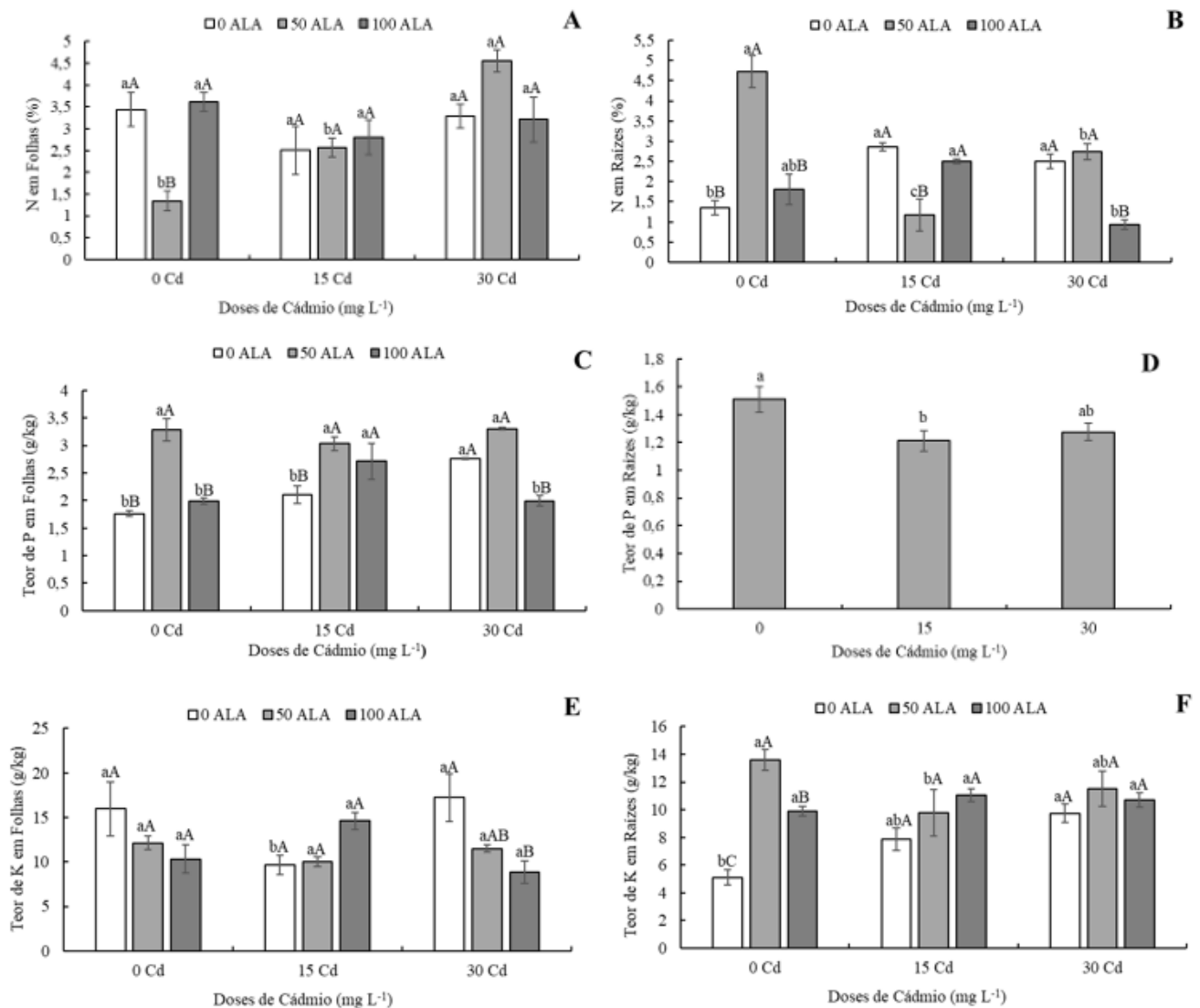


Figura 5. Influência do ácido 5-aminolevulínico (0, 50 e 100 mg L⁻¹) no conteúdo de Nitrogênio em folhas (A) e raízes (B), Fósforo em folhas (C) e raízes (D), Potássio em folhas (E) e raízes (F) em mudas de palheteira (*Clitoria fairchildiana* R.A Howard) sob doses de cádmio (0, 15 e 30 mg L⁻¹). Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) entre as doses de cádmio na mesma concentração de 5- ALA. Médias seguidas da mesma letra maiúscula não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) entre as concentrações de 5- ALA na mesma dose de Cádmio. Média $\pm$ Erro padrão.

3.4. Cálcio (Ca) e Magnésio (Mg)

O Ca apresentou teores significativamente maiores nas folhas do que nas raízes, com médias de 10,5 g/kg e 1,2 g/kg respectivamente. Dentro do observado nas folhas (Figura 6A), as maiores concentrações foram observadas nas plantas sem aplicação de 5-ALA.

Para Wang (1987), uma diminuição da concentração de Ca nas raízes sob a toxicidade do Cd pode ser um sintoma de um sistema de defesa intercelular interferindo nesse mecanismo. Isso indica que o Cd, mesmo nas menores doses, influenciou a absorção do cálcio positivamente, como observado nas folhas (Figura 6A). Um aumento da concentração de Ca sob estresse seria um possível mecanismo para a redução dos efeitos tóxicos de Cd.

O Mg não se mostrou significativo na interação entre Cd e 5-ALA nas folhas, mas apresentou significância nos fatores isolados (Figuras 6C e 6D). Nas raízes (Figura 5E), o teor de Mg se mostrou maior nas plantas com aplicação de 100 mg L⁻¹ de 5-ALA, com média de 3,64 g/kg.

Segundo Souza et al. (2013), como uma estratégia para manter o metabolismo ativo afim de aumentar o crescimento resultando em um efeito de diluição na quantidade de Cd acumulada pela planta, os teores de Mg costumam aumentar conforme a exposição das plantas ao Cd. Fato este não observado neste estudo, evidenciando a pouca influência das doses de Cd nas concentrações de Mg nas raízes das plantas. Os teores de Mg encontrados podem estar relacionados à sua função na composição da clorofila, ou seja, às porfirinas magnesianas (Faquin, 2005).

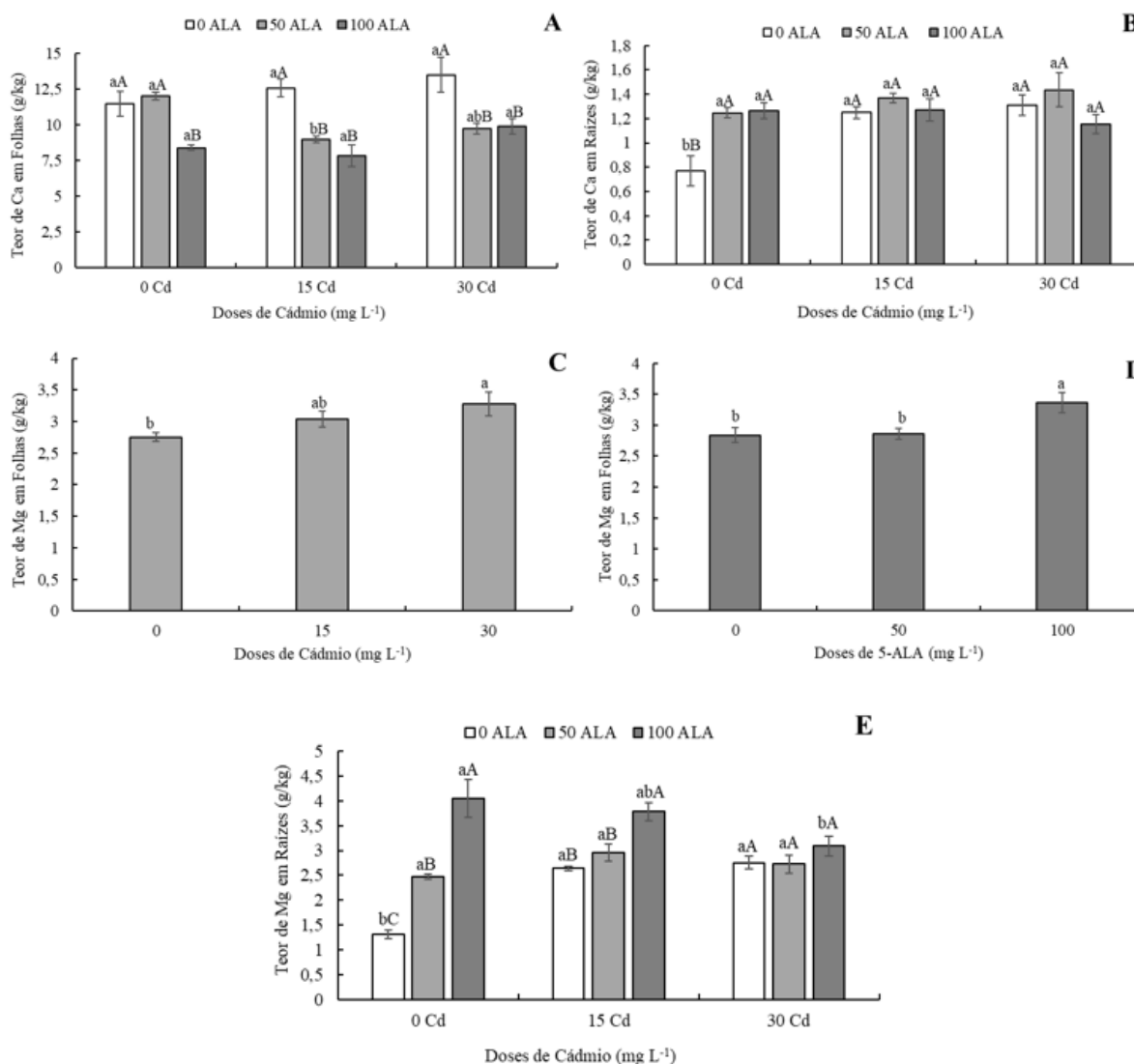


Figura 6. Influência do ácido 5-aminolevulínico (0, 50 e 100 mg L⁻¹) no conteúdo de Cálcio em folhas (A) e raízes (B), Magnésio em folhas (C e D) e raízes (E) em mudas de palheteira (*Clitoria fairchildiana* R.A Howard) sob doses de cádmio (0, 15 e 30 mg L⁻¹). Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) entre as doses de cádmio na mesma concentração de 5-ALA. Médias seguidas da mesma letra maiúscula não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) entre as concentrações de 5-ALA na mesma dose de Cádmio. Média $\pm$ Erro padrão.

3.5. Cobre (Cu), Ferro (Fe) e Manganês (Mn)

O Cu nas folhas (Figura 7A) apresentou teores menos expressivos, chegando a 12,2 mg/kg nas plantas com as maiores dosagens tanto de Cd como de 5-ALA. Nas raízes, os teores chegaram a 21 mg/kg nas plantas com 15 mg L⁻¹ de Cd e sem aplicação de 5-ALA.

A maior concentração de cobre nas raízes em comparação com as folhas de *C. fairchildiana* pode ser atribuída a vários fatores fisiológicos e bioquímicos. As raízes estão em contato direto com o solo, onde ocorre a absorção de nutrientes e metais pesados, incluindo o cobre. Devido à sua função de barreira e filtro, as raízes podem acumular metais pesados para impedir sua translocação para partes aéreas, minimizando possíveis efeitos tóxicos. Além disso,

a capacidade de transporte e redistribuição de metais dentro da planta pode ser limitada, resultando em acúmulos maiores nas raízes, fato observado neste estudo (Figura 7A).

Os teores de Fe nas raízes (Figura 7D) apresentaram-se muito maiores do que nas folhas (Figura 7C), com valores de aproximadamente 124 mg/kg nas folhas e de 3.534 mg/kg nas raízes, o que evidencia uma acumulação de Fe bastante evidente nas raízes.

De acordo Silva (2019), a aplicação foliar de ácido 5-aminolevulínico, um precursor na biossíntese de clorofila, pode influenciar a distribuição de ferro (Figuras 7C e 7D) na planta. No entanto, a presença de cádmio pode interferir na mobilização e utilização do ferro, resultando em sua acumulação nas raízes, fator observado neste trabalho (Figura 7D). Estudos indicam que o cádmio pode competir com o ferro por sítios de transporte e armazenamento, dificultando sua translocação para as folhas. Portanto, o aumento da concentração de ferro nas raízes em comparação com as folhas de *Clitoria fairchildiana* expostas ao cádmio e tratadas com ALA sugere uma resposta adaptativa da planta para conter o estresse causado pelo metal pesado, acumulando ferro nas raízes e protegendo as folhas dos efeitos tóxicos (Benavides, 2005).

A concentração de Mn foi mais expressiva nas folhas, chegando a 213 mg/kg nas plantas com 30 mg L⁻¹ Cd e 50 mg L⁻¹ 5-ALA, enquanto nas raízes os valores chegaram a 33 mg/kg nas plantas com 15 mg L⁻¹ Cd e sem a presença de 5-ALA.

A menor concentração de Mn na raiz (Figura 7F) de *C. fairchildiana* indica que o Cd pode ter afetado a funcionalidade e o crescimento do sistema radicular. Porém o Mn é necessário na reação de oxidação de água no PSII (Schmidt *et al.* 2016). Portanto o seu aumento nas folhas pode ter sido uma estratégia para manter a atividade fotossintética e a estabilidade, mesmo que afetada pelo Cd.

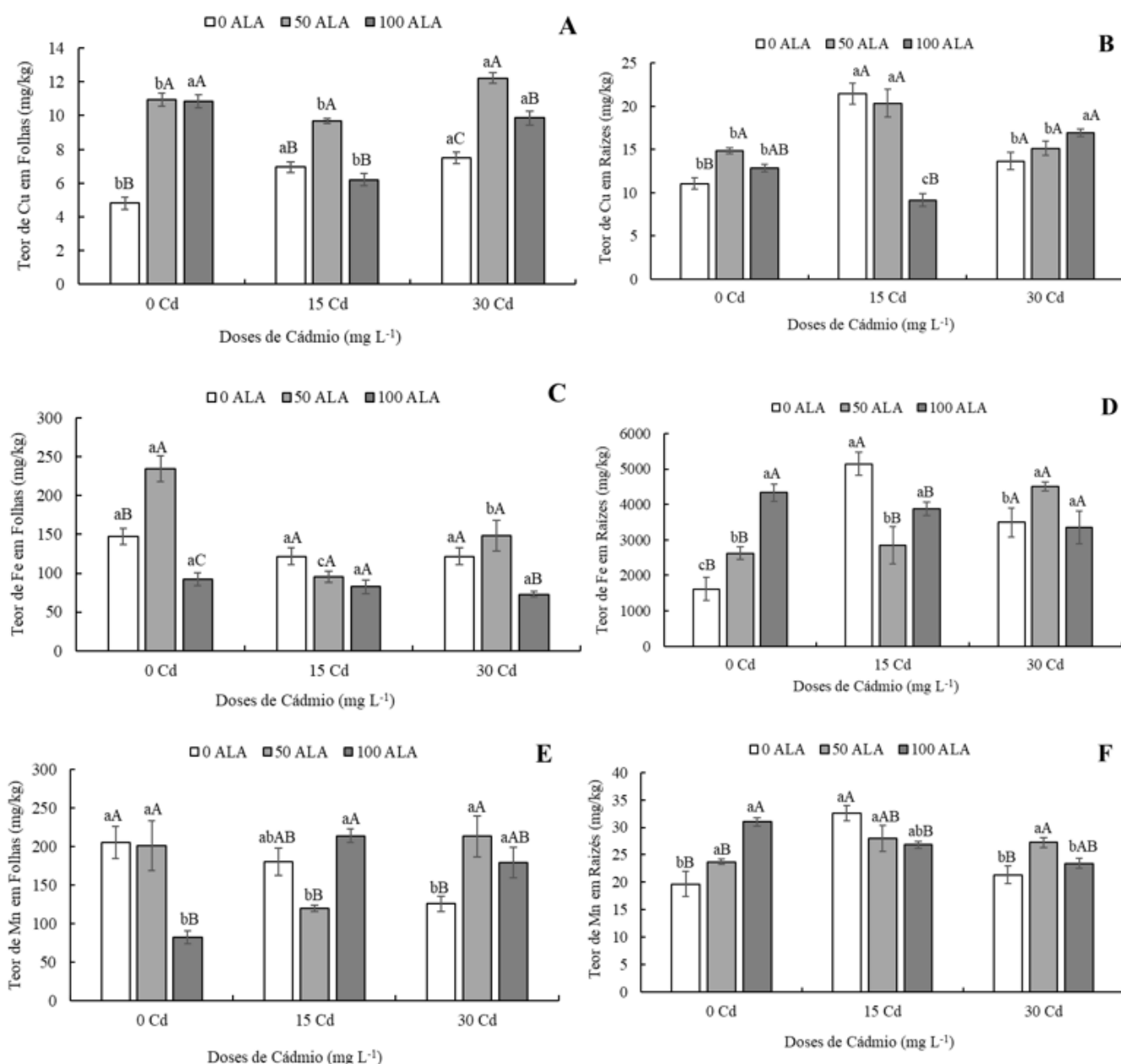


Figura 7. Influência do ácido 5-aminolevulínico (0, 50 e 100 mg L⁻¹) no conteúdo de Cobre em folhas (A) e raízes (B), Ferro em folhas (C) e raízes (D) e Manganês em folhas (E) e raízes (F) em mudas de palheteira (*Clitoria fairchildiana* R.A Howard) sob doses de cádmio (0, 15 e 30 mg L⁻¹). Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) entre as doses de cádmio na mesma concentração de 5- ALA. Médias seguidas da mesma letra maiúscula não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) entre as concentrações de 5- ALA na mesma dose de Cádmio. Média $\pm$ Erro padrão.

3.6. Correlação entre os elementos nutricionais em resposta às doses de cádmio

A tabela 5 apresenta as correlações estimadas entre os macronutrientes e micronutrientes em folhas (Tabela 5A) e raízes (Tabela 5B).

Na interpretação de correlações, se deve considerar três aspectos: a magnitude, a significância e a direção. Estimativas de coeficiente de correlação positivas indicam a tendência de uma variável aumentar quando a outra aumenta, e correlações negativas indicam tendência de uma variável aumentar enquanto a outra diminui (NOGUEIRA *et al.* 2012).

O coeficiente de correlação de Pearson (1892) classifica as correlações em: Bem Fracas (+/- 0,00 a 0,19), Fracas (+/- 0,20 a 0,39), Moderadas (+/- 0,40 a 0,69), Fortes (+/- 0,70 a 0,89) e Muito Fortes (+/- 0,90 a 1,00).

Dentre as correlações observadas nos coeficientes dos elementos nas folhas (Tabela 7A), não houve correlações Fortes e Muito Fortes. As correlações classificadas como Bem Fracas foram: P e N (-0,18), K e N (0,00), Ca e N (-0,19), Mg e N (0,10), Mn e N (-0,12), Cu e N (0,14), Ca e P (0,04), Mg e K (-0,05), Fe e K (0,17), Mn e K (-0,09), Mg e Ca (-0,10), Mn e Ca (0,02), Cu e Ca (-0,14), Mn e Mg (0,15), Cu e Mg (-0,10), Cu e Mn (-0,06). As correlações classificadas como Fracas foram: Fe e N (-0,28), Mg e P (-0,24), Mn e P (0,35), Cu e P (0,27), Ca e K (0,28), Cu e K (-0,33), Fe e Mg (-0,33), Mn e Fe (0,27), Cu e Fe (0,31). Apenas duas correlações foram classificadas como Moderadas: Fe e P (0,49), Fe e Ca (0,43).

Assim como nas folhas, não houve correlações Fortes e Muito Fortes nos coeficientes dos elementos nas raízes (Tabela 5B).

De modo geral, a matriz com os coeficientes de correlação de Pearson (Tabela 5) reforça o comportamento observado mais detalhadamente nas figuras 9, 10 e 11, simplificando a ligação que há entre os elementos que manifestaram significância, ou seja, as correlações.

Com relação as correlações entre os elementos nas folhas (Tabela 5A), pode se observar 16 correlações bem fracas, 9 fracas e duas moderadas. Enquanto nas raízes (Tabela 5B) observa-se também 16 correlações bem fracas, 10 fracas e 6 moderadas.

A grande quantidade de correlações bem fracas e fracas, tanto nas folhas como nas raízes, evidenciam uma relação mínima ou inexistente entre as concentrações dos nutrientes. Isso pode ter ocorrido pois os nutrientes móveis como N, P e K não precisaram ser redistribuídos entre os órgãos, pois não houve esta necessidade metabólica. Enquanto nutrientes menos móveis como o Ca tendem a permanecer nos mesmos tecidos que foram produzidos. Essa diferença de mobilidade resulta em correlações fracas entre os nutrientes (Ávila et al. 2016).

A correlação moderada entre Fe e P (0,49); Fe e Ca (0,43) indica que há uma relação significativa e que os elementos estão associados de alguma forma, mas não totalmente linear entre eles. Segundo Barrow (2015), o Fe pode formar complexos insolúveis com o P em determinadas condições, reduzindo a disponibilidade de ambos os nutrientes. Isso implica que, na planta, a absorção de um elemento pode afetar parcialmente o outro, sem que essa relação seja completamente determinante. O equilíbrio entre Fe e P pode influenciar diretamente processos como a fotossíntese. Deficiências de P podem limitar a produção de ATP, prejudicando o transporte ativo de Fe nas células, enquanto o excesso de Fe pode induzir estresse oxidativo, afetando o metabolismo do P (Marschner, 2012).

Já o Ca é um elemento estrutural essencial na estabilização das membranas celulares e na sinalização intracelular, e o Fe pode competir com o Ca por canais de transporte em membranas celulares. Além disso, altos níveis de Fe podem interferir na disponibilidade de Ca, especialmente em solos ricos em ferro onde precipitações de compostos insolúveis podem ocorrer (Kirkby & Römheld, 2004). No entanto, o Ca também desempenha um papel na proteção contra o estresse oxidativo induzido pelo Fe, ajudando a regular os radicais livres gerados por processos redox (White & Broadley, 2003).

A correlação moderada entre Cd e Mn (-0,45); Cd e N (-0,46) nas raízes pode ser interpretada como um reflexo da capacidade das plantas de reequilibrar o metabolismo e a homeostase nutricional frente ao estresse. Estudos anteriores sugerem que a interação entre metais pesados e nutrientes é complexa e depende de fatores como o tipo de planta, as doses aplicadas e as condições ambientais (Santos et al., 2020).

O manganês desempenha um papel importante no metabolismo de plantas, especialmente na ativação de enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase (SOD), que são cruciais para mitigar o estresse oxidativo causado pelo cádmio (Marschner, 2012). Assim, a correlação entre Cd e Mn sugere que a presença de cádmio pode estar modulando os níveis de manganês nas raízes, talvez como parte de um mecanismo adaptativo para lidar com o estresse.

Além disso, o nitrogênio é essencial para a síntese de proteínas e compostos bioquímicos envolvidos na detoxificação de metais pesados. A correlação entre Cd e N pode refletir alterações no metabolismo de nitrogênio em resposta à aplicação de ALA e à presença de cádmio. Assim, a aplicação de ALA pode ter promovido a assimilação de nitrogênio e, assim, contribuído para melhorar a tolerância ao cádmio (Zhang et al., 2014).

Tabela 5. Matriz com os coeficientes de correlação de Pearson entre os elementos analisados nas folhas (A) e nas raízes (B) de plantas jovens de palheteira (*Clitoria fairchildiana* R.A Howard) sob aplicação foliar de 5-ALA e em função de concentrações de Cádmio (Cd).

Coeficiente de correlação de Pearson dos elementos nas folhas (A)								
Fator	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Cu
N	1.00							
P	-0.18	1.00						
K	0.00	0.23	1.00					
Ca	-0.19	0.04	0.28	1.00				
Mg	0.10	-0.24	-0.05	-0.10	1.00			
Fe	-0.28	0.49	0.17	0.43	-0.33	1.00		
Mn	-0.12	0.35	-0.09	0.02	0.15	0.27	1.00	
Cu	0.14	0.27	-0.33	-0.14	-0.10	0.31	-0.06	1.00

Coeficiente de correlação de Pearson dos elementos nas raízes (B)

Fator	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Cu	Cd
N	1.00								
P	0.16	1.00							
K	0.19	0.24	1.00						
Ca	-0.05	0.19	0.39	1.00					
Mg	-0.37	-0.04	0.04	-0.08	1.00				
Fe	0.05	-0.26	-0.46	0.04	-0.08	1.00			
Mn	-0.07	0.04	-0.49	-0.01	0.17	0.45	1.00		
Cu	-0.20	0.19	-0.13	0.09	-0.40	0.01	0.16	1.00	
Cd	-0.46	-0.33	0.01	0.05	-0.14	-0.03	-0.45	0.03	1.00

4 CONCLUSÃO

As análises nutricionais demonstraram maior acúmulo de Cd nas raízes, influenciando os teores de nutrientes, mas sem detecção da presença do metal nos outros órgãos (caule e folhas) de *C. fairchildiana*, o que resultou também em menor biomassa na raiz do que na parte aérea.

A espécie pode ser classificada como tolerante ao cádmio, pois o Índice que mede a tolerância mostrou que a espécie se enquadra no *status* de tolerância alta (acima de 60%).

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à UFRA (Universidade Federal Rural da Amazônia) e ao grupo de estudos EBPS (Estudo da Biodiversidade em Plantas Superiores) pela possibilidade de realizar o experimento deste trabalho em casa de vegetação, utilizando de todos os equipamentos, ferramentas e reagentes químicos necessários para a pesquisa. Agradecemos também ao MPEG (Museu Paraense Emílio Goeldi), nos nomes da Dra. Cristine Amarante e do técnico de laboratório Me. Anderson Botelho, pela possibilidade de realizar as análises nutricionais nos laboratórios de física do solo, análises químicas e absorção atômica no *campus* de pesquisa da instituição. Agradecemos também à FAPESPA (Fundação Amazônia de Amparo a Estudos e Pesquisas) pelo financiamento de insumos, equipamentos e reagentes químicos essenciais para o desenvolvimento deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- ABDUL QADOS, A.M.S. Phytoremediation of PB and CD by native tree species grown in the Kingdom of Saudi Arabia. *Índia Journal Scienlific Research and Technology*, 3, 22-34, 2015.
- AIDID, S.B.; OKAMOTO, H. Responses of elongation growth rate, turgor pressure and cell wall extensibility of stem cells of *Impatiens balsamina* to lead, cadmium and zinc. *Biometals* 6:245–249, 1993.
- ALI, B., *et al.* 5-Aminolevulinic acid-induced modulation of antioxidant and mineral nutrient metabolism in plants under stress conditions. *Plant Stress Physiology*, 10(2), 45-62, 2018.
- ALI, I; ABOUL-ENEIN, H.Y. Speciation of arsenic and chromium metal ions by reversed phase high performance liquid chromatography. *Chemosphere*, v. 48, n. 3, p. 275-278, 2002.
- ALI, S. *et al.* 5-Aminolevulinic acid-induced heavy metal stress tolerance and underlying mechanisms in plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, v. 37, p. 1423-1436, 2018.
- ANDRADE JÚNIOR, W.V.; OLIVEIRA NETO, C.F.; SANTOS FILHO, B.G. *et al.* Effect of cadmium on young plants of *Virola surinamensis*, *AoB Plants*, 11, 1-11, 2019.
- AYDINALP, C.; MARINOVA, SJBJoAS. The effects of heavy metals on seed germination and plant growth on alfalfa plant (*Medicago sativa*). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, v. 15, n. 4, p. 347-350, 2009.
- BALESTRASSE, K.B.; TOMARO, M.L.; BATLLE, A.; *et al.* The role of 5-aminolevulinic acid in the response to cold stress in soybean plants. *Phytochemistry* 71:2038–2045, 2010.
- BARBOSA, J. C.; JUNIOR, W. M. AgroEstat – Sistema para análises estatísticas de ensaios agronômicos. Jaboticabal, 2014.
- BARROW, N. J. Soil phosphate chemistry and its implications for phosphorus availability. *Plant and Soil*, 397(1-2), 5-16, 2015.
- BENAVIDES, M. P.; GALLEGO, S. M.; TOMARO, M. L. Cadmium toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, v. 17, n. 1, p. 21-34, 2005.
- BFG. Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. *Rodriguésia*, 66 (4), 1085-1113. DOI: 10.1590/2175-7860201566411, 2015.
- BRASIL, E.C.; CRAVO, M.S.; VIÉGAS, I. Recomendações de calagem e adubação para o estado do Pará. 2 ed. Brasília, DF: **Embrapa**, 2020.
- BURZYNSKI, M.; KŁOBUS, G. Changes of photosynthetic parameters in cucumber leaves under Cu, Cd, and Pb stress. *Photosynthetica* 42, 505–510, 2004.
- CHAOUI, A.; MAZHOUDI, S.; GHORBAL, M.H.; FERJANI, E.E.L. Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Sci* 127:139–147, 1997.
- CHO, U.H.; SEO, N.H. Oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation. *Plant Sci* 168:113–120, 2005.
- CLAESSEN, M.E.C., W.O. BARRETO, J.L. PAULA, and M.N. DUARTE. Manual de métodos de análise de solo, 98–120. Rio de Janeiro: **Centro Nacional de Pesquisas de Solo**, 1997.

- CLEMENS, S., *et al.* Transport and detoxification of heavy metals in plants: the role of phytochelatins and metallothioneins. **Cellular and Molecular Life Sciences**, 70(1), 91-112, 2013.
- DA SILVA, F.C. *et al.* Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Rio de Janeiro: **Embrapa Solos**, 2009.
- DAI, H.; SHAN, C.; JIA, G. *et al.* Cadmium detoxification in *Populus x canescens*. **Turkish Journal of Botany** 37: 950-955, 2013.
- DEVI, S.; NANDWAL, A.; ANGRISH, R. *et al.* Phytoremediation potential of some halophytic species for soil salinity. **International Journal of Phytoremediation**, vol. 18, no. 7, pp. 693-696, 2016.
- FANG, X., *et al.* The role of 5-aminolevulinic acid in enhancing plant tolerance to metal stress. **Environmental and Experimental Botany**, 107, 1-12, 2014.
- FANTZ, P. R. *Clitoria* (Leguminosae) *antillarum*. **Moscossa**, 6, 152-166. 1990.
- FAQUIN, V. **Nutrição mineral de plantas**. Lavras, Brasil: Centro de Editoração/FAEPE, 2005.
- GALLEGO, S.M.; PENA, L.B.; BARCIA, R.A. *et al.* Eénravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: Insight into regulatory mechanisms. **Environmental and Experimental Botany** 83: 33-46, 2012.
- GIANOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, p. 309-314, 1977.
- GILL, S.S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiol Biochem**, 48: 909-930, 2010.
- HAVIR, E.; McHALE, N.A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalases in tobacco leaves. **Plant Physiology**, v. 84, p. 450-455, 1987.
- HEATH, R.L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 125, n. 1, p. 189-198, 1968.
- HOTTA, Y., *et al.* Effects of 5-aminolevulinic acid on the growth and photosynthesis of plants under different light conditions. **Plant and Cell Physiology**, 38(4), 490-495, 1997.
- JIANG, M. *et al.* Natural 5-aminolevulinic acid: Sources, biosynthesis, detection and applications. **Frontiers in bioengineering and biotechnology**, v. 10, p. 841443, 2022.
- KAPOOR, D.; RATTAN, A.; BHARDWAJ, R.; KAUR, S. Photosynthetic efficiency, ion analysis and carbohydrate metabolism in *Brassica juncea* Plants under cádmium stress. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, 5, 279-286, 2013.
- KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**.57: 315-319, 1976.
- KHAN, N.A *et al.* Activities of Antioxidative Enzymes, Sulphur Assimilation, Photosynthetic

Activity and Growth of Wheat (*Triticum aestivum*) Cultivars Differing in Yield Potential Under Cadmium Stress. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 193, n. 6, p. 435–444, 1 dez. 2007.

KIRKBY, E. A., & RÖMHELD, V. Micronutrients in plant physiology: Functions, uptake, and mobility. **Journal of Plant Nutrition**, 27(4), 441-456, 2004.

KOVÁČIK, J *et al.* Comparison of cadmium and copper effect on phenolic metabolism, mineral nutrients and stress-related parameters in *Matricaria chamomilla* plants. **Plant and Soil**, v. 320, n. 1–2, p. 231–242, 24 jul. 2009.

LIU, S.L., YANG, R.J., MA, M.D. Effects of exogenous NO on the growth, mineral nutrient content, antioxidant system, and ATPase activities of *Trifolium repens* L. plants under cadmium stress. **Acta Physiology Plantarum**. 37, 1-17, 2015.

LORENZI, H. (2002). "Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil." *Nova Odessa: Instituto Plantarum*.

LUX, A.; SOTTNÍKOVÁ, A.; OPATMÁ, J.; GREGER, M. Differences in structure of adventitious roots in *Salix* clones with contrasting characteristics of cadmium accumulation and sensitivity. **Physiologia Plantarum** 120: 537-545, 2004.

MALČOVSKÁ, S.M.; DUČAIOVÁ, Z.; MASLAŇÁKOVÁ, I.; BAČKOR, M. Effect of silicon on growth, photosynthesis, oxidative status and phenolic compounds of maize (*Zea mays* L.) grown in cadmium excess. **Water Air Soil Pollut**, 225: 2056, 2014.

MARSCHNER, P. Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants. **Academic Press**, 2012.

MEHES-SMITH, M.; NKONGOLO, K.; CHOLEWA, E. Coping Mechanisms of Plants to metal contaminated Soil. In: Silvem S, ed. **Environmental Change and Sustainability**. In Tech, Rijeka, Croatia 54: 53-90, 2013

NAJEEB, U.; JILANI, G.; ALI, S. *et al.* Insight into cadmium induced physiological and ultra-structural disorders in *Juncus effusus* L. and its remediation through exogenous citric acid. **J Hazard Mater** 186:565–574, 2011.

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

NIKOLIC, N., ZORIC, L., CVETKOVIC, I. Assessment of cadmium tolerance and phytoextraction ability in young *Populus deltoides* L. and *Populus x euramericana* plants through morpho-anatomical and physiological responses to growth in cadmium enriched soil. **iForest Biogeosciences & Forestry**, 10, 635-644, 2017.

NOGUEIRA, A.P.O. *et al.* Análise de trilha e correlações entre caracteres em soja cultivada em duas épocas de semeadura. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 28, n. 6, p. 877-888, 2012.

OVES, M.; SAGHIR KHAN, M.; ZAIDI, A.; AHMAD, E. Soil contamination, nutritive value, and human health risk assessment of heavy metals: an overview. **Toxicity of Heavy Metals to Legumes and Bioremediation**. Springer-Verlag Wien, 2012.

OZTURK, B. *et al.* Formation and stabilization of nanoemulsion-based vitamin E delivery systems using natural biopolymers: Whey protein isolate and gum arabic. **Food Chemistry**, v. 188, p. 256-263, 2015.

OZTURK, M.; TURKAN, I. Heavy metal accumulation by plants growing alongside the motor roads: a case study from Turkey. **Plants as biomonitors: indicators for heavy metals in the terrestrial environment**, p. 515-522, 1993.

PATTANAYAK, G.K.; TRIPATHY, B.C. Overexpression of protochloro phyllide oxidoreductase C regulates oxidative stress in Arabidopsis. **PLoS ONE** 6:e26532, 2011.

PEARSON, K. The grammar of science. London, J. M. **Dent and Company**, 1892.

PILON-SMITS, E. Phytoremediation. **Annu. Rev. Plant Biol.**, v. 56, n. 1, p. 15-39, 2005.

SALEH, S.R. *et al.* Wheat biological responses to stress caused by cadmium, nickel and lead. **Science of The Total Environment**, v. 706, p. 136013, 2020.

SANITÀ DI TOPPI, L.; GABBRIELLI, R. Response to cadmium in higher plants. **Environ Exp Bot**, 41: 105–130, 1999.

SANTOS, C. V., ALMEIDA, A. F., & SILVA, A. R. Efeitos do cádmio na nutrição mineral e metabolismo antioxidante em plantas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, 12(3), 345–360, 2020.

SÁRVÁRI, E.; CSEH, E.; BALCZER, T. *et al.* Effect of Cd on the iron re-supply-induced formation of chlorophyll-protein complexes in cucumber. **Acta Biol. Szeged** 52 (1), 183–186, 2008.

SCHELBERT, S.; AUBRY, S.; BURLA, B.; AGNE, B.; KESSLER, F. *et al.* Pheophytin pheophorbide hydrolase (pheophytinase) is involved in chlorophyll breakdown during leaf senescence in Arabidopsis. **Plant Cell** 21(3):767–785, 2009.

SCHUTZENDUBEL, A., & POLLE, A. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. **Journal of Experimental Botany**, 53(372), 1351-1365, 2002.

SCHWITZGUEBEL, J.P.; KUMPIENE, J.; COMINO, E.; VANEK, T. From green to clean: a promising and sustainable approach towards environmental remediation and human health for the 21st century. **Agrochimica**, vol. 53, pp. 1-29, 2009.

SHUKLA, O.P.; RAI, U.N.; SINGH, N.K.; DUBEY, S. *et al.*, Isolation and characterization of chromate resistant bacteria from tannery effluent, **J. Environ. Biol.** 28 (2) 399–403, 2007.

SILVA, A. R. B. Ação do ácido 5-aminolevulínico no metabolismo bioquímico de mudas de palheteira (*Clitoria fairchildiana* R.A. Howard) submetidas a doses de cádmio. 60 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2019.

SILVA, B.M.; SANTOS, I.M.B.; ARAÚJO, P.A.A. Emergência de plântulas de faveira (*Clitoria fairchildiana* R. A. Howard) em diferentes substratos. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 10, n. 2, p. 555-566, 2017.

SILVA, J.R.R.; FERNANDES, A.R.; SILVA JÚNIOR, M.L. *et al.* Tolerance mechanisms in *Cassia alata* exposed to cadmium toxicity - potential use for phytoremediation. **Photosynthetica**, 55, 1-10, 2017.

SOUZA, E *et al.* Mecanismos de tolerância a estresses por metais pesados em plantas. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 17, n. 2, 25 fev, 2013.

SUN, Y. *et al.* Soil applied silicon and manganese combined with foliar application of 5-aminolevulinic acid mediate photosynthetic recovery in Cd-stressed *Salvia miltiorrhiza* by regulating Cd-transporter genes. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 1011872, 2022.

SZAFRAŃSKA, K.; REITER, R.J.; POSMYK, M.M. Melatonin improves the photosynthetic apparatus in pea leaves stressed by paraquat via chlorophyll breakdown regulation and its accelerated de novo synthesis. **Front Plant Sci** 8:878, 2017.

TEDESCO, M.J *et al.* Análises de solo, plantas e outros materiais. **Boletim técnico N° 5**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1995.

TEWARI, A.; SINGH, R.; SINGH, N.K.; RAI, U.N. Amelioration of municipal sludge by *Pistia stratiotes* L.: role of antioxidant enzymes in detoxification of metals. **Bioresource Technol** 99:8715–8721, 2008.

WANG, W.C. Root elongation method for toxicity testing of organic and inorganic pollutants. **Environmental Toxicology and Chemistry**, vol. 6, n. 5, p. 409-414, 1987.

WHITE, P. J. & BROADLEY, M. R. Calcium in plants. **Annals of Botany**, 92(4), 487-511, 2003.

WU, L.Q.; CHENG, S.P.; YANG, L.H.; WU, Z.B. Stress responses and resistance mechanism of *Canna indica* Linn. to cadmium and copper. **J Agro-Environ Sci**, 26: 1365–1369, 2007.

YILMAZ, D.D.; PARLAK, K.U. Changes in proline accumulation and antioxidative enzyme activities in *Groenlandia densa* under cadmium stress. **Ecol Indic**, 11: 417–423, 2011.

ZAYED, A.; GOWTHAMAN, S.; TERRY, N. Phytoaccumulation of trace elements by wetland plants: I. Duckweed. **American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America**, 1998.

ZHANG, H., ZHAO, F., & ZHANG, F. The role of 5-aminolevulinic acid in enhancing plant tolerance to environmental stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, 82, 209–216, 2014.

ZHANG, X., GAO, B., XIA, H. Effect of cadmium on growth, photosynthesis, mineral nutrition and metal accumulation of banana grass and vetiver grass. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 106, 102-108, 2014.

4. DISCUSSÃO INTEGRADORA

Ao longo dos capítulos desenvolvidos foi possível observar que as doses de Cd aplicadas neste experimento concentraram-se em maior quantidade nas raízes, não alterando variáveis como altura (H), diâmetro (D) e número de folhas (NF). Além disso, os pigmentos fotossintéticos (Clo *a*, Clo *b*, Clo total e Feofitinas) apresentaram teores próximos em plantas sem cádmio (0 Cd) e sem ALA (0 ALA). Dentre as enzimas antioxidantes, apenas a G-POD obteve maior teor nas raízes, evidenciando que foi a enzima responsável pela peroxidação através do guaiacol nas raízes, que pode ter contribuído para um maior equilíbrio homeostático.

Nos elementos N, P e K, a pouca variação em suas concentrações mostra a baixa influência que as doses de Cd tiveram nestes elementos, e também a ação do 5-ALA principalmente na dose de 50 mg L⁻¹. O Mg também não aumentou conforme a exposição das plantas ao Cd nas raízes, mas pode ter atuado nos teores dos pigmentos fotossintéticos observados, uma vez que o Mg compõe a clorofila, através das porfirinas magnesianas.

O teor de Cu maior nas raízes mostra menos translocação para a parte aérea, enquanto que o teor de Fe foi muito maior nas raízes, o que mostra a relação do Fe com o Cd, uma vez que o metal estava acumulado nas raízes, pois o Cd pode interferir na mobilização e utilização de Fe, resultando na sua acumulação nas raízes. Já o Mn apresentou maior teor nas folhas e isto pode ser devido a sua importância na reação de oxidação de água no PSII, sendo uma estratégia que pode ter ajudado a manter a atividade fotossintética.

As correlações em sua grande maioria Bem Fracas e Fracas evidenciam relação mínima entre os nutrientes. Já a correlação moderada entre Cd e Mn (-0,45) mostra o porque do maior teor de Mn nas folhas, sendo que este nutriente tem importante papel na ativação de enzimas como a SOD. E a correlação moderada entre Cd e N mostra que a aplicação de 5-ALA pode ter promovido a assimilação de N, e assim contribuído para melhorar a tolerância ao Cd.

O acúmulo progressivo de Cd nas raízes, inclusive quando na maior dose de 5-ALA (100 mg L⁻¹) mostra que em relação ao teor de Cd, o 5-ALA não agiu mitigando este teor nas raízes. Porém, o Índice de Translocação (IT) foi classificado como alto, o que evidencia uma possível estratégia da planta como fitoestabilizadora.

5. CONCLUSÕES

As doses de 50 e 100 mg L⁻¹ de 5-ALA utilizadas em aplicação exógena em plantas de *C. fairchildiana* apresentaram efeito positivo sobre as variáveis biométricas (H e D) e pigmentos fotossintéticos (Clo b e Feofitinas), e causaram oscilações nas respostas das variáveis SOD, APX, CAT, G-POD e MDA, variando conforme a concentração do metal e a parte da planta.

O Cd influenciou nos teores dos elementos nutricionais, mas sem causar danos a parte aérea das plantas.

De modo geral, neste presente trabalho foi possível observar que as plantas de *Clitoria fairchildiana* R.A. Howard sob as doses de Cd aplicadas apresentaram acúmulo do metal nas raízes, sem a detecção da presença dele nos órgãos da parte aérea (folhas e caule), resultando em menor biomassa nas raízes que na parte aérea. Como também a aplicação foliar de 5-ALA demonstra ter favorecido o desenvolvimento das plantas, principalmente na dose de 50 mg L⁻¹.

A detecção da presença de Cd apenas nas raízes e o Índice de Tolerância avaliado em *Tolerante*, indicam que a espécie além de não ser Fitoextratora e nem Fitodegradadora, pode ser indicada como uma espécie Fitoestabilizadora, em que as plantas imobilizam ou concentram os contaminantes no sistema radicular, impedindo assim a sua translocação para a parte aérea. Portanto, a espécie *Clitoria fairchildiana* R.A. Howard pode ser indicada para utilização em programas de reflorestamento e de recuperação de áreas degradadas com metais pesados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRAWAL, S.; KARCHER, D.; RUF, S.; BOCK, R. The Functions of Chloroplast Glutamyl-tRNA in Translation and Tetrapyrrole Biosynthesis1 [OPEN]. **Plant Physiol.** 183, 263–276, 2020.
- AHMAD, Saghir et al. Cotton productivity enhanced through transplanting and early sowing. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 40, p. 1-7, 2018.
- AKRAM, Nudrat Aisha; ASHRAF, Muhammad. Regulation in plant stress tolerance by a potential plant growth regulator, 5-aminolevulinic acid. **Journal of plant growth regulation**, v. 32, p. 663-679, 2013.
- ALI, Imran; ABOUL-ENEIN, Hassan Y. Speciation of arsenic and chromium metal ions by reversed phase high performance liquid chromatography. **Chemosphere**, v. 48, n. 3, p. 275-278, 2002.
- ALLOWAY, B.J. Heavy Metals in Soil, Third edition. **John Wiley and Sons, Inc.**, New Yurk, USA, 2011.
- ASHRAF, Sana et al. Phytoremediation: Environmentally sustainable way for reclamation of heavy metal polluted soils. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 174, p. 714-727, 2019.
- ATSDR. *Toxic substances portal*. Disponível em: <http://www.atsdr.cdc.gov/> . acesso em 16 de setembro de 2013.
- BORGES, H. B. N.; SILVEIRA, E. A.; VENDRAMIN, L. N. Flora arbórea de Mato Grosso: tipologias vegetais e suas espécies. **Cuiabá: Entrelinhas**, 255 p., 2014.
- CARNEIRO, M.A.C.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S; CARVALHO, D.; BOTELHO, S.A. JUNIOR, O.J.S. Micorriza arbuscular em espécies arbóreas e arbustivas de ocorrência no sudeste do Brasil. *Cerne*, v. 4, n.1, p.129-145, 1998.
- CETESB – Companhia de tecnologia de saneamento ambiental. **Valores orientadores para solos e águas subterrâneas do estado de São Paulo**. Decisão da Diretoria nº 195/2005. 2005. 4 p.
- CHO, U.H.; SEO, N.H. Oxidative stress in Arabidopsis thaliana exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation. **Plant Sci** 168:113–120, 2005.
- CHOPPALA, G. *et al.* Cellular mechanisms in higher plants governing tolerance to cadmium toxicity cellular mechanisms in higher plants governing tolerance. **Crit. Rev. Plant Sci.** 33, 1–18. 2014.
- CLAESSEN, M.E.C., W.O. BARRETO, J.L. PAULA, and M.N. DUARTE. *Manual de métodos de análise de solo*, 98–120. Rio de Janeiro: **Centro Nacional de Pesquisas de Solo**, 1997.
- CLITORIA. In: FLORA do Brasil 2020 em construção. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2018. Disponível em: . Acesso em: 10 ago. 2018.

COSTA, C.N.; MEURER, E.J.; BISSANI, C.A. e TEDESCO, M.J. Fracionamento sequencial de cádmio e chumbo em solos. **Ciência Rural**, vol. 37, n.5, p. 1323-1328, 2007.

COSTA, L. G. Germinação e morfologia de frutos, sementes e plântulas de *Clitoria fairchildiana* Howard. 2011. 24 f. Monografia (Graduação em curso de Engenheiro Florestal) - Departamento de Engenharia Florestal, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória-ES, 2011.

CRUZ, E. D. Germinação de sementes de espécies amazônicas: palheteira (*Clitoria fairchildiana* R.A.Howard). Comunicado técnico. Belém, PA: **Embrapa Amazônia Oriental**, 6p, 2019.

DI BACCIO, D *et al.* Early responses to cadmium of two poplar clones that differ in stress tolerance. **Journal of Plant Physiology**, v. 171, n. 18, p. 1693–1705, 15 nov, 2014.

DINIS, M.D.L., FIÚZA, A. Exposure assessment to heavy metals in the environment: measures to eliminate or reduce the exposure to Critical receptors. In: Environmental Heavy Metal Pollution and Effects on Child Mental Development. **Springer**, pp. 27–50, 2011.

DOBRIKOVA, A.G.; APOSTOLOVA, E.L. Damage and protection of the photosynthetic apparatus under cadmium stress. In: **Cadmium toxicity and tolerance in plants**. Academic Press, p. 275-298, 2019.

DUCKE, A. 1949. Notas sobre a flora neotrópica II: As leguminosas da Amazônia brasileira. 2. ed. rev. aum Belém: IAN, 1949. 248 p. (IAN. Boletim técnico, Nº 18).

ELZAAWELY, A.A.; XUAN, T.D.; TAWATA, S. Changes in essential oil, kava pyrones and total phenolics of *Alpinia zerumbet* (Pers.) BL Burtt. & RM Sm. Leaves exposed to copper sulphate. **Environ. Exp. Bot.** 59 (3), 347–353. 2007.

EMENIKE, C.; JAYANTHI, B.; AGAMUTHU, P.; FAUZIAH, S. Biotransformation and removal of heavy metals: A review of phytoremediation and microbial remediation assessment on contaminated soil. *Environ. Rev.* **2018**, 26, 156–168. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)].

FAVAS, P.; PRATAS, J.; VARUN, M. *et al.* Phytoremediation of Soils Contaminated with Metals and Metalloids at Mining Areas: Potential of Native Flora. In Environmental Risk Assessment of Soil Contaminatio; **IntechOpen**: London, UK. pp. 485–517. 2014.

FORTES, J.L.O. Reabilitação de depósito de rejeito de refino de bauxita com uso de resíduos industriais e leguminosas arbóreas. 2000. 184f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

GALLEGO, S.M *et al.* Unraveling cadmium toxicity and tolerance in plants: Insight into regulatory mechanisms. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 83, p. 33–46, 2012.

GUAJARÁ, M.; CARVALHO, A.G.; SANTOS, W.; GONÇALVES, K. Aspectos da Biologia de *Euphalerus clitoriae* Burckhardt & Guajará, 2000 (Hemiptera: Psyllidae) sob Condições de Campo. *Floresta e Ambiente*, v.10, p.69-75, 2003.

HAIDER, Fasih Ullah *et al.* Cadmium toxicity in plants: Impacts and remediation strategies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 211, p. 111887, 2021.

HASAN, M.; UDDIN, M.; ARA-SHARMEEN, I. *et al.* Assisting Phytoremediation of Heavy Metals Using Chemical Amendments. *Plants* 8, 295. 2019. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)].

IARC WORKING GROUP ON THE EVALUATION OF CARCINOGENIC RISKS TO HUMANS *et al.* Cadmium and cadmium compounds. In: **Beryllium, Cadmium, Mercury, and Exposures in the Glass Manufacturing Industry**. International Agency for Research on Cancer, 1993.

IIDA, K.; KAJIWARA, M. Carbon Source Dependence of the Ratio of δ -Aminolevulinic Acid Biosynthesis via the C5 and Shemin Pathways in *Euglena Gracilis* (Euglenophyceae)1. *J. Phycol*, 44, 292–298, 2008.

JAHN, D.; HEINZ, D.W. Biosynthesis of 5-aminolevulinic acid. In: Warren MJ, Smith AG (eds) *Tetrapyrroles*. **Springer**, New York, pp 29–42. 2009.

KABATA-PENDIAS, A. Trace Elements in Soils and Plants, Third ed. **CRC Press**, Boca Raton, pp. 432. 2000.

KHALIQ, A.; ASLAM, F.; MATLOOB, A.; *et al.* Seed priming with selenium: consequences for emergence, seedling growth, and biochemical attributes of rice. **Biol Trace Elem Res**. 2015a.

KHALIQ, A.; ZIA-UL-HAQ, M.; ALI, F.; *et al.* Salinity tolerance in wheat cultivars is related to enhanced activities of enzymatic antioxidants and reduced lipid peroxidation. **Clean Soil Air Water**. 2015b.

KHAN, N.A.; SAMIULLAH, S.S.; NAZAR, R. Activities of antioxidative enzymes, sulphur assimilation, photosynthetic activity and growth of wheat (*Triticum aestivum*) cultivars differing in yield potential under cadmium stress. **J Agron Crop Sci** 193:435–44, 2007.

LI, S.; ZHAO, B.; JIN, M.; *et al.* A comprehensive survey on the horizontal and vertical distribution of heavy metals and microorganisms in soils of a Pb/Zn smelter. **J. Hazard. Mater.** 400, 123255. 2020 [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)].

LOPES, C.V.A.; ALBUQUERQUE, G.S.C. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde Debate**, Rio de Janeiro, v. 42, n. 117, p. 518-534, 2018.

MAHMOOD, T.; GUPTA, K.J.; KAISER, W.M. Cd stress stimulates nitric oxide production by wheat roots. **Pak J Bot** 41:1285–1290, 2009.

MALAVOLTA, E. Elementos de Nutrição Mineral de Plantas. São Paulo: Ed. **Agronômica Ceres**. 251 p. 1980.

MARUYAMA-NAKASHITA, A. *et al.* Exogenous application of 5-aminolevulinic acid increases the transcript levels of sulfur transport and assimilatory genes, sulfate uptake, and cysteine and glutathione contents in *Arabidopsis thaliana*. **Soil Science & Plant Nutrition**, v. 56, n. 2, p. 281-288, 2010.

- MATUSIK, J.; BAJDA, T.; MANECKI, M. Immobilization of aqueous cadmium by addition of phosphates. **J. Hazard. Mater.** 152, 1332–1339. 2008.
- MEGATELI, S., SEMSARI, S., COUDERCHET, M. Toxicity and removal of heavy metals (cadmium, copper and zinc) by *Lemna gibba*. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** 72 (6), 1774–1780, 2009.
- MIRANDA NETO, A.; MARTINS, S. V.; SILVA, K. de A.; LOPES, A. T.; DEMOLINARI, R. de A. Banco de sementes em mina de bauxita restaurada no sudeste do Brasil. **Floresta e Ambiente**, v. 24, artigo e00125414, 2017.
- MOBIN, M.; KHAN, N.A. Photosynthetic activity, pigment composition and antioxidative response of two mustard (*Brassica juncea* L.) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. **J Plant Physiol** 164:601–610, 2007.
- MOREIRA, F. M. S.; SILVA, M. F.; FARIA, S. M. Occurrence of nodulation in legume species in the Amazon region of Brazil. **New Phytologist**, v. 121, n. 4, p. 563-570, 1992.
- NAEEM, M.S.; WARUSAWITHARANA, H.; LIU, H.B.; Liu, D.; *et al.* 5-Aminolevulinic acid alleviates the salinity-induced changes in *Brassica napus* as revealed by the ultrastructural study of chloroplast. **Plant. Physiol. Bioch.**, 57, 84–92. 2012. [CrossRef] [PubMed].
- NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM *et al.* NTP 12th report on carcinogens. **Report on carcinogens: carcinogen profiles**, v. 12, p. iii-499, 2011.
- NOCTOR, G.; FOYER, C.H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. **Ann Rev Plant Biol** 49:249–79, 1998.
- OZTURK, M.; TURKAN, I. Heavy metal accumulation by plants growing alongside the motor roads: a case study from Turkey. **Plants as biomonitors: indicators for heavy metals in the terrestrial environment**, p. 515-522, 1993.
- POPOVA, L.P. *et al.* Role of salicylic acid in alleviating heavy metal stress. In: Ahmad, P., Prasad, M.N.V. (Eds.), *Environmental Adaptations and Stress Tolerance of Plants in the Era of Climate Change*. **Springer**, New York, Dordrecht, Heidelberg, London, pp. 441–466. 2012.
- POPP, J.H. **Geologia geral**. Rio de Janeiro, RJ: **LTC Editora**, 1998. 376 p.
- PORTELA, A. C.; SOUZA, L. A. G. de; LOPES, M. C. Organização do germoplasma de leguminosas arbóreas do INPA/CPCA: fenologia e desenvolvimento inicial das espécies. In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO PIBIC/ INPA, 10., 2001, Manaus. Anais: resumos expandidos. Manaus: INPA, 2001a. p. 223-226.
- PRANCE, G. T.; SILVA, M. F. da. Árvores de Manaus. Manaus: **INPA**, 312 p. 1975.
- RANDO, J.G.; SOUZA, V.C. Clitoria in Lista de Espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, 2015. Disponível em: Acesso em: 20 Abr. 2024.
- RASHEED, T. *et al.* Metal-organic frameworks based adsorbents: A review from removal perspective of various environmental contaminants from wastewater. **Chemosphere**, v. 259, p. 127369, 2020.

- RHAMAN, M.S.; IMRAN, S.; KARIM, M.M. *et al.* 5-aminolevulinic acid-mediated plant adaptive responses to abiotic stress. **Plant Cell Reports**, v. 40, p. 1451-1469, 2021.
- RIZWAN, M. *et al.* Cadmium minimization in wheat: a critical review. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** 130, 43–53. 2016.
- ROCHAYATI, S. *et al.* Use of reactive phosphate rocks as fertilizer on acid upland soils in Indonesia: accumulation of cadmium and zinc in soils and shoots of maize plants. **J. Plant Nutr. Soil Sci.** 174, 186–194. 2011.
- SAINI, S.; DHANIA, G. Cadmium as an environmental pollutant: ecotoxicological effects health hazards, and bioremediation approaches for its detoxification from contaminated sites. **Bioremediation of industrial waste for environmental safety Volume II: biological agents and methods for industrial waste management**, p. 357-387, 2020.
- SARMA, H., DEKA, S., DEKA, H. *et al.* Accumulation of heavy metals in selected medicinal plants. **Rev. Environ. Contam. Toxicol.** 214, 63–86, 2012.
- SASAKI, K.; WATANABE, M.; TANAKA, T. Biosynthesis, biotechnological production and applications of 5-aminolevulinic acid. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 58, 23–29, 2002. [CrossRef]
- SCHUTZENDÜBEL, A., POLLE, A. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal- induced oxidative stress and protection by mycorrhization. *J. Exp. Bot.* 53 (372), 1351–1365, 2002.
- SENGE, M.O.; RYAN, A.A.; LETCHFORD, K.A. *et al.* Chlorophylls, Symmetry, Chirality, and Photosynthesis. **Symmetry**, 6, 781–843, 2014.
- SHAHID, M., DUMAT, C., KHALID, S. *et al.* Foliar heavy metal uptake, toxicity and detoxification in plants: a comparison of foliar and root metal uptake. **J. Hazard Mater.** 325, 36–58, 2017.
- SHARMA, S.S., DIETZ, K.J. The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance. **Trend Plant Sci.** 14 (1), 43–50, 2009.
- SILVA, B. M. S.; MÔRO, F. V. Aspectos morfológicos do fruto, da semente e desenvolvimento pós-seminal de faveira (*Clitoria fairchildiana* R. A. Howard. - Fabaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 30, n. 3, p. 195-201, 2008.
- SINGH, K. P., MALIK, A., MOHAN. *et al.* Evaluation of groundwater quality in Northern Indo-Gangetic alluvium region. **Environmental Monitoring and Assessment**, 112, 211–230, 2006.
- SOARES, C. R. F. S.; SIQUEIRA, J. O.; CARVALHO, J. G. *et al.* Fitotoxidez de cádmio para *Eucalyptus maculata* e *E. euophila* em solução nutritiva. **R. Árvore**, vol. 29, n. 2, p. 175-183, 2005.
- STREET, R.A. Heavy metals in medicinal plant products – an African perspective. **S Afr. J. Bot.** 82, 67–74, 2012.
- TANAKA, R.; TANAKA, A. Chlorophyll cycle regulates the construction and destruction of the 3 light-harvesting complexes. **Biochim Biophys Acta** 1807:968–976, 2011.

TRAN, T.A. *et al.* Nitric oxide alleviates cadmium toxicity on photosynthesis in pea plants. **Compte Rendus l'Acad. Bulg. Sci.** 64, 1137–1142. 2011.

TRAN, T.A.; POPOVA, L.P. Functions and toxicity of cadmium in plants: recent advances and future prospects. **Turk. J. Bot.** 37, 1–13 doi:10.3906/bot-1112-16. 2013.

WANI, S.H. *et al.* Phytohormones and their metabolic engineering for abiotic stress tolerance in crop plants. **The crop journal**, v. 4, n. 3, p. 162-176, 2016.

WEI, Z.; VAN, L.; PENG, W. *et al.* A review on phytoremediation of contaminants in air, water and soil. **J. Hazard. Mater.** 403, 123658, 2021 [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

WESTFALL, D.G.; MORTVEDT, J.J.; PETERSON, G.A. *et al.* Efficient and environmentally safe use of micronutrients in agriculture. **Communication in Soil and Science Plant Analysis**, vol. 36, n. 1-3, p. 169-182, 2005.

WU, F.; ZHANG, G.; DOMINY, P. *et al.* Differences in yield components and kernel Cd accumulation in response to Cd toxicity in four barley genotypes. **Chemosphere** 70:83–92, 2007.

WU, Y.; LIAO, W.; DAWUDA, M.M. *et al.* 5-Aminolevulinic acid (ALA) biosynthetic and metabolic pathways and its role in higher plants: A review. **Plant Growth Regul.** 87, 357–374, 2019.

XIONG, T., DUMAT, C., PIERART, A. *et al.* Measurement of metal bioaccessibility in vegetables to improve human exposure assessments: field study of soil–plant–atmosphere transfers in urban areas, South China. **Environ. Geochem. Health** 38 (6), 1283–1301, 2016a.

XIONG, T.T.; AUSTRUY, A.; PIERART, A. *et al.* Kinetic study of phytotoxicity induced by foliar lead uptake for vegetables exposed to fine particles and implications for sustainable urban agriculture. **J. Environ. Sci.** 16–27, 2016b.

YAN, A.; WANG, Y.; TAN, S. *et al.* Phytoremediation: A promising approach for revegetation of heavy metal-polluted land. **Front. Plant Sci.** 11, 359, 2020.

ZANUNCIO, J. C.; PARREIRA, D. S.; MIELKE. *et al.* Hyperchiria incisa incisa (Lepidoptera: Saturniidae) on plants of Clitoria fairchildiana in Viçosa, Minas Gerais state, Brazil. **Journal of the Lepidopterists' Society**, v. 67, n. 2, p. 131-133, 2013.

ZHAO, Z., ZHU, Y.G., CAI, Y.L. Effects of zinc on cadmium uptake by spring wheat (*Triticum aestivum*, L.): long-time hydroponic study and short-time Cd tracing study. **J. Zhejiang Univ. Sci.** 6A, 643–648. 2005.

ANEXOS

ANEXO 1. COMPROVANTE DE PUBLICAÇÃO DO PRIMEIRO ARTIGO ORIUNDO DA TESE.



REVISTA
**CONTRIBUCIONES
A LAS CIENCIAS
SOCIALES**

Contribuciones a Las Ciencias Sociales

DECLARAÇÃO

A Revista Contribuciones a Las Ciencias Sociales, ISSN 1988-7833 declara para os devidos fins, que o artigo intitulado **“The use of attenuators in Amazonian forest species under heavy metal stress: a literature review”** de autoria de *Vitor Resende do Nascimento, Evelyn Luane Pinheiro de Figueiredo, Leticia Roberta Melo Monteiro, Lilian Tatiana Costa Barros, Glauco André dos Santos Nogueira, Raphael Leone da Cruz Ferreira, Thalisson Johann Michelin de Oliveira, Cândido Ferreira de Oliveira Neto*, foi publicado no v. 17, n. 2, p. 01-16.

A revista é on-line, e os artigos podem ser encontrados ao acessar o link:

<https://ojs.revistacontribuciones.com/ojs/index.php/clcs/issue/view/38>

DOI: <https://doi.org/10.55905/revconv.17n.2-110>

Por ser a expressão da verdade, firmamos a presente declaração.

São José dos Pinhais, 15 de Fevereiro de 2024.

Equipe editorial



QR de validade da publicação

ANEXO 2. COMPROVANTES DE PUBLICAÇÃO DO SEGUNDO ARTIGO ORIUNDO DA TESE.



ISSN 1988-7833
editor@revistacontribuciones.com

DECLARAÇÃO

CONTRIBUCIONES A LAS CIENCIAS SOCIALES, ISSN 1988-7833, declara para os devidos fins, que o artigo intitulado Alleviation of cadmium toxicity by improving antioxidant defense mechanism and photosyntetic pigments in Clitoria fairchildiana R.A Howard seedlings through foliar application of 5-ALA de autoria de Vitor Resende do Nascimento, Evelyn Luane Pinheiro de Figueiredo, Leticia Roberta Melo Monteiro, Vitoria Luiza dos Passos, Lilian Tatiana Costa Barros, Raphael Leone da Cruz Ferreira, Glauco André dos Santos Nogueira, Cândido Ferreira de Oliveira Neto, foi publicado no v.18, n.1, de 2025.

A revista é on-line, e os artigos podem ser encontrados ao acessar o link:

<https://ojs.revistacontribuciones.com/ojs/index.php/clcs/issue/view/51>

DOI: <https://doi.org/10.55905/revconv.18n.1-423>

Por ser a expressão da verdade, firmamos a presente declaração.

Curitiba, 28 janeiro 2025.

Equipe Editorial

