



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CAMPUS LAGOA DO SINO
ENGENHARIA AGRONÔMICA

**FITORREMEDIAÇÃO POR PLANTAS DO GÊNERO *Brassica* A PARTIR DO USO
DE FITORREGULADORES**

Estudante: Mayra Dhaiane Cabral da Silva

Buri – SP
2021

Mayra Dhaiane Cabral da Silva

**FITORREMEDIAÇÃO POR PLANTAS DO GÊNERO *Brassica* A PARTIR DO
USO DE FITORREGULADORES**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Engenharia
Agrônômica para obtenção do título de
Bacharel em Engenharia Agrônômica.

Prof. Orientador: Daniel Baron

Buri – SP
2021

Silva, Mayra Dhaiane Cabral da

Fitorremediação por plantas do gênero Brassica a partir do uso de fitorreguladores / Mayra Dhaiane Cabral da Silva -- 2021.

71f.

TCC (Graduação) - Universidade Federal de São Carlos, campus Lagoa do Sino, Buri

Orientador (a): Daniel Baron

Banca Examinadora: Daniel Baron, Cláudia Marisse dos Santos Rotta, José Hilton Bernardino de Araújo

Bibliografia

1. Brassinosteróide. 2. Fitotoxidez. 3. Metais pesados. I. Silva, Mayra Dhaiane Cabral da. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática (SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Lissandra Pinhatelli de Britto - CRB/8 7539

MAYRA DHAIANE CABRAL DA SILVA

**FITORREMEDIAÇÃO POR PLANTAS DO GÊNERO *BRASSICA* A PARTIR DO
USO DE FITORREGULADORES**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como requisito parcial à
obtenção do título de Bacharel em
Engenharia Agrônômica pela
Universidade Federal de São Carlos.

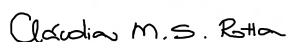
Aprovado em: **13/05/2021**

BANCA EXAMINADORA

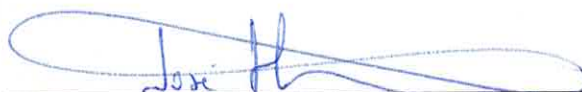


Prof. Dr. Daniel Baron
Docente do Centro de Ciências da Natureza
UFSCar - Campus Lages do Sul

Dr. Daniel Baron (Orientador)
Universidade Federal de São Carlos (UFSCar)



Dra. Cláudia Marisse dos Santos Rotta
Universidade Federal de São Carlos (UFSCar)



Dr. José Hilton Bernardino de Araújo
Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR)

DEDICATÓRIA

A Deus, por ser essencial em minha vida.

Ao meu esposo, pelo carinho, paciência, e auxílio durante a graduação.

A minha família, meu bem mais precioso, por todo o apoio e incentivo que me foi dado durante esta etapa tão importante da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por estar sempre presente na minha vida, principalmente nos momentos difíceis, guiando os meus passos e os meus pensamentos, abençoando o meu caminho, iluminando a minha vida e me concebendo saúde e força para superar e vencer mais esta batalha.

Agradeço aos meus queridos pais Osvaldo e Davina, meus irmãos Marcos e Mariane, e toda a minha família, pelo apoio durante esta etapa da minha vida. Em especial, minha mãe, que sempre esteve no meu lado nas horas difíceis e nos momentos felizes da minha vida, sempre muito amiga, atenciosa e dedicada.

Agradeço ao meu esposo Clayton, meu grande amigo e amor da minha vida, por todo apoio, companheirismo, paciência, carinho, dedicação e incentivo durante toda a faculdade e em todos os momentos. Sempre prestativo e não mediu esforços em me ajudar na realização deste sonho.

Agradeço as minhas amigas de faculdade Giovanna Barbará, Flaviane Veiga e Marcela Munhoz, por me ajudarem nos trabalhos e projetos acadêmicos e também por todas as alegrias, tristezas, conversas e os momentos vividos juntos nessa caminhada, os quais levarei por toda a vida.

Agradeço à Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) *campus* Lagoa da Sino (município de Buri/SP), e aos professores e funcionários desta instituição que contribuíram para que esta etapa da minha vida se concretizasse.

Agradeço o meu professor e orientador Dr. Daniel Baron pela paciência, coerência, clareza e dedicação em suas orientações e ensinamentos, sempre disposto a atender minhas necessidades e dúvidas. Uma pessoa a quem sempre terei um enorme respeito e consideração por tudo àquilo que fez por mim na vida acadêmica.

Agradeço aos membros titulares da banca examinadora Prof^a Claudia Marisse dos Santos Rotta e Prof. José Hilton Bernardino de Araújo e aos membros suplentes Prof^a Anne Alessandra Cardoso Neves e Prof. Nelson Consolin Filho, que aceitaram prontamente o convite para participar da banca do Trabalho de Conclusão de Curso.

Agradeço aos membros do Grupo de estudo “Pesquisa e Extensão em Fisiologia Vegetal” (PExFisio), em especial ao membro Gabriel Bortoloti e Samuel Baldin pelo apoio. Com certeza obtive muito conhecimento teórico-prático, os quais foram de extrema importância para minha formação.

Agradeço a todos que de uma forma ou outra me ajudaram e contribuíram para mais esta conquista.

“Na natureza nada se cria, nada se perde, tudo se transforma”

(A. Lavoisier)

RESUMO

CABRAL-SILVA, Mayra Dhaiane. **Título:** Fitorremediação por plantas do gênero *Brassica* a partir do uso de fitorreguladores. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Federal de São Carlos, *campus* Lagoa do Sino, Buri, 2021.

A contaminação do solo por metais pesados tornou-se um problema ambiental mundial agravado pelo aumento de atividades antrópicas. O acúmulo de metais pesados nos ambientes de cultivo torna-se cada vez mais frequente e preocupante, pois estes são altamente tóxicos no sistema solo-planta-atmosfera. A descontaminação de metais pesados do solo pode ser realizada através da fitorremediação, uma estratégia promissora para ‘limpar’ o solo, por meio do uso de vegetais. Para a aplicabilidade da fitorremediação, a escolha da ‘planta ideal’ deverá levar em conta a espécie vegetal que possua crescimento rápido, elevado acúmulo de biomassa e raízes profundas em seu tecido vegetal. Espécies vegetais pertencentes à família botânica Brassicaceae, especificamente pertencentes ao gênero botânico *Brassica*, são descritas na literatura com potencial fitorremediador por tolerarem o excesso de metais pesados, a partir do aumento da atividade enzimática, aminoácidos totais, produção de osmoprotetores, quelatização de metais. Embora a literatura indique que as ‘brássicas’ possam acumular e tolerar o excesso de metais em sua parte aérea, o crescimento e desenvolvimento das plantas poderá sofrer reduções e efeitos adversos. Desta forma, a adoção de metodologias sustentáveis para contornar a fitotoxicidade, por exemplo, o uso de fitorreguladores, torna-se um potencial candidato a fim de estimular a absorção de poluentes e sua tolerância. Um dos fitorreguladores, amplamente estudados, são os brassinosteroides (BRs), que podem aliviar o estresse oxidativo e aumentar o sistema de defesa antioxidante de plantas sob estresse. Com base na hipótese sobre o efeito do fitorregulador 24-epibrassinolídeo (EBL) no metabolismo primário de vegetais pertencentes ao gênero botânico *Brassica*, objetivou-se no presente trabalho compilar informações publicadas sobre o potencial fitorremediador de metais pesados por ‘brássicas’, adotando metodologia aplicada com a leitura crítica de publicações recentes, realizando a triagem dos resumos. A aplicação exógena de EBL evitará danos no metabolismo de espécies brássicas fitorremediadoras de metais pesados. Porém estudos são necessários para elucidação da edição gênica no aprimoramento do potencial fitorremediador. Diante das medidas restritivas

impostas pela pandemia COVID-19, as quais suspenderam as atividades presenciais no *campus* Lagoa do Sino e nos demais *campi* Universitários, o presente trabalho de conclusão de curso apresenta-se redigido em formato de artigo de revisão bibliográfica para futura submissão em periódico científico de elevado fator de impacto.

Palavras-chave: *Brassica*; brassinosteróide; fitotoxidez; metais pesados.

ABSTRACT

CABRAL-SILVA, Mayra Dhaiane. **Title:** Phytoremediation by plants of the brassica genus from the use of phytohormones. 2021. Course Completion Work - Federal University of São Carlos, Lagoa do Sino *campus*, Buri, 2021.

Contamination of the soil by heavy metals has become a global environmental problem aggravated by increased anthropic activities. The accumulation of heavy metals in cultivation environments becomes increasingly frequent and worrying, as these are highly toxic in the soil-plant-atmosphere system. The decontamination of heavy metals from the soil can be carried out through phytoremediation, a promising strategy to 'clean' the soil, through the use of vegetables. For the applicability of phytoremediation, the choice of the 'ideal plant' should take into account the plant species that has rapid growth, high biomass accumulation, and deep roots in its plant tissue. Plant species belonging to the botanical family *Brassicaceae*, specifically belonging to the botanical genus *Brassica*, are described in the literature with phytoremediator potential for tolerating excess heavy metals, from the increase in enzymatic activity, total amino acids, production of osmoprotectants, metal chelation. Although the literature indicates that 'brassicas' can accumulate and tolerate excess metals in their aerial part, plant growth and development may suffer reductions and adverse effects. Although, the adoption of sustainable methodologies to circumvent phytotoxicity, for example, the use of phytohormones, becomes a potential candidate to stimulate the absorption of pollutants and their tolerance. One of the phytohormones, widely studied, are brassinosteroids (BRs), which can relieve oxidative stress and increase the antioxidant defense system of plants under stress. Based on the hypothesis about the effect of the phytohormone 24-Epibrassinolide (EBL) on the primary metabolism of vegetables belonging to the botanical genus *Brassica*, the objective of this work was to compile published information on the phytoremediator potential of heavy metals by '*brássicas*', adopting applied methodology with the critical reading of recent publications, performing the screening of abstracts. The exogenous application of EBL will prevent damage to the metabolism of phytoremediation brássic species of heavy metals. However, studies are needed to elucidate gene editing in the improvement of the phytoremediator potential. Given the restrictive measures imposed by the COVID-19 pandemic, which suspended face-to-face activities on the Lagoa do Sino *campus* and on other University campuses, the present course conclusion paper is written in the form of a bibliographic review article for future submission in a scientific journal with high impact factor.

Keywords: *Brassica*; brassinosteroids; phytotoxicity; heavy metals.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estratégias de fitorremediação de espécies do gênero *Brassica*.....36

LISTA DE QUADRO

Quadro 1. Plano de trabalho de execução das atividades referentes ao Trabalho de Conclusão de Curso da discente Mayra Dhaiane Cabral da Silva.70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estudos sobre fitoextração de diferentes metais pesados com as espécies *Brassica napus* L. e *Brassica juncea* L.....37

Tabela 2. Avaliação do comprimento de radículas dos genótipos de *B. napus*. L. tolerantes ao Cd. Adaptado de Zhang e colaboradores (Zhang et al., 2018).....42

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. OBJETIVO.....	15
3. HIPÓTESE.....	15
4. JUSTIFICATIVA PARA ESCOLHA DO TEMA DE ESTUDO.....	16
5. MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
5.1 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO.....	17
6. ARTIGO DE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
RESUMO.....	22
1. INTRODUÇÃO.....	24
2. GÊNERO <i>BRASSICA</i>	25
2.1 IMPORTÂNCIA DO GÊNERO E CENTRO DE ORIGEM.....	25
2.2 POTENCIAL DE TOLERÂNCIA A METAIS PESADOS.....	26
3. SISTEMAS ANTIOXIDATIVOS NA TOLERÂNCIA A METAIS PESADOS.....	27
3.1 ENZIMAS ANTIOXIDANTES.....	27
3.2 AGENTES QUELANTES.....	29
3.3 ÁCIDOS ORGÂNICOS.....	29
3.3.1. Fitoquelatinas (PCs).....	30
3.3.2 Metalotioneínas (MTs).....	31
4. ABSORÇÃO E TRANSLOCAÇÃO DE METAIS PESADOS.....	32
5. ESTRATÉGIAS DE FITORREMEDIAÇÃO.....	33
5.1 FITOVOLATILIZAÇÃO.....	33
5.2 FITOESTABILIZAÇÃO.....	34
5.3 FITOEXTRAÇÃO.....	35
6. EFEITOS DOS METAIS PESADOS NA FISIOLOGIA DE BRÁSSICAS.....	38
6.1 FOTOSSÍNTESE.....	38

6.2	BIOMASSA DA RAIZ E FOLHA	39
6.2.1	Análise de crescimento da raiz	40
6.3	ABORDAGEM GENÉTICA PARA MELHORAR A TOLERÂNCIA DE METAIS PESADOS EM <i>BRASSICA</i>	40
6.3.1	Genes candidatos na atividade de desintoxicação de metais pesados....	41
6.4	PROTEÍNAS EXPANSINAS	43
6.5	PROTEÍNAS CAXs	43
7.	ESTRATÉGIAS PARA CONTORNAR OS EFEITOS NOCIVOS DOS METAIS PESADOS EM <i>BRASSICA</i>	44
7.1	POTENCIAIS FITORREGULADORES NA FITORREMEDIAÇÃO.....	45
8.	FITORREGULADOR 24-EPIBRASSINOLÍDEO (EBL): ALGUNS ESTUDOS DE CASO	46
9.	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS	48
10.	DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSE	49
11.	CONTRIBUIÇÃO(ÕES) DE CADA UM DOS AUTORES DESTE ARTIGO DE REVISÃO	49
12.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
	APÊNDICES.....	67
	APÊNDICE 1: LIMITAÇÕES DAS ATIVIDADES PRESENCIAIS IMPOSTAS PELA PANDEMIA DA COVID-19.....	67
	APÊNDICE 2: CRONOGRAMA DE ATIVIDADES E SEU PLANO DE TRABALHO	68

1. INTRODUÇÃO

O acúmulo de metais pesados no solo torna-se cada vez mais frequente e, em grande concentração, torna-se preocupante, pois, refere-se à elementos químicos não-essenciais ao desenvolvimento vegetativo. A lista de metais pesados nocivos aos vegetais inclui o chumbo (Pb), cromo (Cr) e cobre (Cu), em que estes apresentam baixa mobilidade, acumulando-se na superfície dos solos, enquanto os metais zinco (Zn), manganês (Mn), níquel (Ni) e, principalmente, cádmio (Cd) possuem elevada mobilidade, apresentando maior risco de contaminação ao sistema solo-planta-atmosfera (SHEPPARD & THIBAUT, 1992; KHAN et al., 2017; NAVARRO-LEÓN et al., 2019).

A presença de metais pesados em solos agrícolas, por exemplo o Cd, não é desejada, o que obriga os produtores rurais buscarem informações sobre técnica(s) sustentável(i)s e eventual(is) tecnologia(s) de baixo custo, eficiente(s) e ecologicamente aplicada(s) na descontaminação de poluentes. Entre as tecnologias atualmente disponíveis, a fitorremediação emprega sistemas vegetais fotossintetizantes com objetivo de descontaminar ambientes degradados ou poluídos (MAHAR et al., 2016; AZHDARPOOR, 2019) e entre as especificidades desta biotecnologia, a literatura indica a fitovolatilização, fitoestabilização e fitoextração, (KUSHWAHA et al., 2018).

Estudos recentes reportam que espécies vegetais pertencentes à família botânica Brassicaceae, especificamente as plantas do gênero botânico *Brassica*, são descritas na literatura com potencial remediador de contaminantes abióticos (SHAHEEN et al., 2015; COJOCARU et al., 2016; KAUR et al., 2017; ZHANG et al., 2018). Embora essas plantas possuam aptidão como fitorremediadoras, capazes de armazenar entre 10 a 500 vezes mais metais, ou seja, as plantas hiperacumuladoras tem o potencial de acumular ou tolerar altíssimas concentrações de metais em seus caules e folhas, tais como $> 10.000 \text{ mg kg}^{-1}$ de Zn e Mn; $> 1.000 \text{ mg kg}^{-1}$ de Pb, Ni e Cu; $> 100 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cd (RASKIN et al., 1994), do que as espécies 'não-fitorremediadoras' (SAAD et al., 2018). Reportagens científicas apontam que estes vegetais apresentam desequilíbrio em seu metabolismo, ao acumularem maiores concentrações de metais pesados do que o tolerado (FOYER; NOCTOR, 2005; WRZACZEK; BROSCHE; KANGASJÄRVI, 2013; WU, Z. et al., 2017; KUSHWAHA et al., 2018).

Além do mais, em que pese as plantas do gênero *Brassica* possuírem elevadas concentrações e/ou atividade de enzimas antioxidantes responsáveis por combater as espécies reativas de oxigênio (EROs), a presença de Cd acarretará prejuízos à atividade enzimática (ZONG et al., 2017; DU et al., 2020). Diante disso, torna-se necessário o aprimoramento do potencial fitorremediador destes vegetais, a fim de que sejam mitigados eventuais efeitos morfofisiológicos acarretados pelo Cd. Entre as alternativas descritas na literatura, a aplicação exógena de fitorreguladores apresenta-se como opção em promover benefícios ao desenvolvimento vegetal (TANG et al., 2016; LIU et al., 2019).

Os fitorreguladores são essenciais para a manutenção do metabolismo normal das células vegetais e se apresentam como benéficos às plantas em potencializarem a tolerância aos efeitos deletérios acarretados pelos metais pesados (YAO et al., 2016; DABROWSKA et al., 2017; DENG; CAO, 2017). Além disso, os fitorreguladores induzem a ativação da adenosina tri fosfatase (ATPase) na membrana plasmática e, em seguida, promovem a regulação dos carreadores proteicos no transporte de água e íons, os quais resultarão em benefícios para inúmeros processos fisiológicos. Por exemplo, estímulo da atividade de enzimas antioxidantes, especialmente àquelas que atuam na defesa do maquinário fotossintético e crescimento vegetal, assim, poderá ocorrer alívio efetivo do estresse dos metais pesados (ADERHOLT et al., 2017; GRUZNOVA et al., 2018).

2. OBJETIVO

Compilar informações publicadas sobre o atual 'estado-da-arte' do potencial fitorremediador de metais pesados por 'brássicas' com o auxílio de alternativa(s) sustentável(eis).

3. HIPÓTESE

Efeito de fitorregulador no metabolismo primário de vegetais pertencentes ao gênero botânico *Brassica*.

H0 = A aplicação exógena fitorregulador não evitará danos no metabolismo de brássicas fitorremediadoras de metais pesados.

H1 = A aplicação exógena de fitorregulador evitará danos no metabolismo de brássicas fitorremediadoras de metais pesados.

4. JUSTIFICATIVA PARA ESCOLHA DO TEMA DE ESTUDO

Os artigos de revisão científica são uma fonte riquíssima de informações, atuais e catalogadas ao longo do tempo, os quais apresentam o ‘estado-da-arte’ sobre um determinado tema/assunto. Seguramente, o uso dos referidos materiais será útil para acadêmicos de graduação e pós-graduação, nas mais diversas áreas do conhecimento e, além disto, desempenham um papel crucial na transferência da informação para os não especialistas (FIGUEIREDO, 1990).

Em nossa revisão bibliográfica, a fitorremediação apresentou-se como um tema de estudo promissor. A fitorremediação é uma técnica que utiliza plantas como agentes remediadores (KUSHWAHA et al., 2018) em ambientes contaminados com metais pesados não-essenciais, a partir de sua desintoxicação saudável e sustentável. Além disso, esta prática pode ser utilizada em solos agrícolas contaminado bem como qualquer solo que possua contaminação de metais não-essenciais (AZHDARPOOR, 2019). Assim, a fitorremediação apresenta diferentes estratégias de remoção de metais pesados, por exemplo, o acúmulo destes nas raízes e parte aéreas do vegetal (MAHAR et al., 2016; SHEORAN et al., 2016).

Para a aplicabilidade da fitorremediação, a escolha da ‘planta ideal’ deverá levar em conta a espécie vegetal que possua crescimento rápido, alto acúmulo de biomassa e raízes profundas (SHEORAN et al., 2016; MAYEROVA et al., 2017). As plantas pertencentes ao gênero *Brassica* são indivíduos que realizam a fitorremediação de componentes tóxicos, ou seja, acumulam e toleram grandes quantidades dos metais pesados, tornando-se interessantes modelos de estudo em periódicos científicos de elevado impacto na comunidade científica.

Diante das projeções de que a população mundial de seres humanos continuará em constante crescimento até o ano de 2050, surge a necessidade em se reduzir os possíveis impactos ambientais (ALCANTARA, 2017). Exemplos práticos do potencial da fitorremediação no Brasil são abundantes, por exemplo, casos como o do município de Mariana/MG, com repercussão nacional e internacional, em que o rompimento da barragem de rejeitos de mineração no ano de 2015 acarretou em expressivo agravamento da contaminação do solo com Pb, Cr, Cd, entre outros.

Dessa forma, a proposta de redigir a monografia de TCC em formato de artigo de revisão compilou o que há de mais atual publicado na literatura referente as estratégias de fitorremediação de metais pesados por espécies do gênero botânico *Brassica*.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

Nosso levantamento bibliográfico levou em consideração publicações de periódicos científicos internacionais, com elevado fator de impacto, obtidos por meio da Plataforma CAFe (Comunidade Acadêmica Federada, site: <http://www-periodicos-capes-gov-br.ez1.periodicos.capes.gov.br/>).

As principais bases de dados consultadas foram **Scientific Eletronic Library Online** - **Scielo**[®] (<https://scielo.org/>); **Google Acadêmico**[®] (<https://scholar.google.com.br/schhp?hl=pt-PT>); **Scopus**[®] (<https://www-scopus.ez1.periodicos.capes.gov.br/search/form.uri?display=basic#basic>); **Science Direct**[®] (<https://www-sciencedirect.ez1.periodicos.capes.gov.br/>).

Dessa forma, adotamos a metodologia de Barros e Lehfeld (BARROS e LEHFELD, 1997), ao realizarmos leitura crítica de publicações recentes. Na busca de conteúdos sobre os temas abordados no trabalho, diagnosticamos que a literatura reporta a combinação dos seguintes termos:

- (i) 'absorção iônica' (*ionic uptake*);
- (ii) 'brassica';
- (iii) 'fitorremediação' (*phytoremediation*);
- (iv) 'metais pesados' (*heavy metals*);
- (v) 'translocação' (*translocation*);
- (vi) 'brassinosteroides' (*brassinosteroids*);
- (vii) 'crescimento vegetativo' (*plant growth*);
- (viii) 'metabolismo vegetal' (*plant metabolism*),
- (ix) reguladores de crescimento vegetal (*plant growth regulators*).

Ao 'filtrar' o levantamento bibliográfico pela característica 'ano', especialmente entre 2015 a 2021, utilizamos duas 'combinações' dos termos elencados acima. Assim, foram recuperados diversos artigos publicados, como por exemplo, combinações '*phytoremediation*' and '*brassica*', os quais totalizaram 1.331

publicações; '*phytoremediation*' and '*brassinosteroids*', totalizam 89 publicações; '*phytoremediation*' and '*plant growth*' totalizaram 5.308 publicações; '*plant metabolism and brassinosteroids*' totalizaram 1449 artigos.

Diante desse elevado número de publicações recuperadas, selecionamos as publicações científicas (artigos originais, artigos de revisão, comunicações científicas e boletins técnicos) com maior relevância/destaque no tema principal do TCC. Evidentemente, optamos por selecionar para leitura apenas os artigos/periódicos que reportaram achados científicos com relação direta ao nosso temário de estudo. Na referida triagem de artigos científicos, consideramos a abordagem experimental, conteúdos referentes às terminologias científicas e, posteriormente, as informações foram sintetizadas, de forma que estas possibilitassem seu emprego, ou não, para a temática do estudo.

Para a formatação do TCC utilizamos a orientação da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), especificamente a 'NBR 6028 (Resumos)', 'NBR 6023 (informação e documentação: referência e elaboração)', 'NBR 6027 (informação e documentação: sumário: apresentação)' e 'NBR 10520 (informação e documentação: citações em documentos)'.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADERHOLT, M.; VOGELIEN, D.L.; KOETHER, M.; GREIPSSON, S. Phytoextraction of contaminated urban soils by *Panicum virgatum* L. enhanced with application of a plant growth regulator (BAP) and citric acid. **Chemosphere**, v. 175, p. 85 - 96, 2017.

ALCANTARA, H. G. **Fitorremediação de solos contaminados por metais pesados**. 2017. 46 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia Ambiental, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2017.

AZHARPOOR, A; ROSTAMI, S. The application of plant growth regulators to improve phytoremediation of contaminated soils: A review. **Chemosphere**, v. 220, p. 818-827, 2019.

BARROS, A. J. S. e LEHFELD, N. A. S. **Fundamentos de Metodologia: Um Guia para a Iniciação Científica**. 2 ed. São Paulo: Makron Books, 1997.

COJOCARU, P; GUSIATIN Z. M; CRETESCU, I. Phytoextraction of Cd and Zn as single or mixed pollutants from soil by rape (*Brassica napus*). **Environmental Science and Pollution**, v. 23, p. 10693- 10701, 2016.

DABROWSKA, G., HRYNKIEWICZ, K., TREJGELL, A., BAUM, C., 2017. The effect of plant growth promoting rhizobacteria on the phytoextraction of Cd and Zn by *Brassica napus* L. *Int. J. Phytoremediation*, v. 19, p. 597–604, 2017.

DENG, Z., CAO, L. Fungal endophytes and their interactions with plants in phytoremediation: a review. *Chemosphere*, v. 168, p. 1100–1106, 2017.

DU, J. et al. Screening of Chinese mustard (*Brassica juncea* L.) cultivars for the phytoremediation of Cd and Zn based on the plant physiological mechanisms. *Environmental Pollution*, v. 261, p. 114213, 2020.

FIGUEIREDO, Nice. **Da importância dos artigos de revisão da literatura**. Revista Brasileira de Biblioteconomia e Documentação, São Paulo, v. 23, n. 1/4, p. 131-135, 1990.

FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant, Cell and Environment*, v. 28, p. 1056–1071, 2005.

GRUZNOVA, K. A.; BASHMAKOV, D. I.; MILIAUSKIEN, J.; DUCHOVSKIS, P.; LUKATKIN, A.S. The effect of a growth regulator Ribav-Extra on winter wheat seedlings exposed to heavy metals. *Zemdirbyste*, v. 105, p. 227–234, 2018.

KAUR, R. et al. Co-application of 6-ketone type brassinosteroid and metal chelator alleviates cadmium toxicity in *B. juncea* L. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 24, n. 1, p. 685–700, 2017.

KHAN, M.A.; KHAN, S.; KHAN, A.; ALAM, M. Soil contamination with cadmium, consequences and remediation using organic amendments. *Environmental Science and Pollution*, v. 601, p. 1591–1605, 2017.

KUSHWAHA, A.; RANI, R.; KUMAR, S.; GAUTAM, A. Heavy metal detoxification and tolerance mechanisms in plants: implications for phytoremediation. *Environment International*, v. 24, p. 1-70, 2018.

KUSHWAHA, A.; RANI, R.; KUMAR, S.; GAUTAM, A. Heavy metal detoxification and tolerance mechanisms in plants: implications for phytoremediation. *Environment International*, v. 24, p. 1-70, 2018.

LIU, Y. N.; XIAO, X. Y.; GUO, Z. H. Identification of indicators of giant reed (*Arundo donax* L.) ecotypes for phytoremediation of metal-contaminated soil in a non-ferrous mining and smelting area in southern China. *Ecological Indicators*, v. 101, n. September 2018, p. 249–260, 2019.

MAHAR, A.; WANG, P.; AMJAD, A.; AWASTHI, K.M.; LAHORI, H.A.; WANG, Q.; RONGHUA, L.; ZHANG, Z. Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: A review. *Ecotoxicology and environmental safety*, v. 126, p. 111-121, 2016.

MARCONI, M. de A.; LAKATOS, E. M. **Fundamentos de metodologia científica**. 6. ed. São Paulo: Atlas, p. 315, 2007.

MAYEROVA, M.; PETROVA, S.; MADARAS, M.; SIMON, T.; VANEK, T. Non-enhanced phytoextraction of cadmium, zinc, and lead by high-yielding crops. **Environmental Geochemistry and Health**, v.24, p. 14706–14716, 2017.

NAVARRO-LÉON, E. et al. Tolerance to cadmium toxicity and phyto remediation potencialof there *Brassica rapa* CAx1a tulling mutants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 189, 2020.

RASKIN, I.; KUMAR, PBA. N.; DUSHENKOV, S.; SALT, D.E. Bioconcentration of heavy metals by plants. **Current opinions in Biotechnology**, v.5, p.285-290, 1994.

SAAD, R.B.; HSOUNA, A.B.; SAIBI, W.; HAMED, K.B.; BRINI, F.; GHNEIM-HERRERA, T. A stress-associated protein, LmSAP, from the halophyte *Lobularia maritima* provides tolerance to heavy metals in tobacco through increased ROS scavenging and metal detoxification processes. **Journal of Plant Physiology**. v. 231, p. 234 - 243, 2018.

SHAHEEN, S.M., RINKLEBE, J. Phytoextraction of potentially toxic elements by Indian mustard, rapeseed, and sunflower from a contaminated riparian soil. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 37, p. 953–967, 2015.

SHEORAN, V.; SHEORAN, A.S.; POONIA, P. Factors Affecting Phytoextraction: A Review. **Pedosphere**, v. 26 p. 148 -166, 2016.

TANG, L.; LUO, W.; TIAN, S.; HE, Z.; STOFFELLA, P.J.; YANG, X. Genotypic differences in cadmium and nitrate co-accumulation among the Chinese cabbage genotypes under field conditions. **Scientia Horticulturae**, v, 201, p. 92-100, 2016.

VOLPATO, G. L. **Dicas para redação científica**. 3 ed. revisada e ampliada. São Paulo: Cultura Acadêmica, p. 152, 2010.

WRZACZEK, M., BROSCHE, M.; KANGASJÄRVI, J. ROS signaling loops — production, perception, regulation. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 16, p. 575–582, 2013.

WU, Z. et al. Comparative responses to silicon and selenium in relation to antioxidant enzyme system and the glutathione-ascorbate cycle in flowering chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *utilis*) under cadmium stress. **Environmental and Experimental Botany**, v.133, 1-11, 2017.

YAO, A., WANG, Y., LING, X., CHEN, Z., TANG, Y., QIU, H., YING, R., QIU, R. Effects of an iron-silicon material, a synthetic zeolite and an alkaline clay on vegetable uptake of As and Cd from a polluted agricultural soil and proposed remediation mechanisms. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 39, p. 353–367, 2016.

ZHANG, R.R.; LIU, Y.; XUE, W.L.; CHEN, R.X.; DU, S.T.; JIN, C.W. Slow-release nitrogen fertilizers can improve yield and reduce Cd concentration in pakchoi (*Brassica chinensis* L.) grown in Cd-contaminated soil., **Journal of Plant Physiology**, p. 1-10, 2018.

ZONG, H., et al. Improvement in cadmium tolerance of edible rape (*Brassica rapa* L.) with exogenous application of chitooligosaccharide. **Chemosphere**, v. 181, p. 92-100, 2017.

6. ARTIGO DE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Conforme estabelecido pelo Projeto Pedagógico do Curso de Bacharelado em Engenharia Agrônômica (PPC, 2016 – link de acesso: https://www.lagoadosino.ufscar.br/cursos/arquivos/ppcs/ppc_engenharia_agronomic_a_2018_07.pdf), no item 9.4.2. Regulamento do Trabalho de Conclusão de Curso, “*um trabalho acadêmico pode ser monográfico ou de pesquisa o qual poderá ter tema inédito ou advir de pesquisa realizada pelo estudante, no âmbito de sua iniciação científica ou elaborar uma monografia a partir de situações-problema que por ventura vivencie no campo de estágio*”.

Considerando o atual cenário da pandemia causada pela COVID-19 e as justificativas apresentadas anteriormente ao longo deste TCC, redigimos o trabalho de conclusão de curso na modalidade “artigo de revisão” com os atuais avanços intelectuais, conforme as normas de publicação da revista de alto impacto ‘*Plant Physiology and Biochemistry*’.

Aplicação de fitorreguladores para maximizar a fitorremediação de metais pesados em *Brassica*: uma revisão

Mayra Dhaiane Cabral Silva^a, Gabriel Antonio Bortoloti^a, Daniel Baron^a

^aLaboratory of Plant Physiology and Biochemistry, Natural Science Center (CCN), Federal University of São Carlos (UFSCar) Lagoa do Sino *campus* CP-094, 18290-000, Buri, São Paulo State, Brazil

RESUMO

Nas últimas décadas, a contaminação do solo por metais pesados tornou-se um problema ambiental mundial, agravada principalmente, por atividades antrópicas como mineração, descarte de resíduos urbanos de forma inapropriada e aplicação incorreta de minerais e fertilizantes fosfatados em campos agrícolas, uma vez que esses poluentes são considerados tóxicos, especialmente para vegetais, animais e para a saúde humana. A fitorremediação é uma técnica que utiliza plantas como agentes remediadores, de modo que, ao cultivá-las em ambientes contaminados por esses poluentes, ocorrerá a desintoxicação do local, de maneira sustentável. A literatura reporta que espécies pertencem ao gênero *Brassicapodem* expressar respostas bioquímicas a partir da reprogramação dinâmica da transcrição de genes relacionados ao mecanismo de proteção e desintoxicação. Diante disso, nosso objetivo foi apresentar os mais recentes avanços sobre o potencial de uso do fitorregulador 24-Epibrassinolídeo (EBL) nos mecanismos fisiológicos de tolerância a metais pesados de 'brássicas', tais como abordagem genética, enzimas antioxidantes, quelatização de metais pesados, ácidos orgânicos fitoquelatinas (PCs), metalotioneínas (MTs), absorção e translocação de metais pesados expressos por vegetais em diferentes estratégias de fitorremediação (fitovolatilização, fitoestabilização e fitoextração). Nossa hipótese investigou que a aplicação do fitorregulador EBL não evitará danos ao metabolismo primário de vegetais pertencentes ao gênero botânico *Brassica*. Diante das evidências científicas reportadas em nossa presente revisão bibliográfica, refutamos a nossa hipótese de nulidade e aceitamos a hipótese alternativa de que a aplicação exógena de EBL evitará danos no metabolismo de espécies brássicas fitorremediadoras de metais pesados. Estudos adicionais são necessários para elucidação de outros fatores possivelmente associados à espécies vegetais fitorremediadoras, tais como edição gênica para aprimoramento do potencial fitorremediador.

Palavras-chave: *Brassica*; metais pesados; fitorremediação; estresse oxidativo.

Application of phyto regulators to maximize the phytoremediation of heavy metals in *Brassica*: a review

Mayra Dhaiane Cabral Silva^a, Gabriel Antonio Bortoloti^a, Daniel Baron^a ^aLaboratory of Plant Physiology and Biochemistry, Natural Science Center (CCN), Federal University of São Carlos (UFSCar) Lagoa do Sino campus CP-094, 18290-000, Buri, São Paulo State, Brazil

ABSTRACT

In the last decades, soil contamination by heavy metals has been a global environmental problem, aggravated mainly by anthropic activities such as mining, improper disposal of municipal waste and incorrect application of phosphate minerals and fertilizers in agricultural fields, since these pollutants are considered toxic, especially for vegetables, animals and human health. Phytoremediation is a technique that uses plants as remediating agents, so that by growing them in environments contaminated by these pollutants, detoxification of the site will occur in a sustainable way. The literature reports that species belong to the genus *Brassica*, can express biochemical responses from the dynamic reprogramming of the transcription of genes related to the mechanism of protection and detoxification. Therefore, our objective was to present the latest advances on the potential use of phyto regulator 24-Epibrassinolide (EBL) in the mechanisms of tolerance to heavy metals in the physiology of brassicas, such as genetic approach, antioxidant enzymes, heavy metal quelatization, phytochelatin, organic acids (PCs), metallothioneins (MTs), absorption and translocation of vegetable-expressed heavy metals in different phytoremediation strategies (phytovolatilization, phytostabilization and phytoextraction). Our hypothesis investigated that the application of the EBL will not prevent damage to the primary metabolism of vegetables belonging to the botanical genus *Brassica*. We refute our hypothesis nullity and we accept the alternative hypothesis that the exogenous application of EBL will avoid damage to the metabolism of phytoremediation brássic species of heavy metals. Further studies are needed to elucidate other possibly associated factors, such as gene editing for enhancement of the phytoremediator potential.

Keywords: *Brassica*; heavy metals; phytoremediation; oxidative stress.

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a contaminação do solo por metais pesados tem sido um problema ambiental mundial, principalmente por conta do aumento das atividades antrópicas, como mineração (Antoniadis et al., 2017; Shaheen et al., 2015), bio-sólidos não-tratados (lodo de esgoto), descarte de resíduos urbanos de forma inapropriada, como baterias de níquel-cádmio (Ni-Cd), ligas metálicas e revestimentos anticorrosivos (Rostami: Azdarpoor, 2019; Chaves; Souza, 2014), bem como aplicação incorreta de minerais e fertilizantes fosfatados em áreas agricultáveis agrícolas, os quais aumentam progressivamente o nível de metais pesados no solo (Chen et al., 2020) em corpos hídricos e/ou que percolam para o lençol freático (Clemens, 2016).

O acúmulo do metal pesado Cd, por exemplo, torna-se cada vez mais frequente e preocupante. Esse metal é classificado como um dos metais mais tóxicos, especialmente para vegetais e animais, devido a sua ampla disseminação em ambientes naturais dada a sua elevada mobilidade no sistema solo-planta-atmosfera (Navarro-León et al., 2020; Khan et al., 2017; Clemens, 2016). Além de problemas ambientais, os metais pesados são potencialmente tóxicos para a saúde humana, podendo afetar órgãos vitais, como pulmões, rins e fígados (Chen et al., 2020; Khafaga et al., 2019; Azhdarpoor et al. 2015).

A fitorremediação é uma técnica que utiliza plantas como agentes remediadores, de modo que, ao cultivá-las em ambientes contaminados com metais pesados não-essenciais aos vegetais, promoverá a desintoxicação e limpeza dos mesmos, de maneira sustentável e ecologicamente correta (Rostami, Azhdarpoor, 2019; Parseh et al., 2018). De acordo com a literatura, algumas espécies vegetais (*Brassica* spp.) possuem seu centro de origem em climas semiáridos e expressam respostas bioquímicas sob condições de estresses abióticos (Bhatia et al., 2020; Zhang et al., 2014). Além disso, a reprogramação dinâmica da transcrição de genes relacionados ao mecanismo de proteção e desintoxicação são expressos em por espécies pertencentes ao gênero *Brassica*, entretanto, estudos específicos sobre a relação entre genes candidatos na fitorremediação neste gênero ainda são escassos (Pandey; Ramegowda; Senthil-Kumar, 2015).

A literatura reporta que espécies vegetais hiperacumuladoras apresentam bioacumulação e translocação de metais pesados elevados e, conseqüentemente,

menor redução na produção de biomassa quando expostas ao estresse por metais pesados (Chaudhry et al., 2020). Assim, espécies vegetais pertencente aos gênero *Brassica* tornam-se um modelo interessante de estudo para a fitorremediação de metais pesados (Rizwan et al., 2018), incluindo-se Cd (Chen et al., 2020; Du et al., 2020; Navarro-Léon et al., 2020; Rizwan et al., 2018), Zn (Chaudhry et al., 2020; Belouchrani et al., 2016), Cu (Zaheer et al., 2015; Chigbo; Batty; Bartlett, 2013) e Pb (Gurajala et al., 2019; Lim; Salido; Butcher, 2004).

O presente artigo apresenta os mais recentes avanços sobre o potencial de uso do fitorregulador 24-Epibrassinólídeo (EBL) nos mecanismos de tolerância a metais pesados na fisiologia de brássicas revisa o potencial fitorremediador de metais pesados por brássicas, uma vez que as reportagens científicas afirmam que este vegetal possui complexo mecanismo de defesa e potencialidade em hiperacumular metais pesados em seus tecidos. Nossa hipótese investigou que a aplicação do fitorregulador 24-epibrassinólídeo (EBL) não evitará danos ao metabolismo primário de vegetais pertencentes ao gênero botânico *Brassica*.

2. GENÊRO *BRASSICA*

2.1 IMPORTÂNCIA DO GÊNERO E CENTRO DE ORIGEM

O gênero *Brassica* é o mais importante da família botânica Brassicaceae (Pua; Douglas, 2004). Possui notório interesse agrônômico a partir de sua utilização na produção de “adubo-verde”, forrageiras, biocombustíveis, óleos como a canola (*Brassica napus* L.) e a mostarda (*Brassica juncea* L.), e hortícolas, tais como a couve-flor (*Brassica oleraceae* var. *botrytis*), repolho (*Brassica oleraceae* var. *capitata*), couve-de-bruxelas (*Brassica oleraceae* var. *gemmifera*) e nabo (*Brassica rapa* subsp. *rapa*) (Chikkaputtaiah et al., 2017; Fu et al., 2016).

As espécies deste gênero encontram-se distribuídas em locais de clima-árido e semiárido, principalmente no Hemisfério Norte, com maior centro de diversidade na região geográfica ‘irano-turaniana’, que se estende pela Síria, Irã, nordeste do Afeganistão, além do norte do Iraque e partes do Líbano, Jordânia e Israel (Sharma, Li, and Lim 2014; Colacino 1998; Al-Shehbaz 1984). Além disso, nessa região de origem das espécies, ocorrem condições naturais de salinidade do solo, déficit hídrico, elevadas temperaturas, entre outros (Bhatia et al., 2020; Zhang et al., 2014).

2.2 POTENCIAL DE TOLERÂNCIA A METAIS PESADOS

A ampla maioria dos estudos sobre metais pesados em espécies de *Brassica* investigou o efeito de alguns elementos não essenciais, principalmente Cd e Pb, e alguns elementos essenciais, tais como Cu e Zn no desenvolvimento vegetal. Ressalta-se que, independente se o metal é essencial, ou não, ao metabolismo vegetal, quantidades excessivas destes podem acarretar danos aos processos morfofisiológicos e bioquímicos (Thakur et al., 2016; Bhargava et al., 2012).

Uma vasta quantidade de investigações científicas foram publicadas sobre a performance de algumas espécies brássicas. Hernandez-Allica e colaboradores (Hernandez-Allica et al., 2008) publicaram um excelente estudo a respeito da tolerância aos metais pesados de diferentes espécies (incluindo diversas variedades de *B. campestris*, *B. rapa*, *B. napus*, *B. oleracea* e *B. carinata*) e confirmaram o elevado nível de tolerância destas aos metais Zn, Pb e Cd. De acordo com Purakayastha e colaboradores (Purakayastha et al., 2008), ao analisarem a capacidade de fitorremediação de cinco espécies diferentes (*B. juncea*, *B. campestris*, *B. carinata*, *B. napus* e *B. nigra*) a quatro metais pesados (Zn, Cu, Ni e Pb) concluíram que *B. carinata* apresentou melhor desempenho em relação ao Zn, Ni e Pb. Portanto, essa espécie se apresentou como candidata com potencial de fitorremediação superior as demais espécies, principalmente *B. juncea*, tradicionalmente considerada tolerante. Em relação ao Cu, a espécie *B. juncea* apresentou maior absorção desse metal, comparada às demais espécies.

Em seu estudo com plantas de *B. napus*, sob condições de cultivo em solo contaminado com metais pesados (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn), Brunetti e colaboradores (Brunetti et al., 2011) relataram que o acúmulo de diferentes metais foi mais elevado na parte aérea do que na parte radicular, como é típico de uma espécie vegetal acumuladora. Já Parveen e colaboradores (Parveen et al., 2015), estes autores avaliaram dez cultivares de *B. juncea* para determinar o potencial de extração de Cd. Embora a performance dos vegetais aos parâmetros avaliados tenha sido semelhante, algumas cultivares apresentaram maior tolerância ao Cd do que outras. Já Gill e colaboradores (Gill et al., 2015) também avaliaram o desempenho de quatro cultivares de *B. napus* contra o estresse de Cr e encontraram diferenças significativas em suas capacidades de tolerância.

Park e colaboradores (Park et al., 2012) estudaram a adequação do uso de *B. napus* para fins de fitorremediação e possibilidade de aproveitamento do óleo obtido de plantas cultivadas em sítios contaminados. Esses autores relataram que a maioria dos metais pesados restantes ficaram retidos nos resíduos do processo de extração do petróleo. Isso poderia tornar a fitorremediação um processo mais lucrativo ao vinculá-la à valorização econômica.

Já Navarro-Léon et al. (2020), em seu trabalho de tolerância à toxicidade de Cd e potencial de fitorremediação de três mutantes de *B. rapa*, mostraram que o mutante *BraA.cax1aa* obteve maior capacidade de absorção de Cd, embora apenas o mutante *BraA.cax1a-12* seja útil à fitorremediação, o qual registrou maior tolerância ao Cd. Essa tolerância ocorre pelo maior acúmulo de Ca e Mg, à manutenção do desempenho da fotossíntese, à desintoxicação de EROs e às concentrações elevadas de malato.

3. SISTEMAS ANTIOXIDATIVOS NA TOLERÂNCIA A METAIS PESADOS

As espécies vegetais *B. juncea*, *B. rapa* e *B. napus* apresentam mecanismos para tolerar o excesso de Cd (Rizwan et al. 2018; Zhang et al., 2018; Sharmila et al., 2017; Verma et al., 2013). Entre os principais mecanismos listamos o aumento da atividade enzimática, aminoácidos totais, produção de osmoprotetores, e compartimentação de Cd em componentes celulares biologicamente 'inativos', tais como a parede celular (Rizwan et al., 2018; Jinadasa et al., 2016; Wang et al., 2015) e vacúolo (Kaur et al., 2017; Lv et al., 2017).

Já, ao verificarmos estresses específicos por metais pesados, diferentes estratégias fitorremediadoras incluem enzimas antioxidantes, secreção ácidos orgânicos e quelantes, como as fitoquelatinas e metalotioneínas, aumento da absorção e transporte destes metais pesados para as partes aéreas (Pinto; Aguiar; Ferreira, 2014).

3.1 ENZIMAS ANTIOXIDANTES

Os metais pesados induzem o estresse oxidativo em tecidos vegetais, acarretando a superprodução de espécies reativas de oxigênio (EROs). Entre os radicais livres são listados o ânion radical hidroxil ($\cdot\text{OH}$), ânion superóxido (O_2^-) e

peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Saad et al., 2018; Amari et al., 2017). As EROs também são geradas pela presença de íons Pb^{2+} , como a ativação de NADPH oxidase, deslocamento de grupos protéticos de várias enzimas e inibição da atividade de enzimas que contêm enxofre e hidrogênio (grupos-SH) (Singh et al., 2020).

Os mecanismos de desintoxicação enzimática em plantas incluem principalmente superóxido dismutase (SOD; EC 1.15.1.1), peroxidase (POD; EC 1.11.1.7) e catalase (CAT; EC 1.11.1.6). Essas enzimas antioxidantes desempenham papéis relevantes contra o estresse oxidativo, atuam na primeira linha de defesa e mantêm a homeostase redox. Em outras palavras, a SOD remove o oxigênio singlete (O_2^-), libera H_2O_2 e O_2 . Já a CAT é uma enzima associada à dismutação de H_2O_2 em H_2O e O_2 e a POD elimina o H_2O_2 do cloroplasto e do citossol das células vegetais (Kushwaha et al., 2018; Das e Roychoudhury, 2014; Gill et al., 2011).

No estudo com *B. juncea* sob estresse de Cu, Wang e colaboradores (Wang et al., 2004) relataram diminuição da atividade enzimática da CAT, enquanto na mesma espécie vegetal, John e colaboradores (John et al., 2009), também relataram aumento da atividade de SOD e diminuição de CAT, com aumento da toxicidade na presença de Cd e Pb. No artigo anterior, a toxicidade induzida perdurou por até 60 dias e uma diminuição geral da atividade enzimática também foi observada para os períodos mais longos e sob maiores concentrações (300 mg/kg Cd e 500 mg/kg Pb).

Nouairi e colaboradores (Nouairi et al., 2009) também detectaram um aumento na atividade da CAT com o aumento da concentração de Cd em plantas de *B. juncea*, embora o efeito em *B. napus* tenha sido o oposto. Em contrapartida, um estudo de toxicidade de Cr em plantas *B. juncea* e *B. napus* a atividade CAT apresentou redução (Zaimoglu et al., 2011). Recentemente, a publicação de Chen e colaboradores (Chen et al., 2020) revela que, em solos contaminados com Cd e U às atividades de POD e CAT, *B. juncea* foram capazes de manter níveis mais elevados em comparação com outros tratamentos de reguladores vegetais. O aumento das atividades POD e CAT pode contribuir para a eliminação do O_2^- e atuar como resposta adaptativa ao maior estresse de Cd e U nas folhas.

3.2 . AGENTES QUELANTES

A molécula do quelante é utilizada para potencializar a absorção mineral (Fedotov et al., 2012) e, conseqüentemente, a limpeza de solos contaminados (Meers et al., 2008). Esse processo disponibiliza o seu íon com menor atividade química, para formar um complexo, ligada a outro íon de metal pesado, reduzindo, assim, sua fitotoxicidade potencial. Em outras palavras, a quelatização é formada pela ligação de um íon que possui, no mínimo, dois átomos ligantes a uma molécula dotada de diferentes átomos disponíveis para esta ligação, a exemplo do enxofre (S), nitrogênio (N) ou oxigênio (O) (Ozyigit; Can; Dogan, 2020; Pál; Janda; Szalai, 2018).

Tanto raízes, quanto microrganismos da rizosfera, são responsáveis por liberarem ácidos orgânicos de baixo peso molecular a fim de aumentar a solubilidade de nutrientes por acidificação e formação de complexos orgânicos. Entre os exsudatos de raiz, uma faixa extensiva de ácidos pode ser encontrada, como ácido acético, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido málico, ácido cítrico, ácido propílico e ácido láctico. Esses metabólitos funcionam como agentes quelantes naturais, capazes de solubilizar metais pesados (Wasay et al., 1998). A formação de complexos quelato/metais previne a precipitação e a adsorção dos metais e mantém sua disponibilidade para absorção pelas plantas.

3.3 . ÁCIDOS ORGÂNICOS

Os ácidos orgânicos são moléculas que exercem proteção contra o estresse de metais pesados (Haydon et al., 2017). Ao contrário de outros efeitos, um aumento nos níveis de citrato apresenta-se universalmente descrito como uma resposta a diferentes metais em espécies de *Brassica*, por exemplo, *B. oleracea* cultivadas sob estresse de Zn (Keunen et al., 2013). Já Barrameda-Medina e colaboradores (Barrameda-Medina et al., 2014), justificaram a tolerância das folhas a este estresse dado o aumento dos teores de malato (facilitaria o transporte de Zn para as folhas) e à manutenção de altos teores de citrato (complexaria o metal para sequestrá-lo e estocagem no vacúolo ou simplesmente para proteger a célula do Zn livre). Este ácido orgânico é importante na manutenção da homeostase dos íons metálicos.

A compartimentalização no vacúolo e a complexação por fitoquelatinas e metalotioninas no citoplasma são os mecanismos mais importante relacionados com

a tolerância das plantas a metais (Nascimento et al., 2009). As espécies brássicas com maior potencial de fitorremediação podem sintetizar essas moléculas para auxiliar na absorção e transporte de íons de metais pesados (PINTO; AGUIAR; FERREIRA, 2014; SHAH; DAVEREY, 2020).

3.3.1. Fitoquelatinas (PCs)

As fitoquelatinas são pequenos peptídeos com estrutura geral $(\gamma\text{-Glu-Cis})_n\text{-Gli}$, com n que variam de 2 a 11 e participam da defesa contra a toxicidade de metais pesados. Ao sequestrarem íons metálicos nos vacúolos, ocorrerá redução das concentrações de metais pesados livres do citosol, a partir do transporte do complexo PC-metal (Mohamed et al., 2012; Cobbett & Goldsbrough, 2002). Assim, a sua síntese é catalisada pela fitoquelatina sintetase (PCs), ao utilizar a glutationa (GSH) como substrato. Por fim, os genes *PCS* são expressos constitutivamente, entretanto, há maior indução da expressão gênica sob a presença de metais pesados, como As, Cd, Cu, Hg, Pb e Zn (Filiz et al., 2019).

Gasic e Korban (Gasic; Korban, 2007) desenvolveram uma *B. juncea* transgênica que expressa o gene *AtPCS1* em plantas de *Arabidopsis thaliana* L., a qual codifica a enzima PCS. Os mesmos autores observaram que a expressão desse gene promoveu maior tolerância destas plantas ao Cd e Zn, mas não elevaram o acúmulo desses metais no tecido vegetal. No entanto, o aumento da tolerância ao Cd só foi confirmado para a concentração de 100 μM (em si uma concentração elevada). Segundo os autores, isso poderia ser explicado pela toxicidade dos níveis excessivos de fitoquelatinas ou a outro tipo de toxicidade no processamento dos complexos Cd-PC. Por outro lado, o aumento da formação de PC esgotou o *pool* de GSH, o que poderá limitar a tolerância das plantas transgênicas.

Gadapati e Macfie (Gadapati; Macfie, 2016) também compararam os efeitos do estresse do Cd em *B. juncea* e *B. napus*. De acordo com seus resultados, *B. juncea* acumulou mais PCs nas raízes, enquanto *B. napus* acumulou nas folhas. Os autores concluíram que outros fatores, além das concentrações de PC, devam existir para explicar as diferenças observadas, tais como a produção e utilização de cisteína ou a capacidade de transportar complexos de Cd-PC para o vacúolo.

Em reportagem publicada por Sun e colaboradores (Sun et al. 2020), estes autores observaram, a partir da análise de fragmentos de cDNA da PC, que o metal pesado Cd induziu a produção de fitoquelatinas em plântulas da *Brassica parachinensis* variedade 'Lvba0-701', principalmente na região radicular. Após a quelatização, os metais pesados podem ser estocados em partes inativas das células radiculares, com destaque ao vacúolo ou exportados para a parte aérea, via xilema (PINTO; AGUIAR; FERREIRA, 2014). Vários outros estudos relatam a indução da síntese de PC sob estresse por metais pesados, confirmando que esta é uma importante estratégia de tolerância de plantas do gênero *Brassica* (Filiz et al., 2019; Ahn et al., 2012; Zaier et al., 2010).

3.3.2 Metalotioneínas (MTs)

As metalotioneínas são peptídeos ricos em cisteína de baixo peso molecular que originam ligação com os íons metálicos, como Cu, Cd e Zn, a fim de atenuar os efeitos tóxicos a partir da ativação do sistema de defesa antioxidante, regulação de metaloenzimas e transcrição gênica (Yu; Lin; Zhang, 2019), reconhecidas por terem um papel importante na desintoxicação de metais pesados em plantas (Hassinen et al., 2011). Em 1997, Schaëfer e colaboradores (Schaëfer et al., 1997) não relataram aumento nas quantidades de transcrição para MT2 em plantas de *B. juncea* sob estresse de Cd e Cu, indicando que MT não era relevante na tolerância desta espécie a metais pesados.

A fim de elucidar o papel desses peptídeos, Ahn e colaboradores (Ahn et al., 2016), analisaram o efeito de diferentes metais pesados na expressão de três genes de *B. rapa* pertencentes à família gênica *MT* (*BrMT1*, *BrMT2* e *BrMT3*). O efeito de alguns elementos minerais essenciais (Fe, Cu, Zn e Mn) na expressão desses três genes foi altamente dependente dos metais estudados e do período de tempo considerado. Assim, o gene *BrMT1* apresentou elevada expressão e, em que estes metais foram considerados como um promotor de estresse múltiplo.

Em plântulas de *Brassica campestris* var. *chinensis* Makino, Han e colaboradores (Han et al., 2008) forneceram diferentes dosagens de Cd e Cu em sua investigação científica e observaram que a expressão do gene *BcMT₁* foi induzida por tratamentos com Cd ou Cu, enquanto o gene *BcMT₂* foi induzido apenas pelo fornecimento de Cd. Isto sugere que as MTs estão relacionadas a

desintoxicação destes metais pesados. Já em plântulas de *B. napus* expostas à As, Pan e colaboradores (Pan et al., 2018) encontraram resultados semelhantes na expressão de genes da família *MT* sob disponibilidade de As^{3+} , em que o gene *BnaMT3C* auxiliou a indução de melhores respostas ao estresse gerado pelo metal pesado. Dentro deste contexto, acredita-se que o maior acúmulo de metais pesados no vegetal está relacionado à produção dos ácidos orgânicos e variação genética das espécies.

4. ABSORÇÃO E TRANSLOCAÇÃO DE METAIS PESADOS

A penetração dos metais pesados nas raízes, oriundos do solo, ocorre por meio da via simplástica (simplasto conectado entre células vizinhas) e/ou via apoplástica, entre os espaços livres da parede celular (Shah; Daverey, 2020; Liu et al., 2011). Após a penetração dos elementos químicos, o processo de absorção de íons de metais pesados pelas plantas ocorre após, inicialmente, estes ao menos apresentarem-se ligeiramente solúveis na solução do solo (Shah; Daverey, 2020; Sheoran; Sheoran; Poonia, 2016). Clemente e colaboradores (Clemente et al., 2005) avaliaram o uso de *B. juncea* para fitoextração em um local 'multi-contaminado' (principalmente contaminado com Zn, Cu e Pb), com e sem aditivos (esterco de vaca e composto). Os autores concluíram que o crescimento da planta e a absorção de metal eram altamente dependentes do pH do solo (Xue et al., 2012). A literatura reporta que a absorção de metais pesados não ocorre somente em função de sua biodisponibilidade na solução do solo, mas também pela toxicidade do metal (Nasir et al., 2018).

A translocação desses íons metálicos ocorre pelos vasos xilemáticos e, desta forma, a pressão negativa gerada no xilema pelo fluxo de transpiração do vegetal determina a movimentação de metais pesados que, posteriormente, podem ser acumulados nos órgãos superiores (Rubio et al., 2020; Pinto; Aguiar; Ferreira, 2014). A compreensão da movimentação de metais pesados é de interesse para a fitorremediação, pois algumas técnicas, como a fitovolatilização e fitoextração, exigem a transferência de metais pesados da região radicular para a parte aérea dos vegetais (Shah; Daverey, 2020; Pinto; Aguiar; Ferreira, 2014).

5. ESTRATÉGIAS DE FITORREMEDIAÇÃO

A presença de metais pesados no solo, por exemplo, o Cd, Zn, Pb e Cu origina-se por diferentes vias, as quais incluem o ar, o próprio solo, águas subterrâneas e superficiais, além da aplicação de defensivos agrícolas e fertilizantes. Em estudo da companhia ambiental do estado de São Paulo (CETESB, 2007), a presença desses metais em elevadas concentrações refere-se especificamente, para o Cd ($0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ peso seco), Zn (60 mg kg^{-1} peso seco); Pb (17 mg kg^{-1} peso seco) e Cu (35 mg kg^{-1} peso seco). Valores reportados a partir destes obriga os produtores rurais buscarem técnicas sustentáveis e protocolos metodológicos para retirar esses metais de áreas agricultáveis. Na ampla maioria das vezes, as opções de remediação de áreas contaminadas retringem-se a escavação, remoção e substituição do solo. De certo modo, considera-se relativamente complexo a sua execução, todavia a fitorremediação por plantas torna-se uma estratégia acessível e sustentável para contornar a contaminação dos solos (Ashraf et al., 2019).

A fitorremediação é uma estratégia promissora para 'limpar' o solo (Kushwaha et al., 2018), capaz de empregar sistemas vegetais fotossintetizantes com objetivo de desintoxicar ambientes degradados ou poluídos (Mahar et al., 2016), acumulando os metais pesados nas raízes e parte aéreas do vegetal (Mahar et al., 2016; Sheoran et al., 2016). As estratégias mais investigadas e elucidadas são (i) fitovolatilização; (ii) fitoestabilização e (iii) fitoextração (Ali; Khan; Sajad, 2013; Da Silva et al., 2018; Sarwar et al., 2017), que estão descritas abaixo e melhor elucidado na Figura 1. Estratégias de fitorremediação de espécies do gênero *Brassica*.

5.1 FITOVOLATILIZAÇÃO

Refere-se à capacidade de espécies vegetais absorverem e converterem um poluente em formas voláteis e menos tóxicas e, a partir da transpiração vegetal, liberarem estes poluentes na atmosfera (Kumari et al., 2020; Wang et al., 2012). Segundo Moreno e colaboradores (Moreno et al., 2008), a espécie *B. juncea* acumulou o metal pesado mercúrio (Hg^2) em seu sistema radicular e, posteriormente, o liberou para a atmosfera na forma de vapor (Hg^0). Nesta mesma

espécie vegetal, a literatura também indica que há acúmulo de selênio (Se) na raiz e sua posterior liberação na atmosfera (Di Gregorio et al. 2006).

Embora alguns autores indiquem que a fitovolatilização não contribua com o aumento da concentração dos poluentes na atmosfera por conta da forma que estes contaminantes são expostos a degradação natural (ex.: fotodegradação), a referida técnica não é um fim em si, pois apenas transfere o metal pesado do substrato para a atmosfera, sem que se haja o controle sobre sua migração para outras áreas (Cristaldi et al., 2017; Wang et al., 2012; Padmavathiamma; Li 2007). O metal pesado liberado na atmosfera pode precipitar e contaminar novamente o meio, ou seja, é uma técnica considerada de 'efeito momentâneo' (Sarwar et al., 2017; Ali; Khan; Sajad, 2013).

5.2 FITOESTABILIZAÇÃO

A fitoestabilização é uma estratégia que utiliza plantas para converter metais e metalóides em formas menos móveis e reduzir a biodisponibilidade de metais pesados no solo a partir da sorção, precipitação, complexação ou alteração da valência do metal na região da rizosfera (Sarwar et al., 2017; Ali; Khan; Sajad, 2013; Abreu et al., 2010). Esta técnica tem se mostrado eficiente em solos contaminados por Pb, As, Cd, Cr, Cu e Zn (Kumar Yadav et al., 2018). Visconti e colaboradores (Visconti et al., 2020), ao avaliarem a eficiência de *B. juncea*, em solos contaminados com As, Cd, Pb e Zn e concluíram que esta espécie possui alta eficiência na fitoestabilização dos metais As, Cd e Pb. Este mesmo estudo apresenta uma bioferramenta inovadora, ao avaliar o 'Fator de Translocação' (FT) de metais pesados.

O FT é calculado pelo teor de metal pesado da parte aérea dividido pelo teor de metal pesado das raízes; tem por finalidade de avaliar a habilidade da planta em translocar o metal pesado das raízes para as partes aéreas (Marchiol et al., 2004). Visconti e colaboradores (Visconti et al., 2020) chegaram à conclusão que valores inferiores de FT ($FT < 1,0$) possuem menor habilidade de translocar metais pesados das raízes para as partes aéreas do vegetal e, desta forma, plantas com esta performance metabólica poderão ser mais eficientes na fitoimobilização de metais pesados na rizosfera (Feigl et al., 2016). Diferente das outras técnicas de fitorremediação, a fitoimobilização não tem por função a remediação dos

contaminantes do solo, mas, sim, aumentar o acúmulo ou precipitação destes metais pesados na região da rizosfera, com o intuito de reduzir a contaminação do meio próximo (Mahar et al., 2016).

5.3 FITOEXTRAÇÃO

As plantas utilizadas para a fitoextração devem apresentar elevada taxa de crescimento, maior produção de biomassa, maior capacidade em hiperacumular metais pesados e respostas fisiológicas eficientes do metabolismo de defesa (Cristaldi et al., 2017; Sarwar et al., 2017; Mahar et al., 2016). Esses vegetais são utilizados para transferir os contaminantes aos órgãos vegetais 'coletáveis', removendo metais da matriz do solo (Rizwan et al., 2016; Tack e Meers, 2010; Meers et al., 2005). Deste modo, a eficiência dessa estratégia depende de fatores relacionados ao solo, como o pH, capacidade de troca catiônica (CTC), potencial de redução e textura do solo, biodisponibilidade do metal pesado e de fatores associados as características da espécie vegetal (Sheoran; Poonia, 2016; Ali; Khan; Sajad, 2013).

Geralmente, os metais pesados se encontram associados às superfícies carregadas negativamente de partículas argilosas, orgânicas e aos precipitados insolúveis como hidróxidos, carbonatos e fosfatos, por ligações covalentes (Sposito, 1989). O equilíbrio iônico no solo baseia-se nas forças de adsorção e o sistema aquoso é que torna disponíveis os íons metálicos para o sistema radicular das plantas. Esse tipo de adsorção é fortemente dependente do valor de pH, e responsável pela retenção de uma maior quantidade de metais que a troca de cátions (Alloway e Ayres, 1997). Diversas espécies vegetais apresentam aptidão para fitoextrair metais pesados do ambiente e, entre estas, a literatura indica as espécies do gênero *Brassica* (Sarwar et al., 2017).

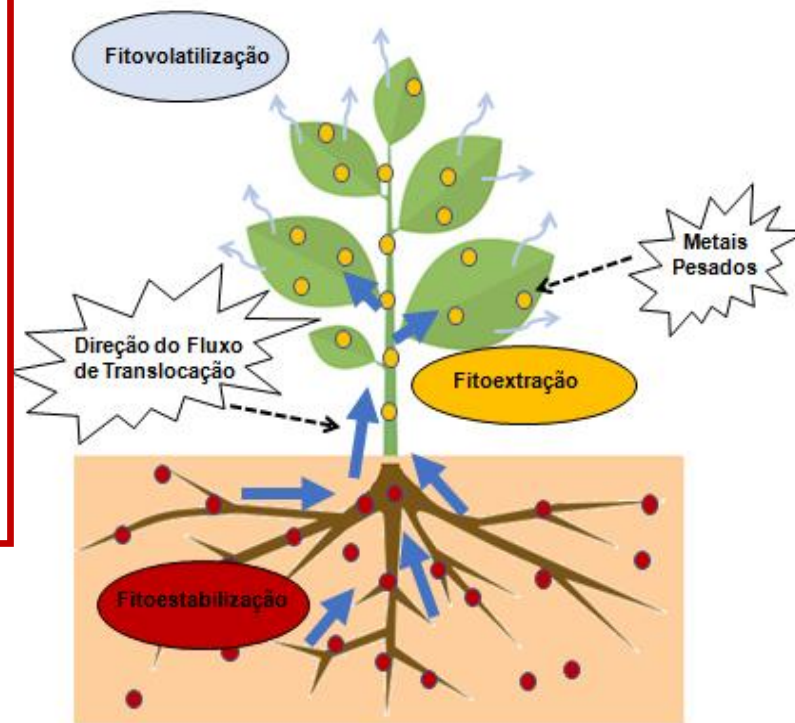
Figura 1. Estratégias de fitorremediação de espécies do gênero *Brassica*.

Fitovolatilização

- Absorção e conversão dos poluentes em formas menos tóxicas;
- Liberação dos poluentes na atmosfera a partir da transpiração;
- Técnica utilizada para poluentes orgânicos e inorgânicos;
- *B. juncea* acumula Hg em seu sistema radicular e, libera para a atmosfera na forma de vapor (Hg^0).
- O metal pesado liberado na atmosfera pode precipitar e contaminar novamente o meio,
- Técnica com efeito temporário.

Fitoestabilização

- Redução da mobilidade e biodisponibilidade de metais pesados no solo;
- Técnica eficiente em solos contaminados por Pb, As, Cd, Cr, Cu e Zn;
- Espécie *B. juncea* possui alta eficiência na fitoestabilização dos metais As, Cd e Pb,
- Aumento do acúmulo ou precipitação de metais pesados na região da rizosfera.



Fitoextração

- Remove metais da matriz do solo;
- Depende de características químico-físicas do solo;
- Espécies do gênero *Brassica* apresentam aptidão para fitoextrair metais pesados
- As plantas apresentam:
 - maior taxa de crescimento,
 - maior produção de biomassa e
 - maior capacidade de hiperacumular metais pesados.

Fonte: S.B. Nogueira & M. D. C. Silva.

Brunetti e colaboradores (Brunetti et al., 2011) em seu estudo com plantas de *B. napus* que investigaram solos contaminados com Cr, Cu, Pb e Zn, disponibilizados via resíduos sólidos urbanos (RSU), relataram que seriam necessários mais de 1000 anos para limpar um local contaminado. Outros estudos confirmam que demandariam centenas ou milhares de anos para a limpeza completa de locais altamente contaminados. A literatura reporta que, dentre as estratégias de fitorremediação, a fitoextração é considerada como a estratégia mais importante e mais utilizada devido a capacidade de espécies vegetais absorverem, transportarem e acumularem metais pesados em estruturas aéreas dos vegetais, principalmente nas partes destinadas a colheita (Sarwar et al., 2017; Sheoran; Sheoran; Poonia, 2016). Desta forma a Tabela 1 aborda alguns estudos que reportam a eficiência na utilização de espécies pertencentes ao gênero botânico *Brassica* para fitoextração de metais pesados.

Tabela 1. Estudos sobre fitoextração de diferentes metais pesados com as espécies *Brassica napus* L. e *Brassica juncea* L.

<i>B. napus</i> L.	
Metal Pesado	Referências
Zn	Belouchrani et al. (2016)
Cu	Zaheer et al. (2015)
Cd	Zhang; Xiao; Wu (2020); Zhang et al. (2018)
<i>B. juncea</i> L.	
Metal Pesado	Referências
Zn	Chaudhry et al. (2020); Du et al. (2020)
Cu	Chigbo; Batty; Artlett (2013); Feigl et al. (2015)
Cd	Bhuiyan et al. (2011); Gurajala et al. (2019); Irfan; Ahmad; Hayat (2014); Navarro-León et al. (2020).
Ni	Rodríguez-Vila et al. (2014)
U	Chen et al. (2020).

6. EFEITOS DOS METAIS PESADOS NA FISIOLOGIA DE BRÁSSICAS

A toxicidade por metais pesados ocasiona prejuízos aos vegetais e os efeitos, comumente relatados, são a redução da clorofila (seja pela diminuição na síntese, seja pela degradação das clorofilas já existentes), desbalanço hídrico, fechamento estomático (Maffei; Taiz; Zeiger, 2013), o qual acarreta em desaceleração da taxa de fotossíntese, absorção reduzida de nutrientes minerais essenciais, diminuição do comprimento do caule e redução do crescimento da raiz (Rizwan et al., 2018; Khan et al., 2017; Nagajyoti et al., 2010).

Demais estudos também apontam diminuição no conteúdo de água em plantas com estresse por metais pesados e, portanto, o efeito tóxico dos metais pode ser causado indiretamente, por reduzida absorção de água (Ali et al., 2015; Viehweger 2014). Por exemplo, Zaier e colaboradores (Zaier et al., 2010), relataram que o conteúdo de água das plantas de *B. juncea* diminuiu, drasticamente, sob a toxicidade de Pb, mesmo na referida espécie considerada tolerante. Alguns estudos relataram que açúcares solúveis, prolina e outros aminoácidos podem apresentar um papel protetor, regulando o potencial osmótico e também com um papel de desintoxicação mais direto de espécies reativas de oxigênio (EROs) (Kavi et al., 2013; Keunen et al., 2013; Sharma et al., 2006).

6.1 FOTOSSÍNTESE

A presença de metais pesados, em quantidades tóxicas aos vegetais, é conhecida por afetar a atividade fotossintética (Krantev et al. 2008; Mysliwa-Kurdziel et al., 2004). No estudo comparativo entre *B. napus* e *B. juncea*, sob estresse por Cd, Nouairi e colaboradores (Nouairi et al., 2006), relataram a redução dos lipídios que compõem os cloroplastos com níveis mais elevados de ácidos graxos poliinsaturados dependentes da dose de Cd em *B. napus*, mas não em plantas de *B. juncea*. Em plantas de *B. juncea* foi detectado um aumento nos lipídios da membrana, o que pode levar a um aumento do volume vacuolar, organela em que os metais são normalmente armazenados.

A redução dos pigmentos fotossintéticos e o aparecimento de efeitos de clorose são resultantes, frequentemente, do efeito dos metais pesados ao reduzir a síntese de clorofila (causada pela inibição das respectivas enzimas), aumento da destruição

da clorofila ou absorção de elemento afetado (seja por inibição da absorção ou por competição com outros metais pesados). Outras causas relatadas nos processos fotossintéticos incluem a inibição do ciclo de Calvin (Ali et al., 2016), redução da fixação de CO₂, agregação reduzida de complexos proteicos e danos gerais induzidos por EROs aos cloroplastos (Mobin; Khan, 2010; Nouairi et al., 2006).

Ali e colaboradores (Ali et al., 2016) em plantas de *B. napus* e Ahmad e colaboradores (Ahmad et al. 2017) em plantas de *B. juncea* relataram redução da fotossíntese induzida por estresse de Cd, em que os autores atribuem este efeito pela inibição da síntese de enzimas importantes na formação de clorofila ou ao comprometimento (ou competição) no fornecimento de elementos importantes, como Fe, Mg, Zn e Mn. Entretanto, Baryla e colaboradores (Baryla et al., 2001), em seu estudo de *B. napus* cultivada em solo contaminado com Cd, relataram clorose foliar e afirmaram que este achado ocorre pela interferência do Cd na divisão celular e replicação do cloroplasto.

Ghnaya e colaboradores (Ghnaya et al., 2016) também relataram conteúdo reduzido de clorofila e carotenoides sob estresse de Zn e Cd em plantas de *B. napus* e justificaram seus achados científicos ao verificarem o papel direto da elevada produção de EROs nos referidos efeitos fisiológicos. Além disso, Mobin e Khan (Mobin; Khan, 2015) estudaram o efeito do Cd na atividade fotossintética de duas cultivares de *B. juncea* e confirmaram que o Cd afetou a atividade da RuBisCO e da anidrase carbônica.

6.2 BIOMASSA DA RAIZ E FOLHA

Barrameda-Medina e colaboradores (Barrameda-Medina et al., 2014) relataram redução da biomassa da raiz de plantas de *B. oleracea* sob toxicidade de Zn (500 µM), mas nenhuma mudança na biomassa foliar, porque o Zn, como outros metais pesados, se acumula principalmente nas raízes. Em plantas *B. napus*, Ghnaya e colaboradores (Ghnaya et al., 2009) detectaram biomassa reduzida na raiz, tanto sob estresse de Zn quanto de Cd, em concentrações mais elevadas. Estes autores comprovaram que a maior concentração de Cd (100 mg kg⁻¹) acarretou dano significativo no comprimento da raiz (65%) e da parte aérea (39%); massa fresca da raiz (67%); massa fresca da parte aérea (55%); e por fim massa seca da parte aérea (69%) e massa seca da raiz (65%) em comparação com as plantas de controle.

Além disso, padrão de resultados semelhantes foi detectado em plantas de *B. rapa* cultivadas sob toxicidade de 500 μM Zn (Blasco et al., 2015).

Em suma, a maioria dos estudos apontam que a concentração de metais pesados nas raízes de plântulas de *Brassicac*s são maiores que na parte aérea. Por conta da estratégia vegetal em proteger seus órgãos acima do solo, particularmente células fotossintéticas metabolicamente ativas de danos por metais pesados, haverá o sequestro de grande concentração do metal em vacúolos das células da raiz (Rascio; Navarri-Izzo, 2011).

6.2.1 Análise de crescimento da raiz

Em linhas gerais, os primeiros sintomas visíveis relacionados à toxicidade de metais pesados incluem crescimento atrofiado, redução do crescimento da raiz e mudanças em sua morfologia (Feigl et al., 2013). As raízes são mais afetadas do que as folhas, pois são os órgãos em contato direto com o elemento tóxico. A maioria dos estudos com espécies do gênero *Brassica* relatam crescimento reduzido da raiz sob diferentes metais pesados (John et al., 2009; Ebbs & Kochian, 1997), no entanto, os efeitos fisiológicos são distintos entre os metais. Ebbs e Kochian (Ebbs; Kochian, 1997) relataram que o Cu teve um efeito mais pronunciado no desenvolvimento lateral da raiz do que o Zn. Nouairi e colaboradores (Nouairi et al., 2006) relataram também uma redução no crescimento da raiz e do caule em *B. juncea* e *B. napus* sob estresse de Cd, o que poderá ser ocasionada devido à restrição na absorção de Fe e Mn pela parte aérea.

6.3. ABORDAGEM GENÉTICA PARA MELHORAR A TOLERÂNCIA DE METAIS PESADOS EM *BRASSICA*

Para compreender a genômica dessas plantas acumuladoras de metal, estudos genéticos e dados de bioinformática tornam-se cada vez mais alvo de estudos (Schiessl et al. 2019; Reeves et al. 2017). De maneira notável, o surgimento das ferramentas genômicas facilitaram programas de melhoramento com abordagem altamente eficaz para estudos filogenéticos e evolutivos em *Brassica* spp. (Qiao et al. 2020; Spasibionek et al. 2020; Nadeem et al. 2018).

Diversos estudos possibilitaram melhorias nas características desejáveis da *B. napus* (Afzal et al. 2018; Witzel et al. 2015), como precocidade da floração (Xu et al., 2015), teor de óleo (Liu et al., 2016), características de ângulo de ramo (Sun et al., 2016), tolerância ao sal e características relacionadas (Wan et al., 2017), tais como teor de ácido erúxico, teor de glucosinolato, peso da semente, altura da planta, ramo primário (Li et al., 2016), resistência à quebra de vagens (Raman et al., 2014) e maior acúmulo de metais pesados (Raman et al., 2016).

6.3.1 Genes candidatos na atividade de desintoxicação de metais pesados

A investigação de eventual(ais) gene(s) candidato(s) pode contribuir para melhorar a tolerância de metais pesados à Cd, Zn e Cu por meio da regulação do desenvolvimento da parede celular, quelação de metais, desintoxicação e defesa antioxidante, respectivamente (Xin et al., 2020; Chalhoub et al., 2014).

Nesse sentido, a literatura reporta estudos sobre mapeamento de associação de QTLs tolerantes ao Cd e demais metais pesados. Zhang e colaboradores (Zhang et al., 2018) selecionaram doze genótipos tolerantes ao Cd entre 472 sementes de *B. napus* naturais, coletadas por todo o planeta, conforme Tabela 2. Esses acessos fornecem materiais valiosos para explorar ainda mais o mecanismo de tolerância ao Cd, e auxiliar no desenvolvimento de novas cultivares de *B. napus*.

Navarro-Léon e colaboradores (Navarro-Léon et al., 2019) publicaram um artigo com o enfoque na compreensão do papel de um gene candidato na tolerância de metais pesados. Diante disso, esses autores elencam o gene *HMA4* na tolerância à toxicidade do Cd (100 μM CdCl_2) ao investigar o mutante TILLING de *B. rapa* L. (*BraA.hma4a-3*). As plantas mutantes apresentaram redução da perda de biomassa sob toxicidade de Cd e maior acúmulo de Cd e Zn no tecido foliar, além de aumentar o teor de pigmentos fotossintéticos e redução do estresse oxidativo, bem como melhorar o índice fotossintético. Em conclusão, o estudo afirma que as plantas mutantes *BraA.hma4a-3* podem ser úteis em programas de fitorremediação em solos contaminados com Cd.

Tabela 2. Avaliação do comprimento de radículas dos genótipos de *B. napus*. L. tolerantes ao Cd. Adaptado de Zhang e colaboradores (Zhang et al., 2018).

Identificação do vegetal	Testemunha (cm)	Aplicação de Cd (cm)	CRR (%)
HY NO.18	8,34	6,77	81,20
HY NO.17	7,50	5,23	69,78
FY NO.1	6,60	4,57	69,19
GSB611	7,68	5,30	69,01
P4099	7,88	5,08	64,47
CY NO.2	5,26	3,35	63,76
363	3,41	2,15	63,12
G142	4,75	3,00	63,05
Casion	3,12	1,94	62,33
COMEÇAR	9,44	5,75	60,86
LEDOS	8,99	5,43	60,44
88-4-43-1	3,48	2,10	60,30

*CRR: Comprimento radicular da radícula

Fonte: Adaptado de Zhang et al., 2018.

Em outro recente estudo de Navarro-Léon e colaboradores (Navarro-Léon et al., 2020), os autores reportam que três mutantes de *B. rapa* subsp. *trilocularis* (Roxb.) genótipo *BraA.cax1a-4*, *BraA.cax1a-7* e *BraA.cax1a-12* e a linha parental Ro-18, foram empregadas como material vegetal, o qual foi avaliado a tolerância desses mutantes à toxicidade do Cd e seu potencial fitorremediador. Os resultados revelaram que a mutação *BraA.cax1a-12* apresentou maior tolerância ao Cd, que resultou em elevado potencial para fitorremediação. Além dos genes candidatos, as proteínas expansinas provavelmente estão

envolvidas na tolerância a metais pesados em *Brassicas* spp. e vem sendo muito reportada na literatura.

6.4 PROTEÍNAS EXPANSINAS

As expansinas são proteínas da parede celular que desempenham papéis importantes na regulação da extensibilidade, conhecida como a primeira barreira celular da entrada dos metais pesados (Ali et al. 2013; Zenoni et al., 2004). Essas proteínas medeiam a expansão da parede celular ao quebrarem as ligações covalentes entre microfibrilas de celulose e polímeros na matriz extracelular de uma maneira dependente do pH (Marowa et al., 2016; Cosgrove, 2000). As expansinas estão envolvidas com o crescimento e desenvolvimento vegetal e a adaptação das plantas ao estresse por meio do afrouxamento da parede celular (Zhang et al., 2018; Marowa et al., 2016) e podem ser agrupadas, principalmente, em duas famílias principais, a saber, *EXPA* (α -expansinas) e *EXPB* (β -expansinas). Abordagens atuais corroboram que estas possivelmente apresentam influência na tolerância ao Cd pelos vegetais (Sampedro et al., 2015; Sampedro; Cosgrove, 2005).

Outro alvo potencial de estudos para fitorremediação das plantas são os transportadores CAXs (Baliardini et al., 2015), proteínas reconhecidas como importantes componentes de 'manutenção' do Ca^{2+} celular e da homeostase de metais em organelas celulares (Pittman, 2016; Ueoka-Nakanishi et al. 1999).

6.5 PROTEÍNAS CAXs

A literatura sugere que as proteínas CAXs ('*cation exchangers*' ou transportadores de cátions) possuem um papel importante no transporte de metais pesados no vacúolo (Wu et al., 2011; Korenkov et al., 2007; Mei et al., 2007). Esses carreadores proteicos pertencem à família de transportadores antiportes $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$, localizados no plasmalema, responsável diretamente na homeostase do cálcio (Ca) e em processos de sinalização conduzidos por este elemento químico, limitando o acúmulo de espécies reativas de oxigênio sob estresse do Cd (Pittman; Hirschi, 2016). A expressão de CAX, aprimorada e manipulada laboratorialmente, poderá fornecer tolerância ao estresse por metal através do sequestro vacuolar de Cd^{2+} , Mn^{2+} e Zn^{2+} (Socha; Guerinot 2014; Manohar et al. 2011).

Diante disso, plantas tolerantes a metais que hiperacumulam Cd^{2+} exibem expressão diferenciada de CAX (Zhang et al., 2016; Baliardini et al. 2015). Um transportador semelhante, CAX2, isolado a partir da espécie *Sedum alfredii* Hance, uma planta hiperacumuladora de Zn-Cd, quando expresso em plantas de fumo (*Nicotiniana tabacum* L.) causa aumento a concentração de Cd^{2+} em tecidos vegetais (Zhang et al., 2016). Em plantas de *Arabidopsis halleri* subsp. *halleri* (Pawl.) (planta hiperacumuladora de metais), ao serem cultivadas sob condições de baixa disponibilidade Ca^{2+} , o gene CAX (*AhCAX1*) atenua o estresse por metal (Baliardini et al., 2015). Embora as proteínas CAX sejam um assunto bastante elucidado na literatura especializada, estudos recentes ainda estão em busca de discernir diferentes expressões gênicas, a fim de elucidar o papel exato das proteínas nos processos celulares e fisiológicos em *Brassica* (Pittman; Hirschi, 2016).

7 ESTRATÉGIAS PARA CONTORNAR OS EFEITOS NOCIVOS DOS METAIS PESADOS EM *BRASSICA*

Diferentes práticas de manejo poderão ser adotadas para maximizar a absorção e tolerância de metais pesados. Entre estas práticas, ganha-se destaque a aplicação de reguladores vegetais (Rostami et al., 2016). A aplicação foliar de alguns hormônios poderá auxiliar o vegetal absorver e tolerar a presença de poluentes sem acarretar fitotoxicidez (Liu et al., 2018; Tang et al., 2016), neutralizando os efeitos prejudiciais do estresse por metais pesados.

Os principais motivos pelos quais os reguladores vegetais promovem a absorção de metais pesados nas plantas são categorizados sob dois aspectos. O primeiro destes refere-se à aplicação de fitorreguladores, o qual induz a ativação da ATPase na membrana plasmática e, em seguida, altera os carreadores proteicos de íons (Altabella et al., 1990). O segundo refere-se aos reguladores que atuam nos processos fisiológicos das células vegetais e, em seguida, aliviam efetivamente o estresse dos metais pesados e aumentam a absorção de metais pesados pelas plantas (Gruznova et al., 2018; Aderholt et al., 2017).

A aplicação exógena de diferentes hormônios vegetais como ácido giberélico (GA), ácido abscísico (ABA), ácido salicílico (SA), brassinosteróides (BR), entre

outros mostraram resultados significativos no alívio dos efeitos prejudiciais do estresse. Os hormônios melhoraram, principalmente, o ajuste osmótico (turgescência), seguido do acúmulo de nutrientes e produção de antioxidantes (Hassanuzzaman et al., 2013).

7.1 POTENCIAIS FITORREGULADORES NA FITORREMEDIÇÃO

O GA é um composto diterpenóide e hormônio vegetal que ativa a divisão celular, bem como os processos de alargamento celular, e sua presença geralmente está associada ao início de ambas as fases de crescimento (Mahouachi et al., 2009). A aplicação desse hormônio aumentou significativamente a área foliar e a produção de matéria seca da planta *B. juncea*, aumentando a taxa de fotossíntese, o conteúdo de clorofila e a condutância estomática sob estresse (Siddiqui et al., 2018; Sarwar et al., 2017). Segundo o estudo de Sun e colaboradores (Sun et al., 2013), os tratamentos com GA também tiveram efeitos positivos na produção de crescimento de *T. patula*, bem como na absorção e remoção de Cd, a biomassa seca da parte aérea aumentou entre 23%-55% em comparação com a planta de controle.

O ABA está envolvido em muitos aspectos do crescimento e desenvolvimento vegetal, em que desempenha papéis importantes nas respostas ao estresse (por exemplo, seca, frio ou salinidade). Nas plantas, o aumento do conteúdo de ABA equivale ao aumento dos níveis de resistência (Christmann et al., 2006). Outros estudos revelaram que tratamentos ABA exógenos resultaram na síntese de H₂O₂ e na expressão de genes que codificam enzimas antioxidantes, o que promove em aumento da atividade de enzimas como SOD e CAT (Bellaire et al., 2000; Jiang e Zhang, 2001) e aumento tolerância ao estresse.

No estudo realizado por Shen e colaboradores (Shen et al., 2017), com *Brassica chinensis* var. *purpurea* Hort., plantas sob estresse de Cd tratadas com ABA promoveram melhorias na atividade do sistema enzimático antioxidante, que dismutou EROs e resultou em maior crescimento, pois, para proteger o aparato fotossintético do estresse oxidativo as plantas necessitam dissipar o excesso de energia.

O SA influencia várias funções fisiológicas e bioquímicas nas plantas e atua como uma molécula sinalizadora importante e, além disso, poderá beneficiar diversos efeitos na tolerância ao estresse biótico e abiótico (Wang et al., 2012; Syeed et al., 2011; Arfan et al., 2007; Fariduddin et al., 2003). A aplicação de SA aumentou, significativamente, os níveis de transcrição de expansina B1 em *Brassica rapa* (*BrEXLB1*), enquanto a perda de função de *BrEXLB1* em linhagens transgênicas resultou em sua insensibilidade alterando, assim, o crescimento e desenvolvimento de *B. rapa* (Muthusamy et al., 2020).

Os BRs são esteroides vegetais e pertencem a uma classe composta por mais de 60 moléculas naturais descritas na literatura (Bartwal et al., 2013). Essas substâncias são consideradas reguladoras de crescimento de plantas (Liu et al., 2009) atuam no alongamento e divisão celular (Thussagunpanit et al., 2015), desenvolvimento reprodutivo (Fridman e Savaldi-Goldstein, 2013), síntese de ácidos nucleicos e proteínas (Kim et al., 2012), fotossíntese (Xi et al., 2013) translocação de íons de metal pesado das raízes para a parte aérea, regulando a atividade de microrganismos em solos da rizosfera (Rostami e Azhdarpoor, 2019). Diante disso, a aplicação de BR exógeno pode melhorar o a performance vegetal sob condições de estresse e aumentos significativos nas expressões gênicas ao estimularem os mecanismos de tolerância (Sk Kohli et al., 2018a , 2018b ; Sk Kohli et al., 2017), resultando em mudanças no incremento de biomassa e rendimento (Rao e Dixon, 2017; Sharma et al., 2013). Em suma, a fitorremediação assistida por reguladores de crescimento de plantas foi avaliada como uma nova estratégia para melhorar o potencial de fitorremediação e numerosos estudos relataram o potencial positivo do 24-Epibrassinolide (EBL).

8. FITORREGULADOR 24-EPIBRASSINOLÍDEO (EBL): ALGUNS ESTUDOS DE CASO

Análogo dos hormônios brassinosteróides (BRs), o fitohormônio 24-Epibrassinolídeo (EBL) é uma das formas mais ativas de BRs, com múltiplas funções no metabolismo e aplicações práticas em contextos agrícolas (Yao et al., 2017). Mais especificamente, o EBL contribui para processos fundamentais, incluindo diferenciação vascular (Krishna, 2003), modulação da expressão gênica

(Wang et al., 2011), germinação de sementes (Wu et al., 2015), crescimento de raiz e caule (Mussig et al., 2003), desenvolvimento de frutos, abscisão e maturação (Shu et al., 2016), sendo muitas vezes usado em baixas concentrações (Feijuan et al., 2018).

Vários estudos demonstraram que EBL poderá mitigar estresses bióticos e abióticos, como estresse salino (Dong et al., 2017 ; Wu et al., 2017), herbicidas e pesticidas (Wang et al., 2017 ; Xia et al., 2011), metais pesados (Zhou et al., 2018; Kanwar et al., 2012; Bajguz, 2011), estresse hídrico (Khamsuk et al., 2018; Hu et al., 2013) e temperaturas baixas e altas (Cui et al., 2016 ; Zhang et al., 2013; Hu et al., 2010). Os efeitos listados acima são consequências promovidas pelo EBL em sistemas de defesa antioxidante, fotossíntese, homeostase hormonal, aumento de osmólitos e acúmulo de macronutrientes (Sadura et al., 2019; Jan et al., 2018; Kaur et al., 2018).

Em estudos realizados por Li e colaboradores (Li et al., 2015), os autores postularam que a aplicação de EBL melhorou significativamente a altura da planta, o comprimento da raiz, a massa fresca e seca de *Solanum nigrum* L, sob estresse de Cd. Além disso, o EBL protegeu a clorofila contra o estresse oxidativo e, conseqüentemente, contribuiu para o aumento no teor de clorofila (Bartha et al., 2010). O EBL reduziu o conteúdo de Cd na folhagem de *Cucumis sativus* L. e elucidou o papel vital desta biomolécula na translocação do Cd. A aplicação exógena de EBL melhorou o comprimento da parte aérea, o comprimento da raiz e a produção de biomassa de plantas com estresse de Cd (Wang et al., 2018).

Kohli e colaboradores (Kohli et al., 2019) estudaram os indicadores de estresse e osmoprotetores em plantas de *B. juncea* e relataram que o EBL (0,1 mM) mitigou os efeitos tóxicos sobre O_2^- , H_2O_2 e MDA provocados por três concentrações de Pb, com reduções verificadas de 43%, 36% e 53%, respectivamente. Zhou e colaboradores (Zhou et al., 2018) avaliaram o efeito do pré-tratamento com EBR ($0,10 \text{ mg L}^{-1}$) no dano oxidativo e no metabolismo antioxidante em estacas de *Vitis vinifera* sob estresse de $120 \text{ }\mu\text{M}$ de Cu, obtendo reduções significativas em O_2^- , H_2O_2 e MDA nas raízes e folhas.

Nazir e colaboradores (Nazir et al., 2019) obtiveram aumentos no crescimento de plantas de *Solanum lycopersicum* tratadas com 10^{-8}M EBL e expostas ao Ni (10 mg kg^{-1} de solo). De acordo com Sharma e Bhardwaj (Sharma; Bhardwaj, 2007),

estes autores encontraram resultados semelhantes na biomassa de brotos e raízes em *B. juncea* tratada com 10^{-9} M de EBL e submetida a quatro concentrações de Co (0, 25, 50 e 100 mg kg^{-1} de solo). Zhong e colaboradores (Zhong et al., 2020) descreveram os efeitos positivos da EBL em plantas *Festuca arundinaceae* Schreb., aliviando o estresse de 1000 mg kg^{-1} de Pb no solo e com aumento, significativo, em Chl *a*, Chl *b* e Chl total. Já Kohli e colaboradores (Kohli et al., 2018b) analisaram os efeitos da EBL 10^{-7} mM em *B. juncea* submetida a Pb $0,75 \text{ mM}$ e obtiveram um aumento (166%) no Chl total, o que resultou na melhora da absorção de luz promovida pela EBL. Curiosamente, o mesmo estudo conduzido por Kohli e colaboradores (Kohli et al., 2018b) detectou o aumento de transcritos responsáveis pela produção da clorofilase, enzima degradadora da clorofila, sob a presença de Pb, contudo, após a aplicação da EBL, houve diminuição da expressão deste gene.

Segundo Soares e colaboradores (Soares et al., 2020), o EBL ocasionou superação dos efeitos causados pelo Pb em *Brassica juncea* L, melhorou a taxa de germinação e o crescimento de plântulas mediado pela regulação de enzimas antioxidantes em sementes e plântulas, respectivamente. No estudo de Guedes e colaboradores (Guedes et al., 2021), em plantas de arroz, a aplicação de EBL causou aumentos de clorofila *a* (Chl *a*), clorofila *b* (Chl *b*) e clorofila total (Chl total), assim como incrementos nos teores de nutrientes, mais especificamente Mg no tecido vegetal. O EBL aumentou os teores de Mg e mitigou os danos oxidativos em clorofilas sob a exposição ao Pb. Diante disso, John e colaboradores (John et al., 2009) afirmam que o EBL promoveu melhorias no suprimento de Mg e na relação $\text{Mg}^{2+}/\text{Pb}^{2+}$, necessário à síntese desses pigmentos.

9. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

O estresse por metais pesados altera o crescimento e o desenvolvimento de espécies pertencentes ao gênero *Brassica*, em que influencia a germinação, emergência de plântulas, além de interromper os principais processos fotossintéticos, tais como a cadeia transportadora de elétrons nas membranas dos tilacóides, o ciclo do carbono (ciclo de Calvin-Benson) e o movimento estomático. Por meio das evidências científicas publicados em artigos de pesquisa, compilados em nossa presente revisão bibliográfica,

rejeitamos a hipótese de nulidade (H0) e aceitamos a hipótese científica alternativa (H1) de que a aplicação exógena de 24-Epibrassinolide (EBL) evitará danos no metabolismo de espécies brássicas fitorremediadoras de metais pesados. Ao aceitar a hipótese alternativa evidenciamos, cientificamente, que este fitorregulador ameniza os efeitos deletérios causados pela presença de metais pesados. Sustentamos nossas pressuposições a partir da interpretação de diferentes artigos científicos que reportam a melhora da performance do desenvolvimento vegetativo de brássicas, que incluem estruturas radiculares e atividade enzimática do sistema antioxidante, tais como o ajuste osmótico e absorção de nutrientes. Porém, estudos futuros e tecnologias de edição gênica serão necessários para aprimoramento das características de tolerância à metais pesados. Embora para a maioria das culturas agrônômicas já existam genótipos desenvolvidos por meio das técnicas inovadoras, o uso dessa tecnologia ainda é limitado em *Brassica* spp.

10. DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram que não conhecem interesses financeiros concorrentes ou relações pessoais que possam ter influenciado o trabalho relatado neste artigo.

11. CONTRIBUIÇÃO(ÕES) DE CADA UM DOS AUTORES DESTA ARTIGO DE REVISÃO

MDCS: Contextualização, Metodologia, Investigação, Visualização, Escrita.

GAB: Contextualização, Investigação.

DB: Contextualização, Metodologia, Investigação, Visualização, Escrita.

12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, M. M.; BATISTA, M. J.; MAGALHÃES, M. C. F.; MATOS, J. X., Acid Mine Drainage in the Portuguese Iberian Pyrite Belt. Mine drainage and Related problems. **Nova Science Publishers**, p. 71-118, 2010.

ADERHOLT, M.; VOGELIEN, D.L.; KOETHER, M.; GREIPSSON, S. Phytoextraction of contaminated urban soils by *Panicum virgatum* L. enhanced with application of a plant growth regulator (BAP) and citric acid. **Chemosphere**, v. 175, p. 85 - 96, 2017.

AFZAL, M.; ALGHAMDI, S.; HABIB, U.; RAHMAN, M.; AHMAD, A.; FAROOQ, T.; ALAM, M.; KHAN, I.A.; ULLAH, H.; NASIM, W.; FAHAD, S. Current status and future possibilities of

molecular genetics techniques in *Brassica napus*. **Biotechnology Letters**, v. 40, p. 479–492, 2018.

AHMAD, P.; SARWAT, M.; BHAT, N.A.; WANI, M.R.; KAZI, A.G.; TRAN, L.-S.P. Alleviation of cadmium toxicity in *Brassica juncea* L. (czern. & coss.) by calcium application involves various physiological and biochemical strategies. **Plos One**, v. 10, e0114571, 2017.

AHN, Y.O.; KIM, S.H.; LEE, J.; KIM, H.; LEE, H.-S.; KWAK, S.-S. Three *Brassica rapa* metallothionein genes are differentially regulated under various stress conditions. **Molecular Biology Reports**, v. 39, p. 2059–2067, 2012.

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**, v.10, e0123328, 2015.

ALI, H.; KHAN, E.; SAJAD, MA. Phytoremediation of heavy metals - concepts and applications. **Chemosphere**, v. 19, p. 869 – 881, 2013.

ALSCHER, R.G.; ERTURK, N.; HEATH, L.S. Role of superoxide dismutases (SODS) in controlling oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, p. 1331–1341, 2007.

AL-SHEHBAZ, I. A. The tribes of Cruciferae (Brassicaceae) in the Southeastern United States. **Journal of the Arnold Arboretum**, v. 65, n. 3, p. 343–373, 1984.

ALTABELLA, T.; PALAZON, J.; LDAIBARZ, E.; PIÑOL, M.T.; SERRANO, R. Effect of auxin concentration and growth phase on the plasma membrane H⁺-ATPase of tobacco calli. **Plant Science**, v. 70, p. 209-214, 1990.

ALLOWAY, B.J.; AYRES, D.C. **Chemical principles of environmental pollution**. 2. ed. London: Chapman & Hall, 1997.

AMARI, T.; GHNAYA, T.; ABDELLY, C. Nickel, cadmium and lead phytotoxicity and potential of halophytic plants in heavy metal extraction. **South African Journal of Botany**, v. 111, p. 99–110, 2017.

ANTONIADIS, V. et al. Trace elements in the soil-plant interface: Phytoavailability, translocation, and phytoremediation—A review. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 171, p. 621- 645, 2017.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6028**: Resumos. Rio de Janeiro, 2003.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referência e elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6027**: informação e documentação: sumário: apresentação. Rio de Janeiro, 2012.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 10520**: informação e documentação: citações em documentos: apresentação. Rio de Janeiro, 2002.

ASHRAF, S., et al. Phytoremediation: Environmentally sustainable way for reclamation of heavy metal polluted soils. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 174, p.714-727, 2019.

ARFAN, M.; ATHAR, H.R.; ASHRAF, M. Does exogenous application of salicylic acid through the rooting medium modulate growth and photosynthetic capacity in two differently adapted spring wheat cultivars under salt stress? **Journal of Plant Physiology**, v. 164, p. 685-694, 2007.

AZH DARPOOR, A. et al, Removal of arsenic from aqueous solutions using waste iron columns inoculated with iron bacteria. **Environmental Technology**, v. 36, p. 2525 - 2531, 2015.

BALIARDINI, C.; MEYER, C.-L.; SALIS, P.; SAUMITOU-LAPRADE, P.; VERBRUGGEN N. Cation Exchanger₁ Cosegregates with Cadmium Tolerance in the Metal Hyperaccumulator *Arabidopsis halleri* and Plays a Role in Limiting Oxidative Stress in *Arabidopsis* spp. **Plant Physiology**, v. 169, p. 549 – 559, 2015.

BAJGUZ, A. Brassinosteroids: A Class of Plant Hormone, Brassinosteroids: A Class of Plant Hormone. **Springer Netherlands, Dordrecht**, 2011.

BARRAMEDA-MEDINA, Y.; MONTESINOS-PEREIRA, D.; ROMERO, L.; RUIZ, J.M.; BLASCO, B. Comparative study of the toxic effect of Zn in *Lactuca sativa* and *Brassica oleracea* plants: I. Growth, distribution, and accumulation of Zn, and metabolism of carboxylates. **Environmental and Experimental Botany**, v. 107, p. 98–104, 2014.

BARTWAL, R. A.; MALL, P.; LOHANI, S.K.; GURU, S. Role of secondary metabolites and brassinosteroids in plant defense against environmental stresses. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 32, p. 216-232, 2013.

BARYLA, A.; CARRIER, P.; FRANCK, F.; COULOMB, C.; SAHUT, C.; HAVAUX, M. Leaf chlorosis in oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium-polluted soil: Causes and consequences for photosynthesis and growth. **Journal of Plant Biology**, v. 212, p. 696–709, 2001.

BARTHA, C.; FODORPATAKI, L.; SZÉKELY, G.; POPESCU, O. Physiological diversity of lettuce cultivars exposed to salinity stress. **Contribuții Botanice**, v. XLV, p. 47-56, 2010.

BELOUCHRANI, A. S. et al. Phytoremediation of soil contaminated with Zn using Canola (*Brassica napus* L). **Ecological Engineering**, v. 95, p. 43–49, 2016.

BELLAIRE, B.A. et al.; Involvement of abscisic acid-dependent and — Independent pathways in the up regulation of antioxidant enzyme activity during NaCl stress in cotton callus tissue. **Free Radical Research**, v. 33, 2000.

BHARGAVA, A. et al. Approaches for enhanced phytoextraction of heavy metals. **Journal of Environmental Management**, v. 105, p. 103–120, 2012.

BHATIA, G. et al. Genome-wide investigation of regulatory roles of lncRNAs in response to heat and drought stress in *Brassica juncea* (Indian mustard). **Environmental and Experimental Botany**, v. 171, p. 103922, 2020.

BHUIYAN, M. S. U. et al. Overexpression of a yeast cadmium factor 1 (YCF1) enhances heavy metal tolerance and accumulation in *Brassica juncea*. **Plant Biotechnology features scientific articles that detail novel discoveries**, v. 105, p. 85–91, 2011.

BLASCO, B.; GRAHAM, N.S.; BROADLEY, M.R. Antioxidant response and carboxylate metabolism in *Brassica rapa* exposed to different external Zn, Ca, and MG supply. **Journal of Plant Physiology**, v. 176, p. 16–24, 2014.

BRUNETTI, G.; FARRAG, K.; SOLER-ROVIRA, P.; NIGRO, F.; SENESI, N. Greenhouse and field studies on Cr, Cu, Pb and Zn phytoextraction by *Brassica napus* from contaminated soils in the Apulia region, southern Italy. **Geoderma**, v. 160, p. 517–523, 2011.

COSGROVE, DJ. New genes and new biological roles for expansins. **Plant Biology**, v. 3, p. 73-78, 2000.

CHALHOUB, B.; DENOEUDE, F.; LIU, S.; PARKIN, IAP.; TANG, H.; WANG, X.; CHIQUET, J.; BELCRAM, H.; TONG, C.; SAMANS, B.; et al. Early allopolyploid evolution in the post-Neolithic *Brassica napus* oilseed genome. **Science**, v. 345, p. 950-953, 2014.

CHAUDHRY, H. et al. Indian Mustard *Brassica juncea* efficiency for the accumulation, tolerance and CHAUDHRY, H. et al. Indian Mustard *Brassica juncea* efficiency for the accumulation, tolerance and translocation of zinc from metal contaminated soil. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 23, n. December 2019, p. 101489, 2020.

CHAVES, L. H. G.; SOUZA, R. S. Crescimento, distribuição e acumulação de cádmio em plantas de *Jatropha curcas*. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 37, n. 3, p. 286-291, 2014.

CETESB. **Relação de áreas contaminadas no Estado de São Paulo**. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, v.1, n.1, p.150, 2007.

CHEN, L. et al. Phytoremediation of cadmium (Cd) and uranium (U) contaminated soils by *Brassica juncea* L. enhanced with exogenous application of plant growth regulators. **Chemosphere**, v. 242, p. 125112, 2020.

CHIGBO, C.; BATTY, L.; BARTLETT, R. Interactions of copper and pyrene on phytoremediation potential of *Brassica juncea* in copper-pyrene co-contaminated soil. **Chemosphere**, v. 90, n. 10, p. 2542–2548, 2013.

CHIKKAPUTTAIAH, C. et al. Molecular genetics and functional genomics of abiotic stress-responsive genes in oilseed rape (*Brassica napus* L.): a review of recent advances and future. **Plant Biotechnology Reports**, v. 11, n. 6, p. 365–384, 2017.

CLEMENS, S. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. **Biochemistry**, v. 88, p. 1707-1719, 2016.

CLEMENTE, R.; WALKER, D.J.; BERNAL, M.P. Uptake of heavy metals and as by *Brassica juncea* grown in a contaminated soil in aznalcollar (spain): The effect of soil amendments. **Environmental Pollution**, v. 138, p. 46–58, 2005.

COBBETT, C.; GOLDSBROUGH, P. Phytochelatins and metallothioneins: Roles in heavy metal detoxification and homeostasis. **Annual Review of Plant Biology**, v. 53, p. 159–182, 2003.

HERBARIUM LUCANUM UNIVERSITATIS STUDIORUM BASILICATAE (HLUC) e Dipartimento di biologia, difesa e biotecnologie agroforestali, Università della Basilicata, Potenza, sul da Itália. COLACINO, C. 1998.

CRISTALDI, A. et al. Phytoremediation of contaminated soils by heavy metals and PAHs. A brief review. **Environmental Technology and Innovation**, v. 8, p. 309–326, 2017.

CHRISTMANN, A.; MOES, D.; HIMMELBACH, A.; et al.; Integration of Abscisic Acid Signalling into Plant Responses. **Plant Biology**, v. 46, 2006.

CUI, L.; ZOU, Z.; ZHANG, J.; ZHAO, Y.; YAN, F. 24-Epibrassinolide enhances plant tolerance to stress from low temperatures and poor light intensities in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) **Functional & Integrative Genomics**, v. 16, p. 29-35, 2016.

DA SILVA, A. A. et al. Phytoremediation potential of *Salvinia molesta* for arsenite contaminated water: role of antioxidant enzymes. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 30, n. 4, p. 275–286, 2018.

DAS, K.; ROYCHOUDHURY, A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. **Frontiers in Environmental Science**, v. 2, p. 1-13 2014.

DI GREGORIO, S. et al. Brassica juncea can improve selenite and selenate abatement in selenium contaminated soils through the aid of its rhizospheric bacterial population. **Plant and Soil**, v. 285, n. 1–2, p. 233–244, 2006.

DONG, Y.J.; WANG, W.W.; HU, G.Q.; CHEN, W.F.; ZHUGE, Y.P.; WANG, Z.L.; HE, M.R. Role of exogenous 24-epibrassinolide in enhancing the salt tolerance of wheat seedlings. **Journal of Soil Science and Plant**, v. 17, p. 554-569, 2017.

DU, J.; GUO, Z.; LI, R.; ALI, A.; GUO, D.; LAHORI, A. H.; WANG, P.; LIU, X.; WANG, X.; Zhang, Z. Screening of Chinese mustard (*Brassica juncea* L.) cultivars for the phytoremediation of Cd and Zn based on the plant physiological mechanisms. **Environmental Pollution**, v. 261, 2020.

EBBS, S.D.; KOCHIAN, L.V. Toxicity of zinc and copper to brassica species: Implications for phytoremediation. **Journal of Environmental Quality**, v. 26, p. 776–781, 1997.

FARIDUDDIN, Q.; HAYAT, S.; AHMAD, A. Salicylic Acid Influences Net Photosynthetic Rate, Carboxylation Efficiency, Nitrate Reductase Activity, and Seed Yield in Brassica juncea, **Photosynthetica**, v. 41. p. 281–284, 2003.

FILIZ, E. et al. Comparative analyses of phytochelatin synthase (PCS) genes in higher plants. **Biotechnology and Biotechnological Equipment**, v. 33, n. 1, p. 178–194, 2019.

FEDOTOV, P.S.; KÖRDEL, W.; MIRÓ, M.; PEIJNENBURG, W.J.G.M.; WENNRICH, R.; HUANG, P.-M. Extraction and fractionation methods for exposure assessment of trace metals, metalloids, and hazardous organic compounds in terrestrial environments. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 42, p. 1117-1171, 2012.

FEIGL, G. et al. Physiological and morphological responses of the root system of Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czern.) and rapeseed (*Brassica napus* L.) to copper stress. **Ecotoxicology. Environmental Safety**, v. 94, p. 179–189, 2013.

FEIGL, G. et al. Comparing the effects of excess copper in the leaves of *Brassica Juncea* (L. Czern) and *Brassica Napus* (L.) seedlings: Growth inhibition, oxidative stress and photosynthetic damage. **Acta Biologica Hungarica**, v. 66, n. 2, p. 205–221, 2015.

FEIGL, G. et al. Different zinc sensitivity of *Brassica* organs is accompanied by distinct responses in protein nitration level and pattern. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 125, p. 141–152, 2016.

FEIJUAN, W.; YITING, Z.; QINXIN, G.; HAIFENG, T.; JIAHUI, H.; HAORAN, L.; HEWEN, W.; GUANGWEI, X.; CHENG, Z. Effects of exogenous 5-aminolevulinic acid and 24-epibrassinolide on Cd accumulation in rice from Cd-contaminated soil. **Rice Science**, v. 25, p. 320-329, 2018.

FU, D. HUI et al. Research progress and strategies for multifunctional rapeseed: A case study of China. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 15, n. 8, p. 1673–1684, 2016.

FRIDMAN, Y.; SAVALDI-GOLDSTEIN, S. Brassinosteroids in growth control: how, when and where. **Plant Science**, v. 209, p. 24-31, 2013

GADAPATI, W.R.; MACFIE, S.M. Phytochelatins are only partially correlated with Cd-stress in two species of *Brassica*. **Plant Science**, v. 170, p. 471–480, 2016.

GASIC, K.; KORBAN, S.S. Expression of arabidopsis phytochelatin synthase in Indian mustard (*Brassica juncea*) plants enhances tolerance for Cd and Zn. **Planta**, v. 225, p. 1277–1285, 2007.

GILL, R.A.; ZANG, L.; ALI, B.; FAROOQ, M.A.; CUI, P.; YANG, S.; ALI, S.; ZHOU, W. Chromium-induced physio-chemical and ultrastructural changes in four cultivars of *Brassica napus* L. **Chemosphere**, v. 120, p. 154–164, 2015.

GILL, S.S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 909–930, 2011.

GHNAYA, B. A.; CHARLES, G.; HOURMANT, A. G.; HAMIDA, B.J.; BRANCHARD, M. Physiological behaviour of four rapeseed cultivar (*Brassica napus* L.) submitted to metal stress. **C. R. Biology**, v.332, p. 363–370, 2009/2016.

GURAJALA, H. K. et al. Comparative assessment of Indian mustard (*Brassica juncea* L.) genotypes for phytoremediation of Cd and Pb contaminated soils. **Environmental Pollution**, v. 254, p. 113085, 2019.

GUEDES, F.R.C.M.; et al., Exogenous 24-Epibrassinolide stimulates root protection, and leaf antioxidant enzymes in lead stressed rice plants: Central roles to minimize Pb content and oxidative stress. **Environmental Pollution**, v. 280, 2021.

GRUZNOVA, K. A.; BASHMAKOV, D. I.; MILIAUSKIEN, J.; DUCHOVSKIS, P.; LUKATKIN, A.S. The effect of a growth regulator Ribav-Extra on winter wheat seedlings exposed to heavy metals. **Zemdirbyste- Agriculture**, v. 105, p. 227–234, 2018.

HASANUZZAMAN, M.; NAHAR, K.; MAHABUB ALAM, M.; ROYCHOWDHURY, R.; FUJITA, M. Physiological, Biochemical, and Molecular Mechanisms of Heat Stress Tolerance in Plants. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, p. 9643-9684, 2013.

- HASSINEN, V.H.; TERVAHAUTA, A.I.; SCHAT, H.; KARENLAMPI, S.O. Plant metallothioneins-metal chelators with ROS scavenging activity? **Plant Biology**, v.13, p. 225–232, 2011.
- HAYDON, M.J.; COBBETT, C.S. Transporters of ligands for essential metal ions in plants. **New Phytologist**, v. 174, p. 499–506, 2017.
- HAN, JM.; HOU XI.; XU HM.; SHI GJ.; WANG, JJ. RAPD analysis of genetic diversity of non-heading Chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* Makino) germplasm. **Journal of Nanjing Agricultural University**, v. 31, p. 31 – 36, 2008.
- HERNANDEZ-ALLICA, J.; BECERRIL, J.M.; GARBISU, C. Assessment of the phytoextraction potential of high biomass crop plants. **Environmental Pollution**, v. 152, p. 32–40, 2008.
- HU, W.; YAN, X.; XIAO, Y.; ZENG, J.; QI, H.; OGWENO, J.O. 24-Epibrassinosteroid alleviate drought-induced inhibition of photosynthesis in *Capsicum annuum*. **Science Horticulture**, v. 150, p. 232-237, 2013.
- HU, W.H.; WU, Y.; ZENG, J.Z.; HE, L.; ZENG, Q.M. Chill-induced inhibition of photosynthesis was alleviated by 24-epibrassinolide pretreatment in cucumber during chilling and subsequent recovery. **Photosynthetica**, v. 48, p. 537-544, 2010.
- IRFAN, M.; AHMAD, A.; HAYAT, S. Effect of cadmium on the growth and antioxidant enzymes in two varieties of *Brassica juncea*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 21, n. 2, p. 125–131, 2014.
- JAN, S.; ALYEMENI, M.N.; WIJAYA, L.; ALAM, P.; SIDDIQUE, K.H.; AHMAD, P. Interactive effect of 24-epibrassinolide and silicon alleviates cadmium stress via the modulation of antioxidant defense and glyoxalase systems and macronutrient content in *Pisum sativum* L. seedlings. **MC Plant Biology**, v. 18, p. 146, 2018.
- JIANG, M.; ZHANG, J. Effect of Abscisic Acid on Active Oxygen Species, Antioxidative Defence System and Oxidative Damage in Leaves of Maize Seedlings. **Plant and Cell Physiology**, v. 42, p. 1265–1273, 2001.
- JINADASA, N., COLLINS, D., HOLFORD, P., MILHAM, P.J., CONROY, J.P. Reactions to cadmium stress in a cadmium-tolerant variety of cabbage (*Brassica oleracea* L.): is cadmium tolerance necessarily desirable in food crops? **Environ. Sci. Pollut.** v. 23, p. 5296–5306, 2016.
- JOHN, R.; AHMAD, P.; GADGIL, K.; SHARMA, S. Cadmium and lead-induced changes in lipid peroxidation, antioxidative enzymes and metal accumulation in *Brassica juncea* L. At three different growth stages. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 55, p. 395–405, 2009.
- KAUR, R. et al. Co-application of 6-ketone type brassinosteroid and metal chelator alleviates cadmium toxicity in *B. juncea* L. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 1, p. 685–700, 2017.

KAUR, S. K.; HANDA, N.; BALI, S.; ARORA, S. et al. Modulation of antioxidative defense expression and osmolyte content by co-application of 24-epibrassinolide and salicylic acid in Pb exposed Indian mustard plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 147, p. 382-393, 2018.

KANWAR, MK.; BHARDWAJ, R.; ARORA, P.; CHOWDHARY, S.P.; SHARMA, P.; KUMAR S. Plant steroid hormones produced under Ni stress are involved in the regulation of metal uptake and oxidative stress in *Brassica juncea* L. **Chemosphere**, v. 86, p. 41-49, 2012.

KAVI, P.B.; SREENIVASULU, N. Is proline accumulation per se correlated with stress tolerance or is proline homeostasis a more critical issue? **Plant, Cell & Environment**, p. v. 37, p. 300–311, 2013.

KEUNEN, E.; PESHEV, D.; VANGRONSVELD, J.; CUYPERS, A. Plant sugars are crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress: Extending the traditional concept. **Plant, Cell & Environment**, v. 36, p. 1242–1255, 2013.

KIM, T-W.; MICHNIEWICZ, M.; BERGMANN, D.C.; WANG, Z.-Y. Brassinosteroid regulates stomatal development by GSK3- mediated inhibition of a MAPK pathway. **Nature**, v. 482, p. 419-422, 2012.

KHAFAGA, H. et al. The potential modulatory role of herbal additives against Cd toxicity in human, animal, and poultry: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, p. 4588 – 4604, 2019.

KHAN, M.A.; KHAN, S.; KHAN, A.; ALAM, M. Soil contamination with cadmium, consequences and remediation using organic amendments. **Science of The Total Environment**, v. 601, p. 1591–1605, 2017.

KHAMSUK, O.; SONJAROON, W.; SUWANWONG, S.; JUTAMANE, K.; SUKSAMRARN, A. Effects of 24-epibrassinolide and the synthetic brassinosteroid mimic on chili pepper under drought. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 40, p. 106, 2018.

KOHLI, S.K.; HANDA, N.; BALI, S.; ARORA, S.; SHARMA, A.; KAUR, R.; BHARDWAJ, R. Modulation of antioxidative defense expression and osmolyte content by co-application of 24-epibrassinolide and salicylic acid in Pb exposed Indian mustard plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 147, p. 382-393, 2018a.

KOHLI, S.K.; HANDA, N.; SHARMA, A.; GAUTAM, V.; ARORA, S.; BHARDWAJ, R.; WIJAYA, L.; ALYEMENI, MN.; AHMAD, P. Interaction of 24-epibrassinolide and salicylic acid regulates pigment contents, antioxidative defense responses, and gene expression in *Brassica juncea* L. seedlings under Pb stress. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, p. 15159-15173, 2018b.

KOHLI, S.K.; HANDA, N.; SHARMA, A.; KUMAR, V.; KAUR, P.; BHARDWAJ, R. Synergistic effect of 24-epibrassinolide and salicylic acid on photosynthetic efficiency and gene expression in *brassica juncea* L. Under Pb stress. **Turkish Journal of Biology**, v. 41, p. 943-953, 2017.

KOHLI, S.K.; BALI, S.; TEJPAL, R.; BHALLA, V.; VERMA, V.; BHARDWAJ, R.; ALQARAWI, A.A.; ABD-ALLAH, E.F.; AHMAD, P. In-situ localization and biochemical analysis of bio-molecules reveals Pb-stress amelioration in *Brassica juncea* L. by co-application of 24-Epibrassinolide and Salicylic Acid. **International Journal of Scientific Reports**, v. 9, p. 1-15, 2019.

KORENKOV, V.; HIRSCHI, K.; CRUTCHFIELD, JD.; WAGNER, GJ. Enhancing tonoplast Cd/H antiport activity increases Cd, Zn, and Mn tolerance, and impacts root/shoot Cd partitioning in *Nicotiana tabacum* L. **Planta**, v.226, p. 1379 – 1387, 2007.

KUMAR YADAV, K. et al. Mechanistic understanding and holistic approach of phytoremediation: A review on application and future prospects. **Ecological Engineering**, v. 120, n. 37, June, p. 274–298, 2018.

KUMARI, S. et al. Recent developments in environmental mercury bioremediation and its toxicity: A review. **Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management**, v. 13, n. December 2019, p. 100283, 2020.

KUSHWAHA, A.; RANI, R.; KUMAR, S.; GAUTAM. A. Heavy metal detoxification and tolerance mechanisms in plants: implications for phytoremediation. **Environment International**, v. 24, p. 1-70, 2018.

KRANTEV, A.; YORDANOVA, R.; JANDA, T.; SZALAI, G.; POPOVA, L. Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 165, p. 920-931, 2008.

KRISHNA, P. Brassinosteroid-mediated stress responses. **Journal Plant Growth Regulations**, v. 22, p. 289-297, 2003.

LIM, J. M.; SALIDO, A. L.; BUTCHER, D. J. Phytoremediation of lead using Indian mustard (*Brassica juncea*) with EDTA and electrocids. **Microchemical Journal**, v. 76, n. 1–2, p. 3–9, 2004.

LV, W.; YANG, L.; XU, C.; SHI, Z.; SHAO, J.; XIAN, M.; Chen, J. Cadmium disrupts the balance between hydrogen peroxide and superoxide radical by regulating endogenous hydrogen sulfide in the root tip of *Brassica rapa*. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1–13, 2017.

LI, H.; JIANG, M.; CHE, L.L.; NIE, L.; YANG, Z.M. Bjho-1 is involved in the detoxification of heavy metal in India mustard (*Brassica juncea*). **Biometals**, v. 25, p. 1269–1279, 2015.

LIU, Y.; ZHAO, Z.; SI, J.; DI, C.; HAN, J. Brassinosteroids alleviate chilling-induced oxidative damage by enhancing antioxidant defense system in suspension cultured cells of *Chorispora bungeana* **Plant Growth Regulations**, v. 59, p. 207-214, 2009.

LIU, C. et al. Effects of cadmium and salicylic acid on growth, spectral reflectance and photosynthesis of castor bean seedlings. **Plant and Soil**, v. 344, n. 1, p. 131–141, 2011.

LIU, S., FAN, C., LI, J., CAI, G., YANG, Q., WU, J., et al. A genome-wide association study reveals novel elite allelic variations in seed oil content of *Brassica napus*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 129, p. 1203–1215, 2016.

LIU, L.; LI, W.; SONG, W.; GUO, M. Remediation techniques for soils contaminated by heavy metals: principles and applicability. **Science of the Total Environment**, v. 633, p. 206 – 219, 2018.

MAHAR, A. et al. Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 126, p. 111–121, 2016.

MAHOUACHI, T.; IGLESIAS, D.J. .; AGYSTÍ, M.; TALON, M. **Delay of early fruitlet abscission by branch girdling in citrus coincides with previous increases in carbohydrate and gibberellin concentrations.** *Journal of Plant Growth Regulation*, v. 58, p. 15 – 23, 2009.

MANOHAR, M.; SHIGAKI, T.; HIRSCHI, KD. Plant cation/H⁺ exchangers (CAXs): biological functions and genetic manipulations. *Plant Biology*, v. 13, p. 561 – 569, 2011.

MARCHIOL, L.; ASSOLARI, S.; SACCO, P. & ZERBI, G. Phytoextraction of heavy metals by canola (*Brassica napus*) and radish (*Raphanus sativus*) grown on multi contaminated soil. *Environmental Pollution*, v. 132, p. 21-27, 2004.

MAROWA, P.; DING, A and KONG.Y. Expansins: roles in plant growth and potential applications in crop improvement. *Plant Cell Reports*, v. 35, p. 949–965, 2016.

MEERS, E.; TACK, F.M.G.; SLYCKEN, S.V.; RUTTENS, A.; LAING, G. D.; VANGRONSVELD, J. Chemically assisted phytoextraction: a review of potential soil amendments for increasing plant uptake of heavy metals. *International Journal of Phytoremediation*, v. 10, p. 390-414, 2008.

MEERS, E.; LAMSAL, S.; VERVAEKE, P.; HOPGOOD, M.; LUST, N.; TACK, FM. Availability of heavy metals for uptake by *Salix viminalis* on a moderately contaminated dredged sediment disposal site. *Environmental Pollution*, v. 137, p. 354 – 364, 2005.

MEI, H.; ZHAO, J.; PITTMAN, JK.; LACHMANSINGH, J.; PARK, S.; HIRSCHI, KD. In planta regulation of the *Arabidopsis* Ca²⁺/H⁺ antiporter CAX1. *Journal of Experimental Botany*, v. 58, p. 3419 – 3427, 2007.

MOBIN, M.; KHAN, N.A. Photosynthetic activity, pigment composition and antioxidative response of two mustard (*Brassica juncea*) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. *Journal Plant Physiology*, v. 164, p. 601–610, 2015.

MOHAMED, A. A. et al. Cadmium tolerance in *Brassica juncea* roots and shoots is affected by antioxidant status and phytochelatin biosynthesis. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 57, p. 15–22, 2012.

MORENO, F. N. et al. Phytofiltration of mercury-contaminated water: Volatilisation and plant-accumulation aspects. *Environmental and Experimental Botany*, v. 62, n. 1, p. 78–85, 2008.

MUTHUSAMY, M.; KIM, JÁ.; JEONG, MJ.; LEE, SI. Blue and red light upregulate α -expansin 1 (EXPA1) in transgenic *Brassica rapa* and its over expression promotes leaf and root growth in *Arabidopsis*. *Plant Growth Regulation*, v. 91, p. 75-87, 2020.

MUSSIG, C.; SHIN, G.; ALTMANN, T. Brassinosteroids promote root growth in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, v. 133, p. 1261-1271, 2003.

MYSLIWA-KURDZIEL, B.; PRASAD, M.N.V.; STRZALKA, K. **Photosynthesis in heavy metal stressed plants.** In *Heavy Metal Stress in Plants*; Prasad, M.N.V., Ed.; Springer: Berlin, Germany, p.146–181, 2004.

NADEEM, MA; NAWAZ, MA; SHAHID, MQ; DOĞAN, Y.; COMERTPAY, G.; YILDIZ, M.; HATIPOĞLU, R.; AHMAD, F.; ALSALEH, A.; LABHANE, N.; et al. DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. *Agriculture and Environmental Biotechnology*, v. 32 , p. 261–285, 2018.

NASIR, M.; YUNCHAO, D.; ZHANG, Y.; GAO, J.; LV, Y.; LV, J. Comparison of DGT with traditional extraction methods for assessing arsenic bioavailability to *Brassica chinensis* in different soils. **Chemosphere**, v. 191, p. 183-189, 2018.

NAGAJYOTI, P.; LEE, K.; SREEKANTH, T. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: A review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 8, p. 199–216, 2010.

NASCIEMNTO, C.W.A.; ACCIOLY, A.M.A.; BIODINI, C.M. Fitoextração de metais pesados em solos contaminados: avanços e perspectivas. **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa; Sociedade Brasileira de Ciências do Solo, p. 461-497, 2009.

NAVARRO-LÉON, E. et al. Tolerance to cadmium toxicity and phytoremediation potencialof there *Brassica rapa* CAx1a tulling mutants. **Ecotoxicology and enviromental safety**, v. 189, 2020.

NAVARRO-LEÓN, E.; BLASCO, B.; MANUEL RUIZ, J. Study of Zn accumulation and tolerance of HMA4 TILLING mutants of *Brassica rapa* grown under Zn deficiency and Zn toxicity. **Plant Science**, v. 287, 2019.

NAZIR, F.; HUSSAIN, A.; FARIDUDDIN. Q. Interactive role of epibrassinolide and hydrogen peroxide in regulating stomatal physiology, root morphology, photosynthetic and growth traits in *Solanum lycopersicum* L. under nickel stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 162, p. 479-495, 2019.

NOUAIRI, I.; BEN-AMMAR, W.; BEN-YOUSSEF, N.; BEN-MILED, D.D.; GHORBAL, M.; ZARROUK, M. Antioxidant defense system in leaves of Indian mustard (*Brassica juncea*) and rape (*Brassica napus*) under cadmium stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 31, p. 237–247, 2009.

NOUAIRI, I.; BEN-AMMAR, W.; BEN-YOUSSEF, N.; DAOUD, D.B.; GHORBAL, M.H.; ZARROUK, M. Comparative study of cadmium effects on membrane lipid composition of *Brassica juncea* and *Brassica napus* leaves. **Plant Science**, v. 170, p. 511–519, 2006.

OZYIGIT, I. I.; CAN, H.; DOGAN, I. Phytoremediation using genetically engineered plants to remove metals: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 19, p. 669 - 698, 2020.

PADMAVATHIAMMA, P. K.; LI, L. Y. Phytoremediation technology: Hyper-accumulation metals in plants. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 184, n. 1–4, p. 105–126, 2007.

PÁL, M.; JANDA, T.; SZALAI, G. Interactions between plant hormones and thiol-related heavy metal chelators. **Plant Growth Regulation**, v. 85, n. 2, p. 173–185, 2018.

PAN, Y. et al. Genome-wide characterization and analysis of metallothionein family genes that function in metal stress tolerance in *brassica napus* L. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 8, p. 1–18, 2018.

PANDEY, P.; RAMEGOWDA, V.; SENTHIL-KUMAR, M. Shared and unique responses of plants to multiple individual stresses and stress combinations: Physiological and molecular mechanisms. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, n. September, p. 1–14, 2015.

PARK, J.; KIM, J.-Y.; KIM, K.-W. Phytoremediation of soil contaminated with heavy metals using *Brassica napus*. **Geosystem Engineering**, v. 15 , 9–17, 2012.

PARSEH, I., et al. Phytoremediation of benzene vapors from indoor air by *Schefflera arboricola* and *Spathiphyllum wallisii* plants. **Atmospheric Pollution Research**, v. 9, n. 6, p. 1083-1087, 2018.

PARVEEN, T.; HUSSAIN, A.; RAO, M.S. Growth and accumulation of heavy metals in turnip (*Brassica rapa*) irrigated with different concentrations of treated municipal wastewater. **Hydrology Research**, v. 46, p. 60–71, 2015.

PINTO, E.; AGUIAR, A. A. R. M.; FERREIRA, I. M. P. L. V. O. Influence of Soil Chemistry and Plant Physiology in the Phytoremediation of Cu, Mn, and Zn. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 33, n. 5, p. 351–373, 2014.

PITTMAN, J.K., HIRSCHI, K.D. CAX-ing a wide net: cation/H⁺ transporters in metal remediation and abiotic stress signaling. **Plant Biology**, v. 18, p. 741–749, 2016.

PUA, E.-C.; DOUGLAS, C. J. **Brassica**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, v. 54, 2004.

PURAKAYASTHA, T.J.; VISWANATH, T.; BHADRARAY, S.; CHHONKAR, P.K.; ADHIKARI, P.P.; SURIBABU, K. Phytoextraction of zinc, copper, nickel and lead from a contaminated soil by different species of brassica. **International Journal of Phytoremediation**, v. 10, p. 61–72, 2008.

QIAO, J.; ZHANG, X.; CHEN, B.; HUANG, F.; XU, K.; HUANG, Q.; HUANG, Y.; HU, Q.; WU, X. Comparison of the cytoplasmic genomes by resequencing: Insights on the genetic diversidade and the phylogeny of the agriculturally important genus *Brassica*. **BMC Genomics**, v. 21, p. 480, 2020.

RAO, X.; DIXON, R.A. Brassinosteroid mediated cell wall remodeling in grasses under abiotic stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1-7, 2017.

RAMAN, H., RAMAN, R., COOMBES, N., SONG, J., DIFFEY, S., KILIAN, A., et al. Genome-wide association study identifies new loci for resistance to *Leptosphaeria maculans* in canola. **Frontiers in Plant Science**. v. 7, p. 1513, 2016.

RAMAN, H., RAMAN, R., KILIAN, A., DETERING, F., CARLING, J., COOMBES, N., et al. Genome-wide delineation of natural variation for pod shatter resistance in *Brassica napus*. **PLoS One**, v. 9, p.101673, 2014.

RASCIO, N.; NAVARI-IZZO, F. Heavy metal hyperaccumulating plants: how and why do they do it? And what makes them so interesting? **Plant Science**, v. 180, p. 169-181, 2011.

RIZWAN, M. et al. Cadmium phytoremediation potential of Brassica crop species: A review. **Science of the Total Environment**, v. 631–632, p. 1175–1191, 2018.

RIZWAN, M.; ALI, S.; RIZVI, H.; RINKLEBE, J.; TSANG, DC.; MEERS, E.; ISHAQUE, W. Phytomanagement of heavy metals in contaminated soils using sunflower: A review. **Environmental Science and Technology**, v. 46, p. 1498 – 1528, 2016.

REEVES, R.D.; POLLARD, A.J. SCHAT, H. Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: facts and fiction. *Plant Soil*, v. 362, p. 319-334, 2017.

RODRÍGUEZ-VILA, A. et al. Phytoremediating a copper mine soil with *Brassica juncea* L., compost and biochar. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 19, p. 11293–11304, 2014.

ROSTAMI, S.; AZHDARPOOR, A. The application of plant growth regulators to improve phytoremediation of contaminated soils: A review. **Chemosphere**, v. 220, p. 818 – 827, 2019.

ROSTAMI, M.; MOVAHEDI, Z. Evaluating the effects of Naphthalene acetic acid (NAA) on morpho-physiological traits of valerian (*Valeriana officinalis* L.) in aeroponic system. **Plant Physiology**, v. 6, p. 1751- 1759, 2016.

RUBIO, M. et al. SR micro-XRF to study Pb diffusion using a one-dimensional geometric model in leaves of *Brassica napus* for phytoremediation. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 167, n. April 2019, p. 108291, 2020.

SAAD, R.B.; HSOUNA, A.B.; SAIBI, W.; HAMED, K.B.; BRINI, F.; GHNEIM-HERRERA, T. A stress-associated protein, LmSAP, from the halophyte *Lobularia maritima* provides tolerance to heavy metals in tobacco through increased ROS scavenging and metal detoxification processes. **Journaal Plant Physiology**, v. 231, p. 234 - 243, 2018.

SADURA, I.; POCIECHA, E.; DZIURKA, M.; OKLESTKOVA, J.; NOVAK O.; GRUSZKA, D.; JANECKO, A. Mutations in the HvDWARF, HvCPD and HvBRI1 Genes-Involved in Brassinosteroid Biosynthesis/Signalling: Altered Photosynthetic Efficiency, Hormonal Homeostasis and Tolerance to High/Low Temperatures in Barley. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 38, p. 1062–1081, 2019.

SAMPEDRO, J.; GUTTMAN, M.; LI, L.C.; COSGROVE, D.J. Evolutionary divergence of β -expansin structure and function in grasses parallels emergence of distinctive primary cell wall traits. **The Plant Journal**, v. 81, p. 108 – 120, 2015.

SAMPEDRO, J., and COSGROVE, D.J. The expansin superfamily. **Genome Biology**, p. 242, 2005.

SARWAR, N. et al. Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: Modifications and future perspectives. **Chemosphere**, v. 171, p. 710–721, 2017.

SINGH, R.; KESAVAN, AK.; LANDI, M.; KAUR, S.; THAKUR, S.; ZHENG, B.; BHARDWAJ, R.; SHARMA, A. 5-aminolevulinic acid regulates Krebs cycle, antioxidative system and gene expression in *Brassica juncea* L. to confer tolerance against lead toxicity. **Journal of Biotechnology**, v. 323, p. 283 – 292, 2020.

SIDDIQUI, H.; AHMED, K.B.M.; HAYAT, S. Comparative effect of 28-homobrassinolide and 24-epibrassinolide on the performance of different components influencing the photosynthetic machinery in *Brassica juncea* L. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 129, p. 198-212, 2018.

SCHAEFER, H.J.; GREINER, S.; RAUSCH, T.; HAAG-KERWER, A. In seedlings of the heavy metal accumulator *Brassica juncea* Cu²⁺ differentially affects transcript amounts for γ -glutamylcysteine synthetase (γ -ECS) and metallothionein (MT2). **FEBS Letters**, v. 404, p. 216–220, 1997.

SCHIESSL, SV; QUEZADA-MARTINEZ, D.; TEBARTZ, E.; SNOWDON, RJ; QIAN, L. The vernalisation regulator FLOWERING LOCUS C is differentially expressed in biennial and annual *Brassica napus*. **Scientific Reports**, v. 9, p.14911, 2019.

SHAH, V.; DAVEREY, A. Phytoremediation: A multidisciplinary approach to clean up heavy metal contaminated soil. **Environmental Technology and Innovation**, v. 18, p. 100774, 2020.

SHAHEEN, S.M., RINKLEBE, J. Phytoextraction of potentially toxic elements by Indian mustard, rapeseed, and sunflower from a contaminated riparian soil. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 37, p. 953–967, 2015.

SHARMA, I.; CHING, E.; SAINI, S.; BHARDWAJ, R.; PATI, P.K. Exogenous application of brassinosteroid offers tolerance to salinity by altering stress responses in rice variety Pusa Basmati-1. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 69, p. 17-26, 2013.

SHARMA, A.; LI, X.; LIM, Y. P. Comparative genomics of brassicaceae crops. **Breeding Science**, v. 64, n. 1, p. 3–13, 2014.

SHARMA, S.S.; DIETZ, K.J. The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. **Journal Experimental Botany**, v. 57, p. 711–726, 2006.

SHARMA, P.; BHARDWAJ, R. Effects of 24-epibrassinolide on growth and metal uptake in *Brassica juncea* L. under copper metal stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 29, p. 259-263, 2007.

SHARMILA, P. et al. Cadmium toxicity-induced proline accumulation is coupled to iron depletion. **Protoplasma**, v. 254, n. 2, p. 763–770, 2017.

SHEORAN, V.; SHEORAN, A. S.; POONIA, P. Factors Affecting Phytoextraction: A Review. **Pedosphere**, v. 26, n. 2, p. 148–166, 2016.

SHEN, G.; NIU, J.; DENG, Z. Abscisic acid treatment alleviates cadmium toxicity in purple flowering stalk (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *purpurea* Hort.) seedlings. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 118, p. 471-478, 2017.

SHU, S.; TANG, Y.; YUAN, Y.; SUN, J.; ZHONG, M.; GUO, S. The role of 24-epibrassinolide in the regulation of photosynthetic characteristics and nitrogen metabolism of tomato seedlings under a combined low temperature and weak light stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 107, p. 344-353, 2016.

SOARES, T.F.N. **BRASSINOSTERÓIDES NA SUPERAÇÃO DO ESTRESSE CAUSADO POR CHUMBO EM SEMENTES DE *Brassica juncea* (L.) Czern. & Coss.** 2020. 58 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2020.

SOCHA, A.L. GUERINOT, M.L. Mn-euvering manganese: the role of transporter gene family members in manganese uptake and mobilization in plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 5 , p. 106, 2014.

SUN, Y. et al. Root cell walls and phytochelatins in low-cadmium cultivar of *Brassica parachinensis*. **Pedosphere**, v. 30, n. 3, p. 426–432, 2020.

SUN, C., WANG, B., WANG, X., HU, K., LI, K., LI, Z., et al. Genome-wide association study dissecting the genetic architecture underlying the branch angle trait in rapeseed (*Brassica napus* L.). **Science Reports**, v.6, p. 33673, 2016.

SUN, Y.; XU, Y.; ZHOU, Q.; WANG, L.; LIN, D.; LIANG, X. The potential of gibberellic acid 3 (GA3) and Tween-80 induced phytoremediation of co-contamination of Cd and Benzo[a]pyrene (B[a]P) using *Tagetes patula*. **Journal of Environmental Management**, v. 114, p. 202-208, 2013.

SPASIBIONEK, S.; MATUSZCZAK, M.; GACEK, K.; BARTKOWIAK-BRODA, I. Cleaved amplified polymorphic sequences (CAPS) marker for identification of two mutant alleles of the rapeseed *BnaA.FAD2* gene. **Molecular Biology Reports**, v. 47, p. 7607–7621, 2020.

SPOSITO, G. **The Chemistry of Soils**. Oxford University Press: New York.1989. 290 p.

SYEED, S.; NAZAR, R.; IQBAL, N.; KHAN, N.A. Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under salt stress by enhancing nitrogen and sulfur assimilation and antioxidant metabolism differentially in two mungbean cultivars. **Journal of Plant Physiology**, v. 168, p. 807-815, 2011.

THAKUR, S. et al. Plant-driven removal of heavy metals from soil: uptake, translocation, tolerance mechanism, challenges, and future perspectives. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 188, n. 4, 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, p. 888, 2017.

TACK, FM.; Meers, E. Assisted Phytoextraction: Helping Plants to Help Us. **Elements**, v. 6, p. 383 – 388, 2010.

TANG, L.; LUO, W.; TIAN, S.; HE, Z.; STOFFELLA, P.J.X.; YANG, X. Genotypic differences in cadmium and nitrate co-accumulation among the Chinese cabbage genotypes under field conditions. **Scientia Horticulturae**, v. 201, p. 92 – 100, 2016.

THUSSAGUNPANIT, J.; JUTAMANE, K.; KAVEETA, L.; CHAI- ARREE, W. et al., A. Suksamrarn Comparative effects of brassinosteroid and brassinosteroid mimic on improving photosynthesis, lipid peroxidation, and rice seed set under heat stress. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 34, p. 320-331, 2015.

UEOKA-NAKANISHI, H.; TSUCHIYA, T.; SASAKI, M.; NAKANISHI, Y.; CUNNINGHAM, K.; MASAYOSHI, M. Functional expression of mung bean Ca^{2+}/H^{+} antiporter in yeast and its intracellular localization in the hypocotyl and tobacco cells. **O FEBS Journal**, v. 267, p. 3090-3098, 1999.

VERMA, K.; MEHTA, S. K.; SHEKHAWAT, G. S. Nitric oxide (NO) counteracts cadmium induced cytotoxic processes mediated by reactive oxygen species (ROS) in *Brassica juncea*: Cross-talk between ROS, NO and antioxidant responses. **Bio Metals**, v. 26, n. 2, p. 255–269, 2013.

VISCONTI, D. et al. Use of *Brassica juncea* and *Dactylis glomerata* for the phytostabilization of mine soils amended with compost or biochar. **Chemosphere**, v. 260, 2020.

VIEHWEGER, K. How plants cope with heavy metals. **Botanical Studies**, v. 55, p. 1–12, 2014.

WAN, H., CHEN, L., GUO, J., LI, Q., WEN, J., YI, B., et al. Genome-wide association study reveals the genetic architecture underlying salt tolerance-related traits in rapeseed (*Brassica napus* L.). **Frontiers in Plant Science**, v, 26, p. 8:593, 2017.

WANG, B.; ZHANG, J.; XIA, X.; ZHANG, W.-H. Ameliorative effect of brassinosteroid and ethylene on germination of cucumber seeds in the presence of sodium chloride. **Plant Growth Regulations**, v. 65, p. 407-413, 2011.

WANG, J. et al. Remediation of mercury contaminated sites - A review. **Journal of Hazardous Materials**, v. 221–222, p. 1–18, 2012.

WANG, S.H.; YANG, Z.M.; YANG, H.; LU, B.; LI, S.Q.; LU, Y.P. Copper-induced stress and antioxidative responses in roots of *Brassica juncea* L. **Botanical Bulletin- Academia Sinica Taipei**, v. 45, p. 203–212, 2004.

WANG, X., Shi, Y., CHEN, X., HUANG, B. Screening of Cd-safe genotypes of Chinese cabbage in field condition and Cd accumulation in relation to organic acids in two typical genotypes under long-term Cd stress. **Environmental Science and Pollution**, v 22, p. 16590–16599, 2015.

WANG, Z.; JIANG, Y.; PENG, X.; XU, S.; ZHANG, H.; GAO, J.; Xi, Z. Exogenous 24-epibrassinolide regulates antioxidant and pesticide detoxification systems in grapevine after chlorothalonil treatment. **Plant Growth Regulations**, v. 81, p. 455-466, 2017.

WASAY, SA.; BARRINGTON, SF. Organic acids to remediate a clay loam polluted by heavy metals. **Canadian Agricultural Engineering**, v. 40, p. 7, 1998.

WITZEL, K.; NEUGART, S.; RUPPEL, S.; SCHREINER, M.; WIESNER, M.; BALDERMANN, S. Progressos recentes no uso de 'tecnologias ômicas em vegetais Brassicaceae. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 244, 2015.

WU, Q.; SHIGAKI, T.; WILLIAMS, K.A.; HAN, J.-S.; KIM, C.K.; HIRSCHI, K.D.; PARK, S. Expression of an Arabidopsis Ca^{2+} / H^{+} antiporter CAX1 variante em petúnia aumenta a tolerância ao cádmio e o acúmulo. **Journal of Plant Physiology**, v. 168, p. 167 – 173, 2011.

WU, X.X.; DING, H.D.; CHEN, J.L.; ZHU, Z.W.; ZHA, D.S. Amelioration of oxidative damage in *Solanum melongena* seedlings by 24-Epibrassinolide during chilling stress and recovery. **Plant Biology**, v. 59, p. 350-356, 2015.

WU, W.; ZHANG, Q.; ERVIN, E.H.; YANG, Z.; ZHANG, X. Physiological mechanism of enhancing salt stress tolerance of perennial ryegrass by 24-Epibrassinolide. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1-11, 2017.

XI, Z.; WANG, Z.; FANG, Y.; HU, Z.; HU, Y.; DENG, M.; ZHANG, Z. Effects of 24-epibrassinolide on antioxidation defense and osmoregulation systems of young grapevines (*V. vinifera* L.) under chilling stress. **Plant Growth Regulation**, v. 71, p. 57-65, 2013.

XIA, X.-J.; ZHOU, Y.-H.; DING, J.; SHI, K.; ASAMI, T.; CHEN, Z.; YU, J.-Q. Induction of systemic stress tolerance by brassinosteroid in *Cucumis sativus*. **New Phytologist**, v. 191, p. 706-720, 2011.

XIN, J.; ZHAO, M.; J. Y.; FAN, T. Analyzing the genes and pathways related to major depressive disorder via a systems biology approach. **Brain and Behavior**, p. 1-16, 2020.

- XUE, Z. J. et al. Health risk assessment of heavy metals for edible parts of vegetables grown in sewage-irrigated soils in suburbs of Baoding City, China. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 184, n. 6, p. 3503–3513, 2012.
- XU, L., HU, K., ZHANG, Z., GUAN, C., CHEN, S., HUA, W., et al. Genome-wide association study reveals the genetic architecture of flowering time in rapeseed (*Brassica napus* L.). **DNA Research**. V. 23, p. 43–52, 2015.
- YAO, Y.; ZHAO, N.; XIAN, T.; TU, S.; PAN, L.; TU, K. Effect of 2,4-epibrassinolide treatment on the postharvest quality and physiological metabolism of fresh daylily flower buds during storage. **Science Horticulture**, v. 226, p. 110 – 116, 2017.
- YU, X. Z.; LIN, Y. J.; ZHANG, Q. Metallothioneins enhance chromium detoxification through scavenging ROS and stimulating metal chelation in *Oryza sativa*. **Chemosphere**, v. 220, p. 300–313, 2019.
- ZAHEER, I. E. et al. Citric acid assisted phytoremediation of copper by *Brassica napus* L. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 120, p. 310–317, 2015.
- ZAIER, H.; MUDARRA, A.; KUTSCHER, D.; DE LA CAMPA, M.R.F.; ABDELLY, C.; SANZ-MEDEL, A. Induced lead binding phytochelators in *Brassica juncea* and *sesuvium portulacastrum* investigated by orthogonal chromatography inductively coupled plasma-mass spectrometry and matrix assisted laser desorption ionization-time of flight-mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 671, p. 48–54, 2010.
- ZAIMOGLU, Z.; KOKSAL, N.; BASCI, N.; KESICI, M.; GULEN, H.; BUDAK, F. Antioxidative enzyme activities in *Brassica juncea* L. And *Brassica oleracea* L. Plants under chromium stress. **Journal of Food, Agriculture and Environment**, v. 9, p. 676–679, 2011.
- ZHANG M.; ZHANG J.; LU, LL.; ZHU, ZQ.; YANG, XE. Functional analysis of CAX2-like transporters isolated from two ecotypes of *Sedum alfredii*. **Biologia Plantarum**, v. 60 , p. 37 – 47, 2016.
- ZENONI, S.; REALE, L.; BATTISTA, G.; TORNIELLI, L.; et al. Downregulation of the *Petunia hybrida* α -Expansin Gene *PhEXP1* Reduces the Amount of Crystalline Cellulose in Cell Walls and Leads to Phenotypic Changes in Petal Limbs. **The Plant Cell**, v. 16, p. 295–308, 2004.
- ZHANG, F. et al. Association mapping of cadmium-tolerant QTLs in *Brassica napus* L. and insight into their contributions to phytoremediation. **Environmental and Experimental Botany**, v. 155, n. July, p. 420–428, 2018.
- ZHANG, F.; XIAO, X.; WU, X. Physiological and molecular mechanism of cadmium (Cd) tolerance at initial growth stage in rapeseed (*Brassica napus* L.). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 197, p. 110613, 2020.
- ZHANG, X. et al. Recent progress in drought and salt tolerance studies in *Brassica* crops. **Breeding Science**, v. 64, n. 1, p. 60–73, 2014.
- ZHANG, Y.P.; ZHU, X.H.; DING, H.D.; YANG, S.J.; CHEN, Y.Y. Foliar application of 24-epibrassinolide alleviates high-temperature-induced inhibition of photosynthesis in seedlings of two melon cultivars. **Photosynthetica**, v. 51, p. 341-349, 2013.

ZHONG, W.; XIE, C.; HU, D.; PU, S.; XIONG, X.; et al. Effect of 24-epibrassinolide on reactive oxygen species and antioxidative defense systems in tall fescue plants under lead stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 187, p. 109831, 2020.

ZHOU, Y.L; HUO, S.F.; WANG, L.T. et al. Exogenous 24-Epibrassinolide alleviates oxidative damage from copper stress in grape (*Vitis vinifera* L.) cuttings. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 130, p. 555-565, 2018.

APÊNDICES

APÊNDICE 1: LIMITAÇÕES DAS ATIVIDADES PRESENCIAIS IMPOSTAS PELA PANDEMIA DA COVID-19

Ao considerar o cenário deflagrado pela pandemia do novo-coronavírus (Sars-Cov-2) e, conseqüentemente, a síndrome respiratória COVID-19, as autoridades nacionais de saúde pública instituíram portarias para o estabelecimento e manutenção do distanciamento social, a fim de evitar aglomerações e permanência em locais fechados. Diante disso, segue abaixo a listagem de portarias emitidas pela Reitoria da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar):

- Portaria GR nº 4370, de 14 de março de 2020, a qual determinou a suspensão de aulas e atividades curriculares a partir de 16 de março de 2020;

- Portaria GR nº 4371, de 15 de março de 2020, a qual instruiu o replanejamento de atividades administrativas e procedimentos de trabalho;

- Portaria GR nº 4380, de 20 de março de 2020, a qual prorrogou a suspensão de aulas, atividades curriculares e administrativas por tempo indeterminado e resolve: **“Art. 2º Suspender as aulas e outras atividades curriculares presenciais dos cursos de graduação, pós-graduação, especialização e aperfeiçoamento nos 4 campi da UFSCar, por tempo indeterminado, com retorno condicionado às orientações e determinações emitidas pelas autoridades de saúde e educação.”**

E por fim, a Portaria GR N° 4432/2020, a qual resolve no “Art. 1º Nomear a Comissão para o planejamento do retorno às atividades regulares da universidade no contexto da pandemia do coronavírus (Comissão Planejamento-Retorno) de forma equilibrada e segura para a comunidade UFSCar.” e no Art. 3º em que se trata das atribuições da “Comissão para o planejamento às atividades regulares da universidade”, em seu Inciso II, alínea a estabelece “Data de início do retorno às atividades: variação mensal de julho/2020 a dezembro/2020”. O link para acesso, na íntegra, das portarias indicadas, e suas informações, são encontradas em <https://www2.ufscar.br/covid19>.

Considerando as informações listadas acima, os autores deste trabalho de conclusão de curso (TCC) optaram por redigi-lo na modalidade “artigo de revisão bibliográfica”, para posterior submissão inicial ao periódico *Plant physiology and biochemistry* (ISSN: 0981-9428). Desta forma, apresentamos as informações nessa

modalidade, a fim de explicar e discutir o título 'FITORREMEDIAÇÃO POR PLANTAS DO GÊNÉRO *Brassica* spp. A PARTIR DO USO DE FITORREGULADORES', com base em referências teóricas publicadas em livros, periódicos científicos, comunicados e boletins agronômicos, entre outros, conforme recomendações sugeridas por diferentes autoridades em comunicação científica (MARCONI e LAKATOS, 2007; VOLPATO, 2010).

Embora o período oficial de vigência do TCC tenha sido formalizado a partir do dia 29 de setembro de 2020, destacamos que desde abril de 2018 a orientada (eu, Mayra Silva), participou/a de atividades técnico-científicas na área de fisiologia vegetal, tais como reuniões gerais do ‘Grupo de Pesquisa e Extensão Universitária em Fisiologia Vegetal’ (PExFisio) (<https://www.pexfisiols.ufscar.br/pt-br/pexfisio-ls>), treinamentos técnicos-científicos, organização de atividades síncronas (virtuais) e recrutamento de novos integrantes/orientados. Entre os diferentes treinamentos que a discente participou, listam-se as seguintes atividades:

- i) *‘Métodos espectrofotométricos para determinação de enzimas antioxidantes’;*
- ii) *‘Solução Nutritiva: ferramenta para investigação científica em Fisiologia Vegetal’;*
- iii) *‘Técnicas de redação científica’;*
- iv) *‘Discussões técnico-científicas de artigos científicos’*
- v) *‘Recursos e dicas para elaboração de painéis científicos’;*
- vi) *‘Recursos e dicas para elaboração de exposições orais’;*
- vii) *‘Elaboração de vídeo aula com temas específicos de fisiologia vegetal’;*
- viii) *‘Atendimentos virtuais ofertados pelo orientador’.*

Quadro 1. Plano de trabalho de execução das atividades referentes ao Trabalho de Conclusão de Curso da discente Mayra Dhaiane Cabral da Silva.

Atividades	2020							2021					
	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun
Item 1. Atendimentos e demais orientações síncronas/assíncronas													
Item 2. Burocracias pré TCC: carta de aceite do orientador													
Item 3. Burocracias pré TCC: modelo de projeto													
Item 4. Introdução													
Item 5. Hipótese													
Item 6. Justificativa													
Item 7. Objetivos													
Item 8. Metodologia													
Item 9. Revisão de literatura													
Item 10. Artigo de revisão													
Item 11. Escolha da banca de TCC													
Item 12. Convite / aceite membro de banca													
Item 13. Defesa do TCC													
Item 14. Burocracias pós TCC													
Item 15. TCC inserido no Repositório Institucional													
Item 16. Submissão de artigo à periódico científico													

Item 1. Em razão das medidas de distanciamento social e adotando-se todas as orientações das Autoridades de Saúde Pública no Brasil de prevenção à pandemia, conforme listado no item Limitações de realização das atividades presenciais impostas pela pandemia da COVID-19, os encontros/atendimentos de orientação entre o docente-orientador e a discente-orientada foram síncronos (não-presenciais), previamente agendadas por meio do *Google Meet*, conforme a manifestação da discente e/ou rotina-planejamento proposto pelo orientador;

Itens 2 e 3. Em relação aos documentos obrigatórios do Trabalho de Conclusão de Curso, no dia 09 de outubro de 2020 foi realizado o envio via *e-mail* da Carta de Aceite de Orientação e no dia 02 de novembro de 2020, também via *e-mail*, foi encaminhado o Projeto/Plano de Trabalho para a Coordenação do Trabalho de Conclusão do Curso;

Item 4. Elaboração da introdução segundo o temário absorção iônica; brássica; fitorremediação; metais pesados; translocação; brassinosteroides; crescimento vegetativo; metabolismo vegetal e reguladores de crescimento vegetal;

Item 5. Elaboração das hipóteses 'H0' (nulidade) e 'H1' (alternativa);

Item 6. Elaboração da justificativa para a escolha do tema do estudo;

Item 7. Elaboração do objetivo do trabalho;

Item 8. Elaboração da metodologia, com enfoque no levantamento bibliográfico;

Item 9. Revisão de literatura atualizada constantemente;

Item 10. Elaboração inicial do artigo de revisão para posterior submissão ao periódico *Plant physiology and biochemistry* (ISSN: 0981-9428);

Item 11. Escolha da banca examinadora para avaliar a defesa do TCC;

Item 12. Encaminhamento do convite aos membros da banca examinadora;

Item 13. Defesa do TCC prevista para maio de 2021;

Item 14 e 15. Conforme normas da Universidade Federal de São Carlos o TCC será inserido no Repositório Institucional;

Item 16. Em dezembro de 2020 foi iniciado a escrita do artigo de revisão bibliográfica para posterior publicação em periódico científico (publicação prevista para julho 2021).