

CRESCIMENTO E FOTOSSÍNTESE DE CAFEIEIRO EXPOSTO AO CÁDMIO, NÍQUEL E ZINCO¹

Luiza Macedo²; Tiago Tezotto³; José Laércio Favarin⁴; Ricardo Antunes de Azevedo⁵; Paulo Mazzafera⁶

¹Trabalho financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP: Processo 2006/01248-2

²Graduando, Departamento de Produção Vegetal, ESALQ/USP, Piracicaba-SP, luiza.macedo@usp.br

³Doutorando, Departamento de Produção Vegetal, ESALQ/USP, Piracicaba-SP, tezotto@esalq.usp.br

⁴Professor, Departamento de Produção Vegetal, ESALQ/USP, Piracicaba-SP, jlfavari@esalq.usp.br

⁵Professor, Departamento de Genética, ESALQ/USP, Piracicaba-SP, raazeved@esalq.usp.br

⁶Professor, Departamento de Biologia Vegetal, IB/UNICAMP, Campinas-SP, pmazza@unicamp.br

RESUMO: No manejo da adubação e de outras práticas culturais no cafeeiro pode haver contaminação indesejável de metais pesados, os quais acumulam nos solos ao longo dos anos, e podem causar danos a vários processos fisiológicos e bioquímicos, desencadeados pela exposição dos cafeeiros a esses metais. Nesta pesquisa avaliou-se o efeito do cádmio (Cd), níquel (Ni) e zinco (Zn) na taxa de crescimento de ramos plagiotrópicos, área foliar, trocas gasosas e pigmentos foliares de cafeeiros em produção. A aplicação de Cd e Ni não afetou a taxa de crescimento dos ramos plagiotrópicos, exceto quando foram aplicados 600 g planta⁻¹ de Zn. O Ni não prejudicou a fisiologia da planta, enquanto a aplicação de 45 e 90 g planta⁻¹ de Cd diminuiu a fotossíntese líquida, a transpiração e a condutância estomática e, por sua vez, o fornecimento de 600 g planta⁻¹ de Zn reduziu a fotossíntese líquida e condutância estomática, bem como as concentrações de pigmentos.

Palavras-Chave: Ramos plagiotrópicos; Micronutrientes; Metal pesado; Clorofila

GROWTH AND PHOTOSYNTHESIS EVALUATION IN COFFEE PLANT EXPOSED TO CADMIUM, NICKEL AND ZINC STRESS

ABSTRACT: In the management of fertilizer and other cultural practices in coffee plantation may have undesirable contamination of heavy metals, which accumulate in soils over the years, causing damage to multiple physiological and biochemical processes triggered by exposure of the seedlings to these metals. This research evaluated the effect of cadmium (Cd), nickel (Ni) and zinc (Zn) in the rate of growth of plagiotropic branches, leaf area, gas exchange and leaf pigments in coffee production. The application of Cd and Ni does not affect the rate of growth of branches, except when they are applied 600 g plant⁻¹ of Zn. Ni does not affect the physiology of the plant, since the application of 45 and 90 g plant⁻¹ of Cd decreased net photosynthesis, transpiration and stomatal conductance, and 600 g plant⁻¹ of Zn reduces net photosynthesis and stomatal conductance, and as pigments.

Key words: Plagiotropic branches; Micronutrient; Heavy metal; Chlorophyll

INTRODUÇÃO

O aumento da poluição ambiental por metais pesados tem sido objetos de muitas pesquisas recentes, em razão dos efeitos tóxicos do Cd, Ni e Zn, principalmente em relação ao crescimento e à produtividade das plantas. No entanto, os efeitos tóxicos desses metais em cafeeiros em produção nas condições de campo são de difícil compreensão, apesar de relatos na literatura sobre a interação de metais pesados com aspectos fisiológicos e bioquímicos do cafeeiro (Gomes-Júnior et al., 2006a, 2006b, 2007). Nas plantas, a toxidez de Cd, Ni e Zn geralmente estão relacionadas à redução do crescimento, clorose em folhas novas, redução na taxa fotossintética e alterações nas atividades enzimáticas, principalmente no metabolismo do nitrogênio (Wani et al., 2007; Das et al., 1997; Parida et al., 2003).

Dentre esses metais pesados, o Cd é um dos poluentes mais agressivos e persistentes no ambiente proveniente de atividades antropogênicas. Este metal em baixos teores é tóxico e não apresenta função conhecida nos vegetais. Plantas afetadas por Cd apresentam fotossíntese comprometida, composição mineral alterada e desbalanço hídrico (Drazkiewicz & Baszynski, 2005; Mishra et al., 2006; Ekmekçi et al., 2008).

O Ni satisfaz o critério direto (Dixon et al., 1975) e indireto (Brown et al., 1987) de essencialidade, passando da categoria de tóxico para essencial. Porém, em altas concentrações é altamente tóxico para humanos, animais e plantas (Poulik, 1997). Nas plantas, os sintomas gerados pela toxicidade do Ni incluem clorose e necrose foliar, inibição do crescimento da parte aérea, redução da área foliar e radicular (Shaw et al., 2004), redução das taxas de fotossíntese e respiração (Schickler & Caspi, 1999), baixa germinação de sementes (Rao & Sresty, 2000) e redução da produtividade (Poulik, 1997).

O Zn é um micronutriente essencial a planta, pois está envolvido numa série de reações enzimáticas catalisadoras do metabolismo do ácido nucléico. Por outro lado, o excesso de Zn inibe várias funções metabólicas, que

resultam em redução do crescimento e senescência (Jin et al., 2008). Os sintomas de toxidez de Zn incluem ainda redução da produção e do crescimento, clorose devido à deficiência de ferro e interferência na absorção de outros nutrientes (Broadley et al., 2007; Chaney, 1993; Clemens, 2001; Marschner, 1995; Tewari et al., 2008).

A fertilização do cafeeiro com biossólido pode ser adotada por cafeicultores, como prática agrícola, uma vez que a mesma não afeta a qualidade da bebida (Martins et al., 2005). Porém, pouco se sabe sobre as respostas fisiológicas de cafeeiros em produção à exposição ao Cd, Ni e Zn em condições de campo.

Esta pesquisa foi realizada com objetivo de avaliar o efeito do Cd, Ni e Zn em parâmetros fisiológicos, como a taxa de crescimento de ramos plagiotrópicos, área foliar, trocas gasosas e quantidade de pigmentos, em cafeeiro em produção e em condições de campo.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na área experimental do Departamento de Produção Vegetal da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, Brasil. A área situa a 22°42’ de latitude Sul e 47°38’ de longitude Oeste e 580 m de altitude, em solo classificado como Nitossolo Vermelho, Eutroférico, latossólico, textura argilosa e declividade média de 2%. De acordo com a classificação de Koppen o clima regional é do tipo Cwa, tropical de altitude com inverno seco, temperatura média anual de 22°C e precipitação pluvial média de 1280 mm anuais.

Nesta pesquisa foram utilizadas plantas *Coffea arabica* L. cv. Obatã IAC 1669-20 com sete anos de idade, no espaçamento 3,4 m x 0,9 m (3.270 plantas ha⁻¹). O controle de pragas e doenças foi feito de acordo com técnicas agronômicas recomendadas para esta cultura.

Nesta pesquisa foram utilizados os teores de Cd, Ni e Zn propostos por Abreu et al. (2005). Para estes autores os níveis tóxicos determinados com extrator DTPA variam entre 150 a 452 mg dm⁻³ para o Zn, 30 a 65 mg dm⁻³ para o Ni e de 1 a 3 mg dm⁻³ para o Cd, para solos do Estado de São Paulo. Assim, para a realização dessa pesquisa foram aplicadas as seguintes doses de Cd (0; 15; 45; 90 g planta⁻¹); para o Ni (0; 35; 105; 210 g planta⁻¹); e para o Zn (0; 100; 300; 600 g planta⁻¹). As quantidades de cada metal foram aplicadas na forma de sulfato, após diluição em 10 L de água, a qual foi distribuída em 5 litros no solo de cada lado da planta voltadas para a entrelinha, sob a projeção da copa do cafeeiro.

Para avaliação do crescimento na sequência da primeira aplicação dos metais, foram marcados quatro ramos do terço médio de cada planta direcionado para a entrelinha, por meio de etiquetas no último internódio. Após 128 dias foi medido o comprimento do ramo a partir desse internódio e calculou-se a taxa de crescimento relativo (TCR; cm dia⁻¹), obtida de acordo com a expressão 1:

$$TCR = \Delta CR / \Delta t \quad (1)$$

em que: TCR (cm dia⁻¹) corresponde à taxa de crescimento dos ramos plagiotrópicos identificados, ΔCR (cm) à variação do comprimento desses ramos em cada intervalo de amostragem e Δt (dias) aos intervalos entre as amostragens.

Para as trocas gasosas a taxa de fotossíntese líquida (A), transpiração (E) e a condutância estomática (gs) as medidas foram determinadas ao longo do dia com um medidor portátil modelo ADC.

A determinação do teor de clorofila a, clorofila b, clorofila total, carotenóides e leituras com SPAD foram realizadas em folhas que foram coletadas, envoltas em papel alumínio e colocadas em gelo. As leituras com clorofilômetro portátil SPAD-502 [Soil-Plant Analysis Development (SPAD) Section Minolta Câmera CO. EDT, Japão] foram obtidas e as folhas congeladas, e no laboratório liofilizadas e armazenadas em dessecador no escuro. A clorofila e os carotenóides foram extraídos com etanol 95% e o teor avaliado com espectrofotômetro (Lichtenthaler & Wellburn, 1983).

No final do experimento foi determinada a área foliar total dos novos lançamentos dos ramos plagiotrópicos por meio do integrador óptico de área foliar (LICOR-3100).

A pesquisa foi realizada em blocos casualizados com cinco repetições, em que os resultados foram apresentados por meio da média e desvio padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

As aplicações dos metais Cd e Ni, de forma geral, não afetaram a taxa de crescimento do ramo plagiotrópico (Tabela 1), enquanto para o Zn houve um incremento com a maior dose do metal aos 128 dias. A deficiência de Zn pode manifestar-se por sintomas moderados, como a clorose e folhas menores, até a forma mais intensa, quando as plantas têm o crescimento e a produção comprometidos (Malavolta et al., 1997).

Tabela 1 - Taxa de crescimento dos ramos plagiotrópicos (TCR; cm dia⁻¹) e área foliar (AF; cm²) dos novos lançamentos foliares de cafeeiros expostos a doses de Cd, Ni e Zn no período de 128 dias após a aplicação dos metais

Metais	Aplicado g planta ⁻¹	TCR cm dia ⁻¹	AF cm ²
	Controle	0,056 ± 0,009	126,74 ± 28,71
Cd	15	0,056 ± 0,015	113,40 ± 29,21
	45	0,042 ± 0,009	95,55 ± 19,82
	90	0,042 ± 0,006	84,85 ± 17,70
Ni	35	0,050 ± 0,008	141,74 ± 36,76
	105	0,045 ± 0,006	142,41 ± 28,96
	210	0,046 ± 0,005	77,90 ± 7,17
Zn	100	0,054 ± 0,015	185,26 ± 49,10
	300	0,058 ± 0,017	202,18 ± 22,32
	600	0,142 ± 0,044	189,71 ± 46,67

A interpretação dos resultados da área foliar dos novos lançamentos fica dificultada, devido ao elevado desvio padrão, exceto na maior dose de Ni (210 g planta⁻¹), em que esta variável reduziu 61,5% em relação ao controle. Esta observação pode ser explicada pela tendência de apresentar folhas mais lanceoladas, em relação aos lançamentos foliares da planta controle.

As plantas tratadas com Zn e Ni, em geral, apresentaram fotossíntese semelhante ao controle, com diminuição somente nas maiores doses desses metais (600 g planta⁻¹ de Zn e 210 g planta⁻¹ de Ni), enquanto a aplicação de Cd reduziu a assimilação de CO₂ em todas as doses aplicadas (Tabela 2).

O aumento da fotossíntese em plantas com Zn pode estar relacionado com sua ação no controle da abertura estomática (Sharma et al., 1995), exceto na maior dose de zinco, como observado na presente pesquisa (Tabela 2). Para o Ni sabe-se que este não afeta a abertura estomática (Papazoglou et al., 2007), e que acumula nas células subsidiárias, sem alteração nas células guardas em folhas de *Thlaspi montanum*, uma planta hiperacumuladora desse metal (Heath et al., 1997). Na presente pesquisa a condutância estomática na maior dose de N prejudicou substancialmente a abertura estomática (Tabela 2).

Tabela 2 - Condutância estomática (g_s: mol m⁻² s⁻¹), transpiração (E: mmol m⁻² s⁻¹), assimilação líquida do carbono (A: μmol m⁻² s⁻¹) em cafeeiro expostos a doses de metais, no período de 128 dias

Metal	Aplicado g planta ⁻¹	g _s mol m ⁻² s ⁻¹	E mmol m ⁻² s ⁻¹	A μmol m ⁻² s ⁻¹
	Controle	0,22 ± 0,24	2,82 ± 6,07	5,41 ± 3,23
Cd	15	0,15 ± 0,13	3,61 ± 1,92	4,88 ± 2,96
	45	0,06 ± 0,05	1,58 ± 0,40	1,53 ± 1,52
	90	0,07 ± 0,02	1,90 ± 0,83	1,13 ± 0,50
Ni	35	0,19 ± 0,19	3,85 ± 2,17	5,88 ± 4,08
	105	0,25 ± 0,40	3,91 ± 1,74	6,18 ± 3,73
	210	0,09 ± 0,08	2,65 ± 1,23	4,10 ± 2,66
Zn	100	0,23 ± 0,33	2,89 ± 1,99	5,05 ± 3,56
	300	0,19 ± 0,18	3,89 ± 2,01	5,44 ± 3,83
	600	0,08 ± 0,06	2,55 ± 1,63	3,08 ± 2,08

Por outro lado, as plantas tratadas com Cd sempre apresentaram menores taxas fotossintéticas do que o controle, evidenciando que mesmo sem acumular nos tecidos foliares do cafeeiro, como aconteceu com os demais metais, seus efeitos são muito mais danosos, como relatado por Prasad (1995).

A aplicação de Cd provocou aos 128 dias a senescência foliar, nas doses de 45 e 90 g planta⁻¹, em que os cafeeiros que receberam essas doses apresentaram sintomas de murchamento (Tabela 3). Folhas com elevado teor de nitrogênio apresentam grande teor de clorofilas o que resulta em melhor capacidade fotossintética em relação às folhas

deficientes em nitrogênio (Evans,1983). Assim, a fotossíntese líquida aumenta linearmente com os níveis de proteínas solúveis, com maior assimilação de dióxido de carbono por unidade de nitrogênio em folhas com teor adequado desse elemento (Lawlor, 1994; Lea & Morot-Gaudry, 2001).

Tabela 3 - Concentrações de clorofila *a*, *b*, total, carotenóides ($\mu\text{g ml}^{-1}$) e leituras com SPAD em cafeeiros expostos as doses dos metais Cd, Ni e Zn aos 128 dias. Média de 5 repetições e desvio padrão

Metal	Aplicado g planta^{-1}	Chl a $\mu\text{g ml}^{-1}$	Chl b $\mu\text{g ml}^{-1}$	Chl Total $\mu\text{g ml}^{-1}$	Carotenóides $\mu\text{g ml}^{-1}$	SPAD
	Controle	8,63 ± 1,20	2,93 ± 0,41	11,56 ± 1,60	2,11 ± 0,21	58,9 ± 6,4
Cd	15	7,70 ± 0,95	2,66 ± 0,21	10,36 ± 1,13	2,08 ± 0,17	57,1 ± 4,4
	45	-	-	-	-	-
	90	-	-	-	-	-
Ni	35	10,18 ± 1,20	3,34 ± 0,39	13,52 ± 0,94	2,58 ± 0,42	66,4 ± 5,2
	105	8,95 ± 1,58	2,99 ± 0,43	11,94 ± 1,99	2,21 ± 0,29	62,5 ± 6,9
	210	10,43 ± 1,70	3,43 ± 0,55	13,87 ± 2,23	2,37 ± 0,25	64,9 ± 3,1
Zn	100	8,30 ± 1,37	2,81 ± 0,35	11,11 ± 1,72	2,05 ± 0,21	60,6 ± 8,5
	300	6,87 ± 0,73	2,39 ± 0,30	9,27 ± 1,00	1,86 ± 0,23	53,9 ± 4,5
	600	5,14 ± 0,70	1,98 ± 0,17	7,13 ± 0,85	1,50 ± 0,12	43,6 ± 6,5

- plantas com sintomas de murchamento

CONCLUSÕES

A taxa de crescimento dos ramos plagiotrópicos não é prejudicada pela aplicação de Cd e Ni, exceto pelo fornecimento da maior dose de Zn ($600 \text{ g planta}^{-1}$), enquanto a menor área foliar é obtida com a maior dose de Ni ($210 \text{ g planta}^{-1}$).

A fotossíntese líquida, transpiração e condutância estomática diminuem nas maiores doses de Cd (45 e 90 g planta^{-1}); a maior dose de Zn ($600 \text{ g planta}^{-1}$) prejudica a fotossíntese líquida e a condutância estomática, sem influência do Ni nestas variáveis.

A concentração de clorofilas e carotenóides não é detectada com as maiores doses de Cd ($45 \text{ e } 90 \text{ g planta}^{-1}$); enquanto a maior dose de Zn ($600 \text{ g planta}^{-1}$) prejudica a concentração da clorofila a, b, total e carotenóide; sem alteração pelo fornecimento de Ni.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, C.A.; RAIJ, B. van; ABREU, M.F.; GONZÁLEZ, A.P. Routine soil testing to monitor heavy metals and boron. **Scientia Agricola**, Piracicaba, V.62, p.564-571, 2005.
- BROADLEY, M.R.; WHITE, P.J.; HAMMOND, J.P.; ZELKO, I.; LUX, A. Zinc in plants: Transley review. **New Phytologist**, Cambridge, v. 173, p. 677-702, 2007.
- BROWN, P.H.; WELCH, R.M.; CARY, E.E. Nickel: a micronutrient essential for higher plants. **Plant Physiology**, Rockville, v. 85, p. 501-803, 1987.
- CHANEY, R.L. Zinc phytotoxicity. In: ROBSON, A.D. (ed) **Zinc in Soil and Plants**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1993. p. 135-150.
- CLEMENS, S. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. **Planta**, Berlin, v. 212, p. 475-486, 2001.
- DAS, P.; SAMANTARAY, S.; ROUT, G.R. Studies on cadmium toxicity in plants: A review. **Environmental Pollution**, Barking, v. 98, p. 29-36, 1997.
- DIXON, N.E.; GAZZOLA, C.; BLAKELEY, R.L.; ZERNER, B. Jack bean urease (EC 3.5.1.5). a metalloenzyme. Simple biological role for nickel? **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v. 97, p. 4131-4133, 1975.
- DRAZKIEWICZ, M.; BASZYNSKI, T. Growth parameters and photosynthetic pigments in leaf segments of *Zea mays* exposed to cadmium, as related to protection mechanisms. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 162, p. 1013-1021, 2005.
- EKMEKÇI, Y.; TANYOLAÇ, D.; AYHAN, B. Effects of cadmium on antioxidant enzyme and photosynthetic activities in leaves of two maize cultivars. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 165, p. 600-611, 2008.
- EVANS, J.R. Nitrogen and photosynthesis in the flag leaf of wheat (*Triticum aestivum* L.). **Plant Physiology**, Rockville, v. 70, p. 1605-1608, 1983.

- GOMES-JÚNIOR, R.A.; GRATÃO, P.L.; GAZIOLA, S.A.; MAZZAFERA, P.; LEA, P.J.; AZEVEDO, R.A. Selenium-induced oxidative stress in coffee cell suspension cultures. **Funcional Plant Biology**, Victoria, v. 34, p. 499-459, 2007.
- GOMES-JÚNIOR, R.A.; MOLDES, C.A.; DELITE, F.S.; GRATAO, P.L.; MAZZAFERA, P.; LEA, P.J.; AZEVEDO, R.A. Nickel elicits a fast antioxidant response in *Coffea arabica* cells. **Plant, Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 44, p. 420-429, 2006a.
- GOMES-JÚNIOR, R.A.; MOLDES, C.A.; DELITE, F.S.; POMPEU, G.B.; GRATAO, P.L.; MAZZAFERA, P.; LEA, P.J.; AZEVEDO, R.A. Antioxidant metabolism of coffee cell suspension cultures in response to cadmium. **Chemosphere**, Oxford, v. 65, p. 1330-1337, 2006b.
- HEATH, R.L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives in Biochemistry Biophysics**, Dusseldorf, v. 125, p. 2141-2145, 1968.
- JIN, X.F.; YANG, X.E.; ISLAN, E.; LIU, D.; MAHMOOD, Q.; LI, H.; LI, J. Ultrastructural changes, zinc hyperaccumulation and its relation with antioxidants in two ecotypes of *Sedum alfredii* Hance. **Plant physiology and Biochemistry**, Paris, v. 46, p. 997-1006, 2008.
- LAWLOR, D.W. Relation between carbon and nitrogen assimilation, tissue composition and whole plant function. In: ROY, J.; GARNIER, E. (Ed.). **A whole perspective and carbon nitrogen interactions**. The Hague: SPB Academic Publ., 1994. p. 47-60.
- LEA, J.P.; MOROT-GAUDRY, J.F. **Plant nitrogen**. Berlin: Springer Verlag, 2001. 407 p.
- LICHTENTHALER, H.K.; WELLBURN, A.R. Determination of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* in leaf extracts in different solvents. **Biochemical Society Transaction**, London, v. 11, p. 591-592, 1983.
- LIU, C.P.; SHEN, Z.G.; LI, X.D. Accumulation and detoxification of cadmium in *Brassica pekinensis* and *B. chinensi*. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 51, p. 116-120, 2007.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: Princípios e aplicações**. 2.ed. Piracicaba, Potafos, 1997. 319p.
- MARSCHNER, H. **Mineral Nutrition of Higher Plants**, 2nd edn. London: Academic Press, 1995.
- MARTINS, D.R.; CAMARGO, O.A.; BATAGLIA, O.C. Qualidade do grão e da bebida em cafeeiros tratados com lodo de esgoto. **Bragantia**, Campinas, v. 64, p. 115-126, 2005.
- MISHRA, S.; SRIVASTAVA, S.; TRIPATHI, R.D.; GOVINDARAJAN, R.; KURIAKOSE, S.V.; PRASAD, M.N.V. Phytochelation synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L. **Plant physiology and biochemistry**, Paris, v. 44, p. 25-37, 2006.
- PAPAZOGLU, E.G.; SERELIS, K.G.; BOURANIS, D.L. Impact of high cadmium and nickel soil concentration on selected physiological parameters of *Arundo donax* L. **European journal of soil biology**, Montrouge, v. 43, p. 207-215, 2007.
- PARIDA, B.K.; CHHIBBA, I.M.; NAYYAR, V.K. Influence of nickel-contaminated soils on fenugreek (*Trigonella corniculata* L.) growth and mineral composition. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 98, p. 113-119, 2003.
- POULIK, Z. The danger of cumulation of nickel in cereals on contaminated soil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 63, p. 25-29, 1997.
- PRASAD, M.N.V. Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 35, p. 525-545, 1995.
- RAO, K.V.M.; SRETTY, T.V.S. Antioxidant parameters in the seedlings of pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh) in response to Zn and Ni stresses. **Plant Science**, Amsterdam, v. 157, p. 113-128, 2000.
- SCHICKLER, H.; CASPI, H. Response of antioxidant enzymes to nickel and cadmium stress in hyperaccumulator plants of the genus *Alyssum*. **Physiologia plantarum**, Copenhagen, v. 105, p. 39-44, 1999.
- SHARMA, P.N.; TRIPATHIA, A.; BISHT, S.S. Zinc requirement for stomatal opening in cauliflower. **Plant Physiology**, Rockville, v. 107, p. 751-756, 1995.
- SHAW, B.P.; SAHU, S.K.; MISHRA, R.K. Heavy metal induced oxidative damage in terrestrial plants. IN: PRASAD, M.N.V. (ed.) **Heavy metal stress in plants: from biomolecules to ecosystems**. Narosa Publishing House, New Delhi, pp. 84-126, 2004.
- TEWARI, R.K.; KUMAR, P.; SHARMA, P.N. Morphology and physiology of zinc-stressed mulberry plants. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Berlin, v. 171, p. 286-294, 2008.
- WANI, P.A.; KHAN, M.S.; ZAIDI, A. Impact of heavy metal toxicity on plant growth, symbiosis, seed yield and nitrogen and metal uptake in chickpea. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Melbourne, v.47,p.712-720,2007.