



UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV
PROGRAM DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**GERMINAÇÃO DE ESPÉCIES
FORRAGEIRAS NA PRESENÇA DE
CÁDMIO, COBRE E CHUMBO**

KATHLEEN STEINER ROSNIECEK

LAGES, 2019

KATHLEEN STEINER ROSNIECEK

**GERMINAÇÃO DE ESPÉCIES FORRAGEIRAS NA PRESENÇA DE CÁDMIO,
COBRE E CHUMBO**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-graduação em Ciências do Solo do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência do Solo.

Orientadora: Prof^a. Dra Mari Lucia Campos

**LAGES
2019**

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CAV/UDESC,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Rosniecek, Kathleen Steiner
Germinação de espécies forrageiras na presença de
cádmio, cobre e chumbo. / Kathleen Steiner Rosniecek. --
2019.
52 p.

Orientador: Mari Lucia Campos
Coorientador: David José Miquelluti
Coorientadora: Cileide Maria Medeiros Coelho
Dissertação (mestrado) – Universidade do Estado de
Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias,
Programa de Pós-Graduação , Lages, 2019.

1. Elementos-traço. 2. Forragem. 3. Toxicidade. 4.
Brachiaria. 5. Panicum. I. Campos, Mari Lucia . II. José
Miquelluti, David . Maria Medeiros Coelho, Cileide. III.
Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de
Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação . IV.
Título.

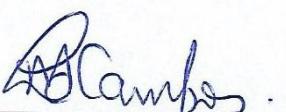
KATHLEEN STEINER ROSNIECEK

GERMINAÇÃO DE ESPÉCIES FORRAGEIRAS NA PRESENÇA DE CÁDMIO, COBRE E CHUMBO

Dissertação apresentada ao curso de Pós-graduação em Ciência do Solo do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência do Solo.

Orientadora: Profª. Dra Mari Lucia Campos

Banca Examinadora

Membro interno: 
Prof. Drª. Mari Lucia Campos
(UDESC – Lages, SC)

Membro Interno: 
Drª. Natalia Ehrhardt Brocardo
(UDESC – Lages, SC)

Membro Externo: 
Prof. Drª Maria Benta Cassettaria Rodrigues
(UNIFACVEST- Lages, SC)

Lages, 21 de fevereiro de 2019

Dedico a Deus e a minha
família que foram e são o meu
alicerce nesta caminhada.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer a Deus pela vida e por colocar momentos de muitas conquistas no meu caminho.

A todos aqueles que de alguma forma direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho. Agradeço:

Agradeço ao meu pai Alfonso que mesmo longe sempre me apoiou, me incentivou e vibrou com cada objetivo alcançado.

Agradeço a minha mãe Isolde (In memoriam), que mesmo não estando mais aqui em vida, sempre deixou seus afazeres para me ouvir, teve a chance de participar de todas as etapas desta conquista, sempre tinha uma palavra de conforto quando a distância apertava o coração e sei que hoje, onde ela estiver está guiando meus passos como sempre fez.

Aos meus irmãos Margalen, Alan e Franciellen, que sempre foram meu braço direito e esquerdo quando eu precisava. Aos meus cunhados Ronivão e Laércio pelo apoio.

A minha sobrinha/afilhada Marcella que sempre teve muito orgulho da madrinha.

Ao meu marido, companheiro, amigo, e parceiro Marcos Rosniecek, que sempre está presente me apoiando, caminhando ao meu lado, com muito carinho e claro muita paciência. Obrigado por tudo sempre.

Aos amigos de longe, de perto e de bem pertinho, a aqueles que com essa caminhada conheci e levo para a vida, obrigada pelo apoio, ajuda, trocas de ideias, o meu muito obrigada.

Aos meus colegas de laboratório, o meu muito obrigado pelo apoio, ensinamentos, paciência e parceria. Em especial aos colegas do laboratório de análise de sementes que sempre estiveram à disposição me auxiliando no que eu precisava. Muito obrigada.

A minha orientadora um especial agradecimento Dra. Mari Lucia Campos, que sempre esteve pronta em me ajudar, me orientando, contribuindo para minha formação como pós-graduanda e como pessoa muito obrigada, por ser está pessoa incrível que levo como uma amiga no coração para toda vida.

Ao coorientador Prof. Dr. David José Miquelluti por todo suporte, ajuda.

A coorientadora Prof. Dra. Cileide Maria Medeiros Coelho por dúvidas esclarecidas e orientações.

Agradeço a Universidade do Estado de Santa Catarina/Centro de Ciências Agroveterinárias - UDESC/CAV, pelos ensinamentos e dedicação, e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo pela oportunidade de estudo e a CAPES pela bolsa concedida.

Agradeço a todos aqueles que de alguma forma contribuíram com a minha formação.

Obrigada a todos!

“O mundo está nas mãos daqueles que tem
coragem de sonhar, e correr o risco de viver
seus sonhos.” (**Paulo Coelho**)

RESUMO

ROSNIECEK, Kathleen Steiner. **Germinação de espécies forrageiras na presença de cádmio, cobre e chumbo.** 2019. 52 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Lages, 2019.

As atividades de exploração mineral devem ser planejadas e a recuperação desses ambientes deve fazer parte do plano de práticas para restaurar a cobertura vegetal e proporcionar a conservação do solo. Entretanto, em situações onde o solo foi contaminado com elementos-traço há necessidade de introduzir espécies tolerantes e de crescimento rápido. Nesse contexto, algumas espécies de gramíneas têm sido estudadas para compor programas de recuperação e fitorremediação de áreas contaminadas. O objetivo do presente estudo foi avaliar a germinação das espécies forrageiras *Brachiaria humidicola*, *Panicum maximum* cultivares Aruana e Tanzânia na presença dos elementos-traço cádmio (Cd), cobre (Cu) e chumbo (Pb) e selecionar a espécie com maior tolerância a esses elementos. O experimento foi conduzido no Laboratório para Análise de Sementes- LAS (CAV-UDESC), seguindo o protocolo sugerido em Regras para Análise de Sementes – RAS (BRASIL, 2009). Antes do início dos testes de germinação fez-se um tratamento prévio de superação de dormência mantendo as sementes em pré-esfriamento de 5 - 10°C por um período de 5 (cinco) dias. Os testes foram conduzidos na ausência dos elementos (testemunha - 0 mg L⁻¹), e nas concentrações de 3, 180 e 200 mg L⁻¹ para Cd, Pb e Cu respectivamente. Essas concentrações correspondem aos valores de investigação agrícola proposto pela Resolução nº 420 do CONAMA 2009. Os sais utilizados foram Cd(NO₃)₂, Pb(NO₃)₂ e Cu(NO₃)₂. Cada unidade experimental foi composta por 150 sementes, com seis repetições para cada tratamento. A contagem de sementes germinadas foi realizada diariamente, apenas eram consideradas germinadas as plântulas que obtinham comprimento radicular superior a 5 mm e que houve o rompimento da plâmulas. Foram calculados porcentagem de germinação (G), Índice de Velocidade de Germinação (IVG), Vigor (V) e Índice de tolerância para parte aérea (PA) e raiz (RA). A presença do Cu inibiu a germinação, emissão de raiz e parte aérea da espécie *P. maximum* cv. Aruana. A porcentagem de germinação, comprimento de parte aérea e índice de vigor foram afetadas pela presença do Cu para as espécies *P. maximum* cv. Tanzânia e *B. humidicola* cv. Tupi. A porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação e comprimento de parte aérea das três espécies estudadas foram afetadas pela presença do Cd. A presença do Pb afetou comprimento de parte aérea e raiz, e índice de vigor para *P. maximum* cv. Aruana e *P. maximum* cv. Tanzânia, enquanto que, a espécie *B. humidicola* cv. Tupi. Não foi afetada. A ordem decrescente de sensibilidade das espécies na presença de Cd e Pb foi *P. maximum* cv. Aruana > *P. maximum* cv. Tanzânia > *B. humidicola* cv. Tupi.

Palavras-chave: Elementos-traço. Forragem. Toxicidade. *Brachiari*. *Panicum*.

ABSTRACT

ROSNIECEK, Kathleen Steiner. **Germination of forage species in the presence of cadmium, copper and lead.** 2019. 52 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós- Graduação em Ciência do Solo, Lages, 2019.

Mineral exploration activities should be planned and recovery of these environments should be part of the plan of practices to restore plant cover and provide soil conservation. However, in situations where soil has been contaminated with trace elements, there is a need to introduce tolerant and fast-growing species. In this context, some grass species have been studied to compose recovery programs and phytoremediation of contaminated areas. The objective of the present study was to evaluate the germination of forage species *Brachiaria humidicola*, *Panicum maximum* cultivars Aruana and Tanzania in the presence of trace elements cadmium (Cd), copper (Cu) and lead (Pb) and select the species with the highest tolerance to these elements. The experiment was conducted in the Laboratory for Seed Analysis (LAS-CAV-UDESC), following the protocol suggested in Rules for Seed Analysis - RAS (BRASIL, 2009). Before germination tests were started, pre-treatment of dormancy was carried out, keeping seeds pre-cooled at 5 -10°C for a period of five (5) days. The tests were conducted in the absence of the elements (control - 0 mg L-1), and in the concentrations of 3, 180 and 200 mg L-1 for Cd, Pb and Cu, respectively. These concentrations correspond to the values of agricultural research proposed by Resolution No. 420 of CONAMA 2009. The salts used were Cd (NO₃)₂, Pb (NO₃)₂ and Cu (NO₃)₂. Each experimental unit was composed of 150 seeds, with six replicates for each treatment. The germinated seeds were counted daily, only the seedlings that had a root length of more than 5 mm were germinated and the plumule was broken. Germination percentage (G), Germination Speed Index (IVG), Vigor (V) and tolerance index for aerial part (PA) and root (RA) were calculated. The presence of Cu inhibited the germination, root emission and aerial part of the species *P.maximum* cv. Aruana. The percentage of germination, shoot length and vigor index were affected by the presence of Cu for the species *P.maximum* cv. Tanzania and *B. humidicola* cv. Tupi. The percentage of germination, germination speed index and shoot length of the three species studied were affected by the presence of Cd. The presence of Pb affected shoot length and root length, and vigor index for *P.maximum* cv. Aruana and *P.maximum* cv. Tanzania, while the species *B. humidicola* cv. Tupi. It was not affected. The decreasing order of species sensitivity in the presence of Cd and Pb was *P.maximum* cv. Aruana> *P.maximum* cv. Tanzania> *B. humidicola* cv. Tupi.

Keywords: Trace elements. Fodder. Toxicity. *Brachiari*. *Panicum*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Índice de tolerância da parte aérea (IT PA) e raiz (IT RA) para as espécies *Panicum maximum* cv. Aruana, *Panicum maximum* cv. BRS Tanzânia, *Brachiaria humidicola* cv. BRS Tupi, para os elementos-traço Cd, Cu e Pb.....41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Caracterização da pureza física e porcentagem de germinação das sementes <i>Panicum maximum</i> cv. Aruana, <i>Panicum maximum</i> cv. BRS Tanzânia, <i>Brachiaria humidicola</i> cv. BRS Tupi.....	32
Tabela 2 – Porcentagem de Germinação (PG), parte aérea (PA) e índice de vigor (IV) pra <i>Panicum maximum</i> cv. Aruana, <i>Panicum maximum</i> cv. BRS Tanzânia, <i>Brachiaria humidicola</i> cv. BRS Tupi na ausência (0 mg L ⁻¹) e presença de Cu (200 mg L ⁻¹).....	36
Tabela 3 – Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e comprimento de raiz (RA) para <i>Panicum maximum</i> cv. Aruana, <i>Panicum maximum</i> cv. BRS Tanzânia, <i>Brachiaria humidicola</i> cv. BRS Tupi na ausência (0 mg L ⁻¹) e presença de Cu (200 mg L ⁻¹)	37
Tabela 4 – Comprimento de raiz (RA), parte aérea (PA) e índice de vigor (IV) para <i>Panicum maximum</i> cv. Aruana, <i>Panicum maximum</i> cv. BRS Tanzânia, <i>Brachiaria humidicola</i> cv. BRS Tupi na ausência (0 mg L ⁻¹) e presença de Pb (180 mg L ⁻¹)	38
Tabela 5 – Porcentagem de Germinação (PG), Índice de Velocidade de Germinação (IVG), comprimento de raiz (RA) e parte aérea (PA) e índice de vigor (IV) na ausência (0 mg L ⁻¹) e presença de Cd (3 mg L ⁻¹)	40

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ATSDR	Agência de Substâncias Tóxicas e Registro de Doenças
As	Arsênio
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
Cd	Cádmio
Cr	Cromo
Cu	Cobre
CAV	Centro de Ciências Agroveterinárias
CAT	Catalase
cm	Centímetros
Co	Cobalto
CR _{AUS}	Comprimento de raiz na ausência do metal
CR _{Pr}	Comprimento da raiz na presença do metal
ERO's	Espécies reativas de oxigênio
GR	Glutamina redutase
Hg	Mercúrio
IMZ	Imidazole
IT	Índice de tolerância
IV	Índice de vigor
IVG	Índice de velocidade de germinação
LAS	Laboratório de Análises de Sementes
mg L ⁻¹	Miligramas por litro
Mn	Manganês
mm	Milímetro
Mo	Molibdênio
Ni	Níquel
OMS	Organização Mundial da Saúde
Pb	Chumbo
PG	Porcentagem de germinação
pH	Potencial de Hidrogênio
POX	Peroxidase
RAS	Regras para Análise de Sementes
UDESC	Universidade do Estado de Santa Catarina
Se	Selenio
SC	Santa Catarina
SOD	Superóxido dismutase
SEM	Standard Reference Materials
Zn	Zinco
°C	Grau Celsius
%	Porcentagem
®	Marca Comercial Registrada

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	23
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
2.1 ALTERAÇÕES METABOLICAS E BIOQUÍMICAS DAS PLANTAS EXPOSTAS A ELEMENTOS-TRAÇO	25
2.2 GERMINÇÃO EM AMBIENTE CONTAMINADO	26
2.3 Cd, Pb e Cu NAS PLANTAS	27
2.4 PANICUM e BRACHIARIA	28
3. OBJETIVO	31
3.1 OBJETIVO GERAL	31
4. HIPÓTESES	31
5. MATERIAL E MÉTODOS	31
5.1 TESTES DE GERMINAÇÃO	32
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
6.1 COBRE	35
6.2 CHUMBO	37
6.3 CÁDMIO	38
6.4 ÍNDICE DE TOLERÂNCIA	40
7. CONCLUSÃO	43
REFERÊNCIAS	44

1. INTRODUÇÃO

Na exploração de recursos minerais um componente de grande importância é a recuperação das áreas degradadas, em especial no processo de mineração de superfície onde apresentam grandes impactos sobre o solo e a paisagem. As atividades de exploração mineral devem ser planejadas e sua recuperação deve fazer parte do plano de práticas e conservação do solo, preservando assim o potencial produtivo do solo (YADA et al., 2015).

Para a restauração de solos contaminados com elementos-traço uma das técnicas é a fitorremediação, onde são usadas plantas tolerantes que removam e acumulam elementos-traço em seus tecidos (MIDHAT et al., 2018). As plantas usadas na fitorremediação melhoram a fertilidade do solo, aumentam o conteúdo de matéria orgânica. Sendo já comprovada que é uma técnica mais ecológica e econômica que as alternativas físicas e químicas convencionais (ÁLVAREZ-MATEOS; ALÉS-ÁLVAREZ; GARCÍA-MARTÍN, 2019).

Tem aumentado consideravelmente nos últimos anos o uso de gramíneas forrageiras para fitorremediação de elementos-traço, uma vez que, estas plantas mostram um crescimento rápido, um vasto sistema radicular (o que aumenta a captação de elementos-traço), e produção de massa seca elevada (CHEN et. al, 2014; LAMBRECHTS et. al, 2014).

Portanto, as gramíneas têm importância fundamental ajudando na recuperação, proteção e revitalização do solo, apresentando rápido crescimento, exigência em fertilidade relativamente baixa, alta capacidade de perfilhamento e sistema radicular fasciculado, produzindo estolões e rizomas. Este conjunto de atributos faz com que as gramíneas sejam apropriadas para a recomposição e recuperação das áreas degradadas com elementos-traço (PEREIRA, 2006).

Entre as gramíneas, a *Brachiaria spp.* destaca-se pela quantidade de matéria seca produzida, pelo fácil cultivo e pela sua adaptação sob diferentes solos, entretanto, poucos são os estudos com este gênero na presença da contaminação por elementos-traço. Gramíneas tem um melhor estabelecimento em áreas contaminadas com elementos-traço, com facilidade no desenvolvimento, rápido crescimento, ajudando na ciclagem de nutrientes,

aumentando o teor de matéria orgânica e melhorando a cobertura do solo (BORGES et al., 2016). Para *Panicum maximum* Jacq., as cultivares disponíveis comercialmente são basicamente adaptadas a solos profundos, bem drenados e de boa fertilidade (HERLING et al., 2000). A cultivar Aruana apresenta alta produtividade de forragem (SOUZA et al., 2018), com 35 a 40% da produção anual ocorrendo no inverno. Possui propagação por sementes, com formação rápida da pastagem, e grande potencial e rapidez no perfilhamento, com excelente capacidade de cobertura do solo, que auxiliam no controle da erosão (CORREIA E PERUSSI, 2015). Já a cultivar Tanzânia apresenta elevado potencial de produção e valor nutritivo e alta resposta à adubação (GONÇALVES; BORGES, 2006).

A germinação é uma das fases mais importantes da semente, sendo um processo sensível a elementos-traço comparando com outros estágios do desenvolvimento da planta. Portanto a avaliação da germinação pode ser útil na seleção de gramíneas para fitorremediação, entretanto, poucas são as informações sobre como elas são afetadas na presença de altas concentrações de elementos-traço (MADEJÓN et al., 2015) . Diferentes elementos-traço em diferentes doses possibilitam diferentes graus de toxicidade podendo ou não inibir a germinação (KRANNER e COLVILLE, 2011).

Neste contexto, o presente estudo tem por objetivo avaliar a germinação, vigor e índice de tolerância das espécies *Brachiaria humidicola*; *Panicum maximum* cultivares Aruana e Tanzânia; na presença de Cd, Cu e Pb e selecionar a espécie mais tolerante a esses elementos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ALTERAÇÕES METABÓLICAS E BIOQUÍMICAS DAS PLANTAS EXPOSTAS A ELEMENTOS-TRAÇO

Os elementos-traço são conhecidos por induzir o estresse oxidativo, gerando altas concentrações de espécies reativas de oxigênio (ERO). As ERO's reagem com lipídios, ácidos nucléicos, pigmentos e proteínas causando peroxidação lipídica, gerando danos à membrana, inativando enzimas e afetando a viabilidade celular (FOYER CH et al., 1997). O dano celular pode depender do grau causado pelo estresse abiótico das taxas de produção de remoção de ERO's (GILL e TUTEJA, 2010).

As espécies reativas de oxigênio (ERO's) são geradas principalmente pelas mitocôndrias, cloroplastos, peroxissomos e NADPH oxidase (NOX) (MITTLER et al., 2004). Estudos mostram que o NOX detecta o estresse ambiental (JIANG et al., 2011), e inibidores específicos dessa enzima produtora de ERO's formam portadores, incluindo imidazole (IMZ) e difenileno iodônio (DPI) (AUH e MURPHY, 1995). IMZ e DPI sempre foram usados para inibir o NOX durante a germinação de sementes (ISHIBASHI et al., 2010, MA et al., 2007).

Durante o desenvolvimento das sementes as ERO's desempenham um papel importante e fundamental. Na embriogênese até a germinação de sementes (WOJTYLA et al., 2016, JEEVAN et al., 2015). As ERO's são consideradas como prejudiciais às sementes (RATAJCZAK et al., 2015), mas o seu papel está destacado na liberação de dormência de sementes. A principal enzima produtora de ERO's, o NOX mostra que é necessário para a germinação de sementes (ISHIBASHI et al., 2010).

Para as plantas, alguns dos elementos-traço são considerados essenciais para as condições fisiológicas e outros não essenciais (ASATI et al., 2016). Os essenciais como o zinco (Zn), Cu, cobalto (Co), manganês (Mn) e molibdênio (Mo) tem papéis importantes nos processos fisiológicos, sendo cofatores em reações redox e interações de ligantes, enquanto os não essenciais como arsênio (As), Cd, cromo (Cr), Pb e mercúrio (Hg) não necessários para os organismos, porém, interferem nos processos fisiológicos

como a divisão celular, no desenvolvimento radicular (TCHOOUNWOU et al., 2012; RAHMAN et al., 2012).

As plantas tem mecanismos diferentes de reação ao estresse oxidativo podendo usar enzimas antioxidantes como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POX), glutationa redutase (GR) e antioxidantes de baixo massa molecular como cisteína, tióis não proteicos, ácido ascórbico e glutationa. (NOCTOR G. et al; 1998). Cada espécie de planta combate a toxicidade dos elementos-traço de modos diferentes. Estes modos se referem em realizar a imobilização, a exclusão, o sequestro dos elementos-traço para o vacúolo, e a expressão de proteínas induutivas ao estresse em relação à resistência dos elementos-traço. Portanto para a desintoxicação é realizado o sequestro para dentro do vacúolo após a complexação com pequenos peptídeos como exemplos os fitoquelatinas, este é um modelo que mais predomina em plantas para a desintoxicação de elementos-traço (SHRI et al. 2014; ANJUM et al. 2015).

2.2 GERMINAÇÃO EM AMBIENTE CONTAMINADO

A germinação das sementes é o primeiro passo da vida de uma planta e é um dos processos mais sensíveis na fisiologia das plantas (AHSANA et al., 2007; MOOSAVI et al., 2012). Para que ocorra a germinação das sementes é necessário luminosidade, temperatura e água (CARVALHO & NAKAGAWA, 2012).

No crescimento das plantas, a germinação é a fase crítica, e contra o desenvolvimento das plântulas como a sensibilidade à poluição ambiental e o curto período sem fotossíntese (LUO Y. et al., 2018).

O teste mais amplamente utilizado para a toxicidade do metal é o teste de germinação das sementes (KAPUSTKA e REPORTER, 1993; MUNZUROGLU e GECKIL, 2002). Depois da permeabilidade através do tegumento da semente a germinação se mantém com as reservas armazenadas neste momento, os elementos-traço podem causar o stress oxidativo e perturbar o processo, de igual modo interferir nas enzimas envolvidas no processo de germinação (KO et al., 2012).

Os mecanismos envolvidos na absorção e tolerância das plantas em presença de elementos-traço estão relacionados às diferenças na estrutura e no funcionamento das membranas celulares, na remoção de íons do metabolismo por armazenamento em formas fixas e/ou insolúveis em vários órgãos e organelas, alteração em padrões metabólicos, dentre outros (MOHR & SCHOPFER, 1995).

Trabalhos realizados com espécies de plantas forrageiras revelaram potencial de acumulação de elementos-traço na parte aérea para *Avena sativa* (DAN, 2008), para o Ni; *Avena strigosa* para o Cd (URAGUCHI et al., 2009; LIMA, 2008), Pb e Zn (ANDRADE, 2015); *Brachiaria decumbens* e *Chloris gayana* para o Pb e Cd (KOPITTKE, 2007; 2009); *Chloris gayana* para Zn (ARFICHO, 2009); *Festuca arundinacea* e *Festuca pratensis* para o Cd (SOLEIMANI et al., 2010); *Pennisetum americanum x Pennisetum purpureum*, *Paspalum atratum* cv. Reyan, *Silphium perfoliatum* e *Stylosanthes guianensis* cv. Reyan para Cd e Zn (ZHANG et al., 2010); *Lolium perenne* e *Trifolium repens* para o Cd e Zn; (LAMBRECHTS et al., 2014); *Lolium perenne* para o Zn (BONNET, 2000; ZALEWSKA, 2012); *Sorghum bicolor* para o Zn (MIRSHEKALI, 2012); *Raphanus sativus* para o Cd (LIMA, 2008); *Canavalia ensiformis* para Cd e Pb, e *Vetiver zizanioides* para Cd, Pb e Zn (ASSUNÇÃO, 2012) e *Setaria sphacelata* para o Zn e Cu (ARFICHO, 2009).

O nabo forrageiro, a aveia preta (LIMA, 2008) e o feijão-de-porco (ROMEIRO, 2007) acumulam na parte aérea Cd e Pb, respectivamente. A aveia-preta, o girassol e a grama-batatais apresentam tolerância a altas concentrações de Pb no solo (ANDRADE et al., 2009). Entretanto, espécies como *Andropogon gayanus*, *Panicum maximum*, *Paspalum* sp., *Brachiaria decumbens* e *Brachiaria brizantha* mostraram-se sensíveis à contaminação do solo por Cd e Zn (CARNEIRO et al., 2002).

2.3 Cd, Pb e Cu NAS PLANTAS

A poluição com elementos-traço vem crescendo, porém, poucos são os estudos relacionados ao impacto na germinação de sementes, onde se detalha elementos-traço no metabolismo e na germinação das sementes, comparando

com estudos sobre efeitos dos elementos-traço nos tecidos vegetativos especialmente raízes e brotos (ZHANG, Y. et al., 2011).

Elementos como, Cu, Cr (III), Mn, Ni, Se e Zn são essenciais para o crescimento dos vários tipos de organismos, desde bactérias, plantas até mesmo os seres humanos. No entanto, esses elementos, são requeridos em baixas concentrações (micronutrientes) e podem danificar sistemas biológicos. Por outro lado, elementos como As, Cr (VI), Cd e Pb não foram identificadas funções biológicas com esses elementos nos organismos (LOPES, 2010).

Em plantas concentrações excessivas resultam em fitotoxicidade (PAIVA et al., 2004). A toxicidade do elemento-traço é atribuída à sua habilidade de se ligar a enzimas, provocando sua inativação ou mesmo aumentando a atividade de algumas, resultando em alterações na sua função catalítica (VAN ASSCHE & CLIJSTERS, 1990).

As interações do sistema solo-planta são de natureza complexa e a disponibilidade dos elementos-traço para as plantas podem variar devido a diversos fatores que atuam na absorção dos elementos-traço em plantas. Esses fatores dependem das propriedades do solo tais como composição química do solo, granulometria, teor de matéria orgânica, capacidade de troca catiônica, pH do solo ou da extensão do sistema radicular (SANTOS et al., 2005; KABATA-PENDIAS, 2011).

Os elementos-traço podem ou não apresentar efeitos deletérios às plantas. Quando apresentam danos às plantas, destaca-se os seguintes efeitos deletérios: a clorose, redução de comprimento da plântula, do sistema radicular e/ou parte aérea, supressão da germinação, inibição da fotossíntese, peroxidação lipídica induzida, redução na divisão celular e problemas na absorção de água (SHARMA & DUBEY, 2005; GUIMARÃES, et al., 2008; KABATA-PENDIAS, 2011; PURUSHOTHAMAN et al., 2011; GILL et al., 2013).

2.4 PANICUM e BRACHIARIA

As gramíneas apresentam características que as destacam como um grupo diferenciado e diversificado de plantas. Têm importância fundamental do ponto de vista ecológico, ajudando na recuperação, proteção e revegetação do

solo. Apresentam rápido crescimento, exigência em fertilidade relativamente baixa, alta capacidade de perfilhamento e sistema radicular que proporciona alto suporte mecânico para o solo. O conjunto destes atributos faz com que as gramíneas sejam apropriadas para a recomposição e recuperação das áreas degradadas com elementos-traço (PEREIRA, 2006).

O gênero *Panicum* tem origem na África tropical, e caracteriza-se por possuir grande variabilidade genética e morfofisiológica. É constituído por espécies com hábito de crescimento cespitoso, por plantas tolerantes e sensíveis ao encharcamento, por ecótipos que exigem em solos com fertilidade moderada a alta, por plantas tolerantes ou sensíveis ao excesso de Al e por possuir reprodução apomítica e sexuada (CORSI, 1988).

O cultivar Aruana é uma alternativa que mostra bons resultados com características como: ótima aceitabilidade, alto valor nutritivo, alto perfilhamento com uma produtividade de 35 a 40% da produção anual ocorrendo no inverno. Possui propagação por sementes, com formação rápida da pastagem, com excelente capacidade de cobertura do solo, que auxiliam no controle da erosão. Tem excelente aceitabilidade e consorcia-se muito bem com leguminosas forrageiras. Apresenta boa qualidade de forragem, suporta pastejo mais intensivo e geadas fracas. Não é adaptado a solos ácidos de baixa fertilidade (SOUZA et al., 2018).

O cultivar Tanzânia possui hábito cespitoso, desenvolvimento vigoroso, propagação por sementes e exigência em fertilidade, desenvolvendo-se melhor em solos de textura média e bem drenados, com precipitação anual em torno de 1000 mm. Apresenta elevado potencial de produção e valor nutritivo, alta resposta à adubação, resistência moderada à cigarrinha das pastagens, manejo mais fácil quanto à uniformidade de pastejo, maior relação folha: haste e boa resposta sob pastejo rotacionado.

Fonseca (2012) observou uma tendência de acúmulo de Cd nas raízes e colmos em plantas de Aruana e Tanzânia cultivadas em solução hidropônica contaminada, no entanto, as plantas foram sensíveis ao metal.

Silva et al. (2014) observaram sensibilidade dos dois cultivares ao Mn e altos teores do metal acumulado nas folhas de plantas cultivadas em solo contaminado. Nascimento (2013) observou a sensibilidade dos cultivares ao Pb e a tendência de acúmulo do metal nas raízes e colmos do cultivar Aruana, e

na parte aérea do cultivar Tanzânia, quando desenvolvidas em meio hidropônico contaminado.

A *Brachiaria humidicola* é originária da África Equatorial, é uma gramínea perene tropical, de crescimento estolonífero vigoroso e propagação por sementes, demorando mais tempo para cobrir o solo, no entanto, é tão produtiva quanto as outras braquiárias. A digestibilidade e a palatabilidade para esta espécie são classificadas como média a baixa. É bastante agressiva e pouco exigente em solos. Vegeta bem em locais secos ou úmidos, e resiste bem à geada. Adapta-se em solo de baixa fertilidade, mas responde bem à adubação. Ideal para o cultivo em baixadas encharcadas. Possui tolerância a manejo baixo e intensivo, suportando uma alta lotação de animais. De um modo geral, tem maior resistência à cigarrinha das pastagens (PEREIRA, 2006).

Santos (2005), observou altos teores de Cd e Zn na parte aérea de plantas de *Brachiaria humidicola* cultivadas em solução hidropônica contaminada, apesar da sensibilidade da produção de matéria seca. Tal sensibilidade também foi observada por plantas desenvolvidas em solo contaminado pelos metais, com elevada acumulação de Zn na parte aérea e para Cd nas raízes (CARNEIRO, 2002).

Estudos sobre mecanismos de remediação de elementos-traço, mostram que a *Brachiaria decumbens* pode ser uma alternativa interessante para identificar e selecionar a tolerância ao Cobre (Cu), está espécie apresenta rendimento de biomassa, tolerância a solos ácidos, fácil implantação, crescimento rápido, alta eficiência fotossintética (ARROYAVE et al, 2013). Santos et al, 2006 salientam que a *Brachiaria decumbens*, e seu rápido crescimento, acúmulo de biomassa e a tolerância ao alumínio (Al) atende os requisitos para ser usado em cádmio (Cd), zinco (Zn) e para a fitoextração de chumbo (PB).

3. OBJETIVO

3.1 OBJETIVO GERAL

Objetivo do trabalho foi avaliar a germinação e a tolerância das espécies *Brachiaria humidicola*; *Panicum maximum* cultivares Aruana e Tanzânia ao Cd, Cu e Pb. Objetivo do trabalho foi avaliar a germinação e a tolerância das espécies.

4. HIPÓSETES

As hipóteses deste trabalho são:

- a) as sementes de *Brachiaria humidicola*; *Panicum maximum* cultivares Aruana e Tanzânia são capazes de germinar na presença de Cd, Cu e Pb;
- b) as sementes de *Brachiaria humidicola*; *Panicum maximum* cultivares Aruana e Tanzânia toleram a presença de Cd, Cu e Pb.

5. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes (LAS) do Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV-UDESC), Lages-SC. Foram utilizadas sementes puras de *Panicum maximum* cv. Aruana, *Panicum maximum* cv. BRS Tanzânia, *Brachiaria humidicola* cv. BRS Tupi, sendo a primeira proveniente da Empresa Sementes Gasparim e as duas últimas da EMBRAPA. Os percentuais de pureza das sementes foram realizados pelas Empresas de origem e encontram-se na tabela 1. As sementes foram acondicionadas em local seco e sem umidade.

Tabela 1 – Caracterização da pureza física e porcentagem de germinação das sementes de *Panicum maximum* cv. Aruana, *Panicum maximum* cv. BRS Tanzânia, *Brachiaria humidicola* cv. BRS Tupi.

Espécie	Porcentagem de pureza	Porcentagem de germinação
	%	
<i>P. maximum</i> cv. Aruana	40	53
<i>P. maximum</i> cv. Tanzânia	94,4	77
<i>B. humidicola</i> cv. BRSTupi	71,5	75

Fonte: Elaborada pela autora, 2019

5.1 TESTE DE GERMINAÇÃO

Antes do início de todos os testes, foi realizado a superação da dormência e o tratamento sanitário. Para a superação de dormência foi realizado o pré-esfriamento à temperatura de 5 - 10°C por um período de (5) cinco dias. No tratamento sanitário, as sementes foram colocadas em solução de hipoclorito de sódio a 3% por cinco minutos e em seguida lavadas com água destilada.

O teste de germinação foi conduzido com folhas de papel do tipo germitest®, onde os papéis foram previamente umedecidos com água destilada em uma quantidade de 2,5 vezes o peso do papel, conforme descrito nas Regras para Análise de Sementes- RAS (BRASIL, 2009).

Para todos os testes foram utilizadas 25 sementes como unidade experimental em 6 repetições, adotou-se o delineamento inteiramente casualizado. Logo em seguida, as sementes foram acondicionadas em um germinador do tipo Mangelsdorf® em temperatura constante de 20º C com iluminação natural.

Os experimentos foram conduzidos em ausência (0 mg L⁻¹) e na presença de 3, 180 e 200 mg L⁻¹ para Cd, Pb e Cu respectivamente, conforme os valores de investigação agrícola proposto pela Resolução nº 420 do CONAMA (2009). Os sais utilizados foram Nitrato de Cádmio (Cd(NO₃)₂), Nitrato de Chumbo (Pb(NO₃)₂) e Nitrato de Cobre (Cu(NO₃)₂).

No teste de germinação, foram consideradas germinadas as plântulas normais que obtiveram comprimento radicular superior a 5 mm e rompimento da plúmula. As contagens da germinação foram registradas a cada 24 horas

até o 20º dia, neste foram realizadas as medições de raiz e parte aérea. Essas medidas foram utilizadas para os cálculos de germinação (G), do índice de velocidade de Germinação (IVG), do índice de vigor (IV) e do índice de tolerância (IT), segundo equações:

$$PG (\%) = (n/N) * 100$$

$$IVG = \sum(n/t)$$

$$IV = CP (cm) \times PG (\%)$$

$$IT RA (\%) = CRA_{Pr} / CRA_{Aus} * 100$$

$$IT PA (\%) = CPA_{Pr} / CPA_{Aus} * 100$$

Onde PG é porcentagem de germinação; n é o número de sementes germinadas normais; N é o número total de sementes; IVG é índice de velocidade de germinação; t é o número de dias decorridos entre a semeadura e a germinação (MAGUIRE, 1962); IV é índice de vigor (MORADI et al., 2008), CP é o comprimento de plântula (cm); IT RA (AHMAD et al., 2012) é índice de tolerância da raiz; CRA_{Pr} é média do comprimento da raiz na presença do metal; e CRA_{Aus} média do comprimento da raiz na ausência do metal; IT PA (AHMAD et al., 2012) é índice de tolerância da parte aérea; CPA_{Pr} é média do comprimento da parte aérea na presença do metal; e CPA_{Aus} média do comprimento da parte aérea na ausência do metal;

Todos os dados obtidos foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$), considerando arranjo fatorial dos tratamentos (espécies e elementos-traço). Quando constatada significância estatística, realizou-se o teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para verificar a magnitude da diferença entre tratamentos. Para a análise estatística, os dados de porcentagem de germinação foram transformados para $\text{arcsen}\sqrt{x}/100$ e os dados do teor dos elementos-traço foram analisados após transformação logarítmica, $Y = \log (X + 1)$.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 COBRE

Neste estudo observou-se que dos três metais utilizados o que mais afetou a germinação foi o Cu, mesmo usando os valores de investigação agrícola proposto pela Resolução nº 420 do CONAMA (2009).

Quando da presença do Cu na dose de 200 mg L⁻¹ ocorreu a inibição da germinação na presença, emissão de PA (tabela 2) e RA (tabela 3) para a espécie *P. maximum* cv. Aruana. Na ausência do Cu a mesma cultivar apresentou PG de 53%, PA com 1,75 cm e IV de 70.

A presença do Cu resultou em redução PG, PA e IV (tabela 2) para Tanzânia e humidicola. Para a humidicola na ausência de Cu o valor de germinação obtido foi 75%, enquanto que, na dose de 200 mg L⁻¹ houve uma redução na porcentagem de germinação para 35% (tabela 2).

A tanzânia apresentou comportamento semelhante a humidicola, onde PG, comprimento de PA e IV diminuíram de 77%, 3,41 cm e 128 na ausência do Cu para 9%, 0,36 cm e 3,2, respectivamente, na presença do metal (tabela 2).

O efeito do Cu sobre a germinação foi estudado por Borges et al. (2016) e Stefanello et al. (2018). Borges et al. (2016) avaliaram a germinação das espécies *Brachiaria decumbens* e *Brachiaria brizantha* (cv. Piatã, Marandu, MG 5) na ausência e presença de Cu (200 mg L⁻¹). Esses autores observaram que a presença do Cu resultou em redução na PG para todas as espécies estudadas, entretanto, a espécie mais afetada pela presença do Cu foi a espécie *B. decumbens*, com uma redução de 99% da PG na presença do Cu, em comparação ao controle. Stefanello et al. (2018) avaliaram a tolerância das sementes de chia ao Cu. Os autores observaram que o aumento da concentração de Cu (0, 60, 120, 180 e 240 mg L⁻¹) promoveu decréscimo significativo na germinação das sementes, no crescimento e na massa seca das plântulas de chia.

O aumento da concentração de Cu em teste de germinação conduzido por Drab et al. (2011) resultou em diminuição porcentagem de germinação para centeio (*Secale cereale* L.), trigo (*Triticum aestivum* L.), colza (*Brassica napus oleifera* L.) e mostarda branca (*Sinapis alba* EU.).

Tabela 2 - Porcentagem de germinação (PG), parte aérea (PA) e índice de vigor (IV) para *Panicum maximum* cv. Aruana, *Panicum maximum* cv. BRS Tanzânia, *Brachiaria humidicola* cv. BRS Tupi na ausência (0 mg L^{-1}) e presença de Cu (200 mg L^{-1}).

Espécie	PG		PA		IV	
	-----%-----		-----cm-----			
	0 mg L^{-1}	200 mg L^{-1}	0 mg L^{-1}	200 mg L^{-1}	0 mg L^{-1}	200 mg L^{-1}
Aruana	53 Ab	0 Bb	1,75 Ab	0 Bb	70 Ab	0 Bc
Tanzânia	77Aa	9 Bb	3,41 Aa	0,36 Bb	128 Aa	3,2 Bb
Humidicola	75 Aa	35 Bb	3,35 Aa	1,46 Ba	113 Aa	51 Ba

Letras maiúsculas comparam médias espécies dentro de doses e Letras minúsculas comparam médias doses dentro de espécies pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

Fonte: Elaborada pela autora, 2019

O Cu, quando em níveis tóxicos, interfere no processo de germinação, afetando a atividade enzimática, podendo alterar o DNA, causando oxidação de proteínas, e danos as membranas plasmáticas (LOU et al. 2004, TEWARI et al. 2006). Murphy et al. (1999), destacam que níveis tóxicos de Cu podem provocar a peroxidação lipídica, resultando em danos às membranas plasmáticas diminuindo a absorção e o potencial osmótico e, consequentemente, diminuindo a expansão celular. Kranner e Colville (2011), afirmam que o Cu pode bloquear a absorção de água inibindo a germinação, enquanto, Williams (2015) mostra que o Cu altera o transporte de elétrons e o metabolismo primário da semente, assim não ocorrendo o processo de germinação.

Para as variáveis IVG e RA ocorreu apenas efeito de dose de Cu, sendo que, a presença de Cu resultou em redução do IVG em dez vezes e inibiu a emissão de raiz (ver tabela 3). As espécies de gramíneas estudadas por Borges et al. (2016) não apresentaram inibição de emissão de raiz, o que sugere, que as espécies avaliadas no presente estudo são menos tolerantes ao Cu.

O comprimento radicular é parâmetro importante quando da avaliação do efeito do metal, pois, a radícula é o primeiro órgão da plântula que entra em

contato com a solução contaminada (FENG et. al. 2016). Em estudos com áreas contaminadas com Cu, Girotto et al. (2014) observou reduções de matéria seca tanto da raiz quanto da parte aérea e clorose internerval para *A. stringosa*

Tabela 3 – Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e comprimento de raiz (RA) para *Panicum maximum* cv. Aruana, *Panicum maximum* cv. BRS Tanzânia, *Brachiaria humidicola* cv. BRS Tupi na ausência (0 mg L⁻¹) e presença de Cu (200 mg L⁻¹).

Dose (mg L ⁻¹)	IVG	RA (cm)
0	16,9 a	2,7 a
200	1,6 b	0 b

Letras minúsculas comparam doses de Cu. Teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

Fonte: Elaborada pela autora, 2019

6.2 CHUMBO

A presença do chumbo afetou as espécies Aruana e Tanzânia, e ao contrário, não afetou a Humidicola. O comprimento de PA da Aruana reduziu de 2,7 cm na ausência de Pb para 1,9 cm na presença (tabela 4). Para tanzânia houve redução do comprimento de RA e IV na presença do Pb. Não houve interação significativa entre espécie e doses de Pb para as variáveis G e IVG.

A redução do comprimento da RA e no IV também foi observado para as espécies *Brachiaria decumbens* e *Brachiaria brizantha* (cv. Piatã, Marandu, MG 5) na presença de Pb (180 mg L⁻¹) (BORGES, et al., 2016). O efeito do Pb na germinação e desenvolvimento das plântulas das espécies aveia preta (*Avena stringosa*) e nabo forrageiro (*Raphanus sativus*) foi avaliado por Borges (2015). Os autores observaram reduções da PG, do IVG e IV para a aveia preta na presença de 200 mg L⁻¹ de Pb, enquanto que para nabo forrageiro a PG e o IVG não foram afetados pela presença do metal.

Souza et.al. (2011), afirmam que plantas cultivadas em ambientes contaminados com Pb podem ter germinação inibida ou redução do crescimento das raízes e alteração do metabolismo da planta. Nesta fase, a exposição ao Pb pode causar disfunções morfológicas, fisiológicas e bioquímicas (LEFÈVRE et al., (2009) e SHAH et al., (2010) SHAHID et al, 2011.; ZUKOWSKA e BIZIUK, 2008).

A fitotoxicidade de cinco concentrações de chumbo (0,0; 0,5; 1,0; 2,0 e 5,0 mM de Pb(NO₃)₂) na germinação, anatomia radicular, e divisão celular de alface foram avaliados por Pereira et al. (2013). A germinação das sementes e o crescimento inicial das plântulas de alface foram reduzidos proporcionalmente ao aumento nas concentrações de Pb. A anatomia radicular apresentou reduções nas barreiras apoplásticas e modificações do xilema relacionadas com um aumento na condutividade hidráulica na presença de Pb. Os autores observaram que o sistema radicular da alface foi mais afetado que a parte aérea pelas doses de chumbo, assim como o observado para espécies aruana e tanzânia, no presente trabalho. Eles relacionaram aquele sintoma de fitotoxicidade com a redução no índice mitótico do meristema apical radicular e maior condução de chumbo para a parte aérea.

Tabela 4 – Comprimento de raiz (RA), parte aérea (PA) e índice de vigor (IV) para *Panicum maximum* cv. Aruana, *Panicum maximum* cv. BRS Tanzânia, *Brachiaria humidicola* cv. BRS Tupi na ausência (200 mg L⁻¹) e presença de Pb (180 mg L⁻¹).

Espécie	RA		PA		IV	
	-----cm-----					
	0mg L ⁻¹	180mg L ⁻¹	0 mg L ⁻¹	180 mg L ⁻¹	0 mg L ⁻¹	180 mg L ⁻¹
Aruana	3,5 Aa	3,8 Aa	2,7 Aa	1,9 Bb	157 Aa	152 Aa
Tanzânia	3,8 Aa	1,4 Bb	3,1 Aa	2,4 Aa	166 Aa	75 Ab
Humidicola	2,5 Aa	3,2 Aa	3,1 Aa	3,9 Aa	101 Aa	159 Aa

Letras maiúsculas comparam médias espécies dentro de doses e Letras minúsculas comparam médias doses dentro de espécies pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05)

Fonte: Elaborada pela autora, 2019

6.3 CÁDMIO

Para cádmio não houve interação entre espécie e doses de Cd. A presença do Cd reduziu PG, IVG e comprimento de PA de 64%, 17,8 e 3,67 cm para 56%, 12,5 e 2,88 cm, respectivamente, entretanto, não afetou RA e IV

(tabela 5). Ko et al., (2012) demonstraram em seus estudos que o Cd atinge tecidos embrionários entre os revestimentos das sementes e assim afeta a germinação.

Borges et.al. (2016), em estudo observaram redução do comprimento de raiz do Cd para cv. Piatã, *B. brizantha* e na *B. decumbens*, entretanto para as cultivares marandu e MG 5 não houve redução corroborando com os resultados obtidos no presente estudo.

Em estudo com para *Raphanus sativus* na presença e ausência de Cd, Borges (2015), observou redução no comprimento radicular na presença do metal. Outros autores também observaram esse fenômeno em ervilha (Chugh; Sawhney, 1996) em camomila (SADERI & ZARINKAMAR, 2012). Em concentrações tóxicas, os elementos-traço como o Cd podem interromper a divisão celular, o processo de replicação do RNA, o processo de reparação do DNA ao desenvolvimento da planta (MOOSAVI, et al., 2012).

Em ensaio sobre o efeito do Cd na germinação da ervilha (*Pisum sativum* cv. Bonneville), Chugh; Sawhney, (1996) observaram que o crescimento do eixo embrionário foi significativamente inibido por níveis tão baixos quanto 0,25 Mm de cádmio e o alongamento da radícula foi afetado mais severamente que o da plâmula. Esses autores observaram também que a atividade amilolítica total, assim como as atividades das α e β -amilases, diminuíram com o aumento da concentração do metal no meio. O efeito do cádmio na mobilização do amido e na atividade respiratória resultou em efeitos adversos sobre a germinação. O mesmo efeito do Cd na germinação e no eixo embrionário foi observado por Sfaxi-Bousbih et al (2010) para feijão (*Phaseolus vulgaris*).

A ausência de interação espécie e doses de Cd e as diferenças significativas entre espécies para PG, PA, IV e IVG (tabela 5) podem estar relacionado as peculiaridades de cada planta, segundo Munzuroglu e Geckil (2002), existem diferentes revestimentos na anatomia da semente e da estrutura, e assim a mesma concentração de metal pode ter efeitos diferentes em cada espécie avaliada.

Tabela 5 – Porcentagem de Germinação (PG), Índice de Velocidade de Germinação (IVG), comprimento de raiz (RA) e parte aérea (PA) e índice de vigor (IV) na ausência (0 mg L⁻¹) e presença de Cd (3 mg L⁻¹).

Dose	PG %	IVG	RA	PA	IV
					----- cm -----
0 mg L ⁻¹	64 a	17,8 a	3,88 a	3,67 a	145 a
3 mg L ⁻¹	56 b	12,5 b	4,46 a	2,88 b	134 a

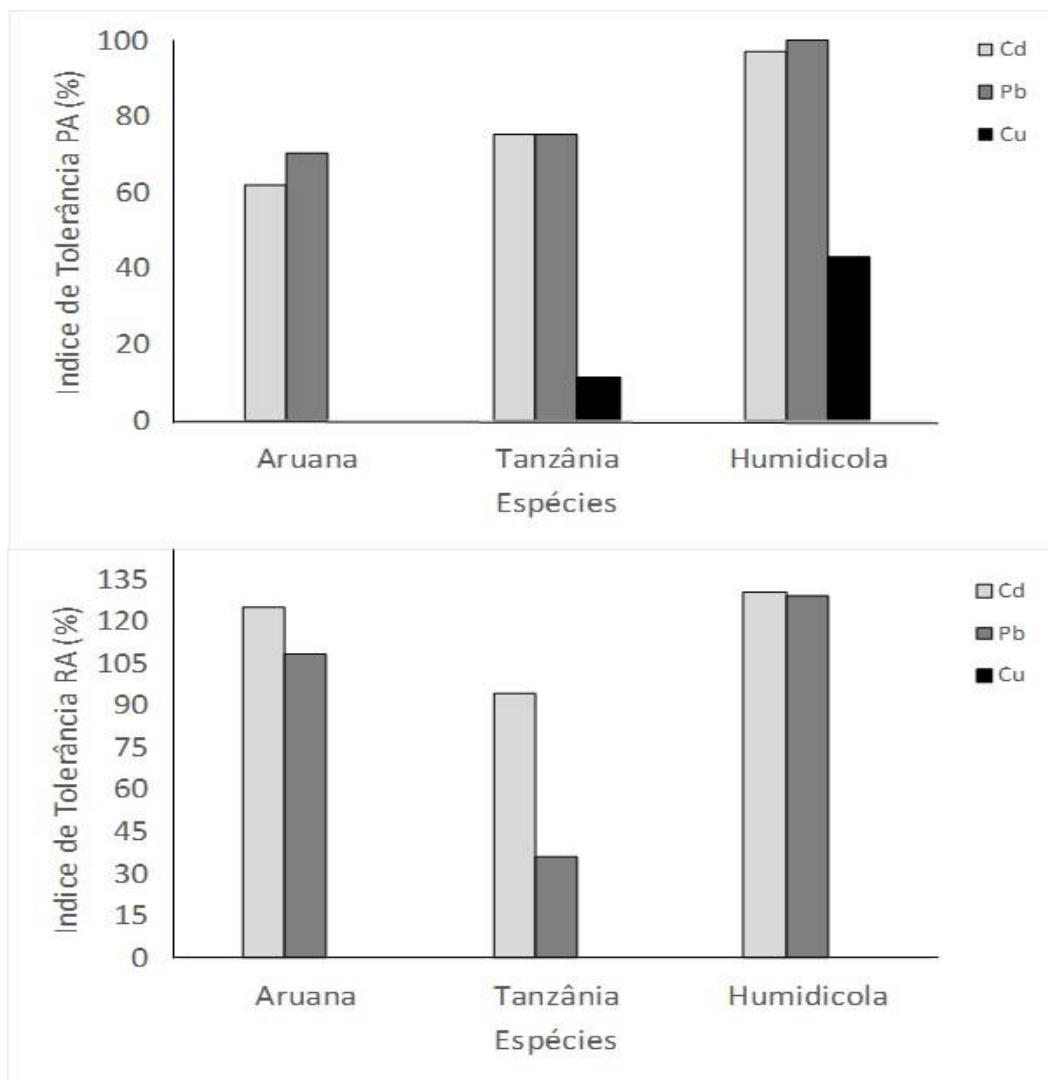
Fonte: Elaborada pela autora, 2019

6.4 ÍNDICE DE TOLERÂNCIA

A análise da figura 01 resulta em dois cenários, o primeiro para o Cu para o qual a ordem de sensibilidade é IT RA > IT PA, enquanto que para Cd e Pb ocorre o oposto, ou seja, IT PA > IT RA. Guterres et al. (2019) avaliando o efeito do As, Cd, Cr e Pb na germinação de *Astrebla lappacea*, *Themeda australis*, *Austrostipa scabra* e *Acacia harpophylla* observaram que o IT RA foi o melhor indicador de sensibilidade quando comparado ao IT PA, colaborando com o observado no presente estudo para Cu.

Ahmad et al. (2012), avaliaram o efeito de doses crescentes de Cd (0, 5, 20, 50 e 80 mg L⁻¹) na germinação de cultivares de trigo e observaram que na dose de 5 mg L⁻¹ as cultivares apresentaram IT RA superior a 80%, o que colabora com o presente estudo. Os resultados obtidos por Ahmad et al. (2012) apontam para diminuição do IT RA a partir da dose 20 mg L⁻¹.

Figura 1 – Índice de tolerância da parte aérea (IT PA) para as espécies *Panicum maximum* cv. Aruana, *Panicum maximum* cv. BRS Tanzânia, *Brachiaria humidicola* cv. BRS Tupi.



Fonte: Elaborada pela autora, 2019

Porcentagem de germinação, índice de vigor e o índice de tolerância podem ser considerados parâmetros que indicam a capacidade de resposta das plantas ao estresse promovido por substratos contaminados. Para Guterres et al. (2019) esses parâmetros podem ajudar na seleção de plantas para projetos de recuperação de áreas contaminadas.

A análise dos índices de tolerância (figura 1) e da porcentagem de germinação (tabelas 2 e 5) indicam que a espécie *P. maximum* cv. Aruana teve uma ausência de germinação pela presença do metal portanto, não seria uma espécie promissora para fitoremediação ou fitoestabilização de áreas

contaminadas com os elementos-traço Cd, Cu e Pb. Além do mais, na presença do Cu nenhuma das três espécies avaliadas no presente estudo poderiam ser utilizadas em projetos de revegetação.

Os índices de tolerância (Figura 1), porcentagem de germinação (tabela 5) e índice de vigor (tabela 2, 4) obtidos para Cd e Pb indicam que a espécie mais promissora para compor projetos de recuperação de áreas contaminadas por Pb e Cd seria a *B. humidicola* cv. Tupi.

7. CONCLUSÃO

A presença do Cu inibiu a germinação, emissão de raiz e parte aérea da espécie *P.maximum* cv. Aruana;

A porcentagem de germinação, comprimento de parte aérea e índice de vigor foram afetadas pela presença do Cu para as espécies *P.maximum* cv. Tanzânia e *B. humidicola* cv. Tupi;

A porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação e comprimento de parte aérea das três espécies estudadas foram afetadas pela presença do Cd;

A presença do Pb afetou comprimento de parte aérea e raiz, e índice de vigor para *P.maximum* cv. Aruana e *P.maximum* cv. Tanzânia, enquanto que, a espécie *B. humidicola* cv. Tupi. não foi afetada

A ordem decrescente de sensibilidade das espécies na presença de Cd e Pb foi *P.maximum* cv. Aruana > *P.maximum* cv. Tanzânia > *B. humidicola* cv. Tupi.

REFERÊNCIAS

AHMAD, I.; et al. Effect of cadmium on seed germination and seedling growth of four wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. **Pakistan Journal of Botany**, [s. l.], v. 44, n. 5, p. 1569–1574, 2012.

ÁLVAREZ-MATEOS, P.; ALÉS-ÁLVAREZ, F.; GARCÍA-MARTÍN, J.; Phytoremediation of highly contaminated mining soils by *Jatropha curcas* L. and production of catalytic carbons from the generated biomass. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 231, n. July 2018, p. 886–895, 2019.

ANDRADE, M.G. et al. Heavy metals in soils of a lead mining and metallurgy area. In **Valetes de metal / metalelação / quealação de comércio de plantas - uma visão geral**. Frente Planta Sci 6: 192, 2015.

ARFICHO, D.; **Status, Distribution, and Phytoavailability of Heavy Metals and Metalloids in Soils Irrigated with Wastewater from Akaki River, Ethiopia: Implications for environmental management of heavy metal / metalloid affected soils**. 2009. Addis Ababa University, [s. l.], 2009.

ARROYAVE, C.; et al. **Differential aluminum resistance in Brachiaria species**. Environmental and Botany, v. 89, p. 11- 18, 2013.

AHSANA et al., **Excess copper induced physiological and proteomic changes in germinating rice seeds** Chemosphere, 67 (6), 2007, pp. 1182-1193

ASATI A.; PICHHODE M.; NIKHIL K.; Efeito dos metais pesados nas plantas: uma visão geral. **Int J Appl Inovação Eng Manag** 5 (3):56–66, 2016.

ASSUNÇÃO, S.; RIBEIRO J.; Seleção de plantas para fitorremediação de chumbo, cádmio e zinco, de uma área contaminada na bacia do Rio Subaé. 2012. **UFRB**, [s. l.], 2012.

AUH C.; MURPHY T.; A enzima redox da membrana plasmática está envolvida na síntese de O_2^- e H_2O_2 por células rosas estimuladas por *Phytophthora* elicitor **Physiol Vegetal.**, 107 (4), pp. 1241 – 1247, 1995

BAILLY C.; EI-MAAROUF-BOUTEAU H.; CORBINEAU F.; Das redes de sinalização intracelular à morte celular: o duplo papel das espécies reativas de oxigênio na fisiologia das sementes **CR Biol.**, 331 (10), pp. 806 – 814, 2008

BONNET, M. et al. Effects of zinc and influence of *Acremonium lolii* on growth parameters, chlorophyll a fluorescence and antioxidant enzymes activites of ryegrass (*Lolium perenne* L. cv. 'Apollo'). **Journal of Experimental Botany**, v.51, p.945-953, 2000.

BORGES, K.S.C.; **Germinação e desenvolvimento inicial de plantas de cobertura e forrageiras em exposição a cádmio, cobre e chumbo.** 2015. Lages: Universidade Estadual de Santa Catarina, 2015. Tese (Doutorado em Ciência do Solo), Universidade Estadual de Santa Catarina, 2015.

BORGES, K.S.C.; et. al; Germination and initial development of *Brachiaria brizantha* and *Brachiaria decumbens* on exposure to cadmium, lead and copper. **Journal of Seed Sciences (antiga Revista Brasileira de Sementes)**, v. 38, p. 335-343, 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. **Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília:** Mapa/ACS, 2009. 399 p.

CARNEIRO, M.A.C; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S. Comportamento de espécies herbáceas em misturas de solo com diferentes graus de contaminação com metais pesados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n.11, p.1629-1638, 2002.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Fisiologia da semente.** Editora Funep, 2012. 590p.

CHEN, L. et al. **Interaction of hiperaccumulator *Solanum nigrum* L. and functional endophyte *Pseudomonas* sp. Lk9 on soil heavy metals uptake.** Soil Biology and Biochemistry, v. 68, p. 300-308, 2014.

CHUGH L.K.; SAWHNEY S.K., Effect of cadmium on germination, amylases and rate of respiration of germinating pea seeds **Environmental Pollution** Volume 92, Issue 1, 1996, Pages 1-5

CORREIA et. al, Manejo de plantas adultas de *Panicum maximum* cv. Aruana. **Agrária - Revista Brasileira de Ciências Agrárias** ISSN (on line) 1981-0997 v.10, n.1, p.91-96, 2015 Recife, PE, UFRPE.

CORSI, M. Manejo de plantas forrageiras do gênero *Panicum*. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 9., 1988, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1988. p.57-75.

DAN, T. et al. Toxicity thresholds for oat (*Avena sativa* L.) grown in Ni-impacted agricultural soils near Port Colborne, Ontario, Canada. **Canadian Journal of Soil Science**, v.88, p.389-398, 2008.

DRAB, M. et al. Seed germination of selected plants under the influence of heavy metals. **Civil and Environmental Engineering Reports**, v. 7, p. 47-57, 2011

FENG, R. et al. Responses of root growth and antioxidative systems of paddy rice exposed to antimony and selenium. **Environmental and Experimental Botany**, v. 122, p. 29-38, 2016.

FONSECA, F.G. **Tolerância de gramíneas forrageiras ao cádmio e biodisponibilidade no solo**. Diamantina, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, 2012. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal), Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, 2012.

FOYER CH, LOPEZ-DELGADO H, DAT JF, SCOTT IM. **Hydrogen peroxide- and glutathione-associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signalling**. *Physiol Plant.* 1997;100:241–254.

GILL S., N. TUTEJA **Reactive oxygen species and antioxidant machinery in tolerance to abiotic stress in cultivated plants** *Physiol vegetal. Biochem.* 48 (12) (2010), pp. 909 – 930

GIROTTI, E. et al. Copper availability assessment of Cu-contaminated vineyard soils using black oat cultivation and chemical extractant. **Environmental Monitoring and Assessment**. v. 186, n. 12, p. 9051-9063, 2014.

GONÇALVES, L. C.; BORGES, I. **Tópicos de forragicultura tropical**. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2006. 117 p.

GUIMARÃES, M.A. et al. Toxicidade e tolerância ao cádmio em plantas. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, n.3, v.1, p.58-68, 2008.

GUTERRES et al. Assessing germination characteristics of Australian native plant species in metal/metalloid solution **Journal of Hazardous Materials** 364 (2019) 173–181.

HERLING, V.R.; BRAGA, G.J.; LUZ, P.H.C. Tobiatã, Tanzânia e Mombaça. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGENS, 17., 2000, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2000, p.21-64.

ISHIBASHI Y., T. TAWARATSUMIDA, S. ZHENG, T. YUASA, M. IWAYA-INOUE **NADPH oxidases act as key enzymes in germination and seedling growth in barley (*Hordeum vulgare* L.)** Plant Prod. Sci., 13 (1), pp. 45–52, 2010

JEEVAN K., P. RAJENDRA, R. BANERJEE, C. THAMMINENI **Birth of seeds to death: dual functions of reactive oxygen species in seed physiology** Ann. Robô., 116 (4), pp. 663 – 668, 2015

JIANG F, Y. Zhang, G. Dusing **NADPH oxidase-mediated redox signaling of: roles in the response to cell stress, stress tolerance and tissue repair** Pharmacol. Rev., 63 (1), pp. 218 – 242, 2011

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants.** 4. ed. Boca Raton: CRC Press, 2011. 520 p.

KAPUSTKA, L.A., REPORTER, M. **Terrestrial primary producers.** In: **Peter Calow (Ed.)**, Handbook of ecotoxicology, vol. 1. Blackwell Scientific Publications, 1993. p 278–298.

KO, K.S., LEE, P.K., KONG, I.C. **Evaluation of the toxic effects of arsenite, chromate, cadmium, and copper using a battery of four bioassays.** Appl. Microbiol. Biotechnol. 95, 1343–1350, 2012

KRANNER, I.; COLVILLE, L. Metals and seeds: Biochemical and molecular implications and their significance for seed germination. **Environmental and Experimental Botany**, [s. l.], v. 72, n. 1, p. 93–105, 2011.

LAMBRECHTS, T. et al. Comparative analysis of Cd and Zn impacts on root distribution and morphology of *Lolium perenne* and *Trifolium repens*: implications for phytostabilization. **Plant and Soil**, v.376, p.229-244, 2014.

LEFÈVRE I., G. MARCHAL., E. CORRÈAL, A. ZANUZZI, S. LUTTS **Variação em resposta a metais pesados durante o crescimento vegetativo em *Dorycnium pentaphyllum* Scop** Regulação do Crescimento Vegetal. 59, pp. 1 – 11, 2009

LIMA, C. V. S. **Potencial de fitoextração do nabo forrageiro e da aveia preta em argissolo contaminado por cádmio.** Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.

LIU, S. et al. **The effects of cadmium on germination and seedling growth of *Suaeda salsa*.** Procedia Environmental Sciences, v. 16, p. 293 – 298, 2012.

LIU, W. Risk assessment of cadmium-contaminated soil on plant DNA damage using RAPD and physiological indices. **Journal of Hazardous Materials**, v.161, p.878-883, 2009.

LOPES, D. Plantas nativas do cerrado uma alternativa para fitorremediação. **Estudos**, 37, 3/4: 419-437, 2010.

LOU LQ, SHEN ZG, LI XD. **Os mecanismos de tolerância ao cobre de *Elsholtzia haichowensis*, uma planta de solos enriquecidos com cobre,** *Environ Exp. Robô.* 2004 vol. 51 (pág. 111-120)

MA B., J. WAN, Z. **H₂O₂ e respostas antioxidantes em sementes e plântulas iniciais de duas diferentes variedades de arroz expostas ao alumínio** Regulação do Crescimento Vegetal, 52 (1) (2007), p. 91 – 100

MADEJÓN, P. et al. Effects of soil contamination by trace elements on white poplar progeny: seed germination and seedling vigour. **Environmental Monitoring and Assessment**. v. 187n 11, p. 663-674, 2015.

MEIRELLES, L. Os metais tóxicos e seus efeitos deletérios. 2004. Disponível em: <<http://www.nutriçãolmdiets@estadao.com.br/>>. Acesso em: 20 jan. 2019.

MIDHAT, LAILA et al. Accumulation of heavy metals in metallophytes from three mining sites (Southern Centre Morocco) and evaluation of their phytoremediation potential. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s. l.], v. 169, n. October 2018, p. 150–160, 2019.

MIRSHEKALI, H. et al. Effect of zinc toxicity on plant productivity, chlorophyll and Zn contents of sorghum (*Sorghum bicolor*) and common lambsquarter (*Chenopodium album*). **International Journal of Agriculture**, v.2, p.247-254, 2012.

MITTLER R., S. VANDERAUWERA, M. GOLLERY, F. VAN BREUSEGEM **Reactive Oxygen Plant Gene Network** Trends Plant Sci., 9 (10, pp. 490 – 498, 2004

MOHR, H.; SCHOPFER, P. **Plant physiology**. Berlin: Springer-Verlag, 1995. 629p.

MOOSAVI et al., **Effects of some heavy metals on seed germination characteristics of canola (*Barassica napus*), wheat (*Triticum aestivum*) and safflower (*Carthamus tinctorious*) to evaluate phytoremediation potential of these crops** J. Agric. Sci., 4 (2012), pp. 1-19

MUNZUROGLU, O., GECKIL, H. **Effects of metals on seed germination, root elongation, and coleoptile and hypocotyl growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus***. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 43, 203–213, 2002

MURPHY, A.S. et al. Early copper- induced leakage of K+ from *Arabidopsis* seedlings is mediated by ion channels and coupled to citrate efflux. **Plant Physiology**, Belmont, v. 121, p. 1375-1382, 1999.

NASCIMENTO, S.S. **Tolerância de gramíneas forrageiras ao chumbo e sua disponibilidade no solo**. Diamantina, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, 2013. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal), Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, 2013.

NOCTOR G, CH FOYER **Ascorbate e glutatona: mantendo o oxigênio ativo sob controle** Annu Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 49 (1998), pp. 249 – 279

PAIVA, H. N. de; et al. **Absorção de Nutrientes por mudas de ipê roxo. *Tabebuia impetiginosa* em solução nutritiva contaminada por Cádmio.** Revista Árvore, 28, 2: 189-197, 2004.

PEREIRA P.M., et. al; **Fitotoxicidade do chumbo na germinação e crescimento inicial de alface em função da anatomia radicular e ciclo celular** Revista Agro@mbiente On-line, v. 7, n. 1, p. 36-43, 2013

PEREIRA, A.R. **Como selecionar plantas para áreas degradadas e controle de erosão.** Belo Horizonte: FAPI, 2006. 70 p

PURUSHOTHAMAN, A. et al. **Investigation of cadmium and lead induced phytotoxicity on seed germination, seedling growth and antioxidant metabolism of chick pea (*Cicer arietinum* L.).** International Journal of Current Research, v. 33, p. 18-23, 2011.

RAHMAN SH, KHANAM D, ADYEL, ISLAM MS, AHSAN MA, AKBOR MA. **Evaluation of heavy metal contamination of agricultural soil around the DAC Export Processing Zone (DEPZ), Bangladesh: implication of seasonal variation and indices.** Appl Sci 2 (3): (2012) 584-601.

RATAJCZAK E., A. MAŁECKA, A. BAGNIEWSKA-ADWORNA, E. KALEMBA. A produção, localização e disseminação de espécies reativas de oxigênio contribuem para a baixa vitalidade das sementes de faia comum armazenada a longo prazo (*Fagus sylvatica* L.). **J. Plant Physiol.**, 174 (1) (2015). 147 – 156

ROMEIRO, S. et al. **Absorção de chumbo e potencial de fitorremediação de *Canavalia Ensiformes* L.** *Bragantia*, Campinas, 66, 2: 327-334, 2007.

SANTOS, F. S. dos; SOBRINHO, N. M. B. A.; NASCIMENTO, V. S.; HOFFMANN, R.B.; MAZUR, N. **Fitorremediação por *Brachiaria humidicola* de área de disposição de um resíduo perigoso.** Floresta e Ambiente, 12, 1: 22 - 29, 2005.

SADERI, S.Z., ZARINKAMAR F., “The effect of different Pb and Cd concentrations on seed germination and seedling growth of *Matricaria chamomilla*”. Advances in **Environmental Biology**, 2012, p. 1940

SFAXI A.; BOUSBIH et al Cadmium impairs mineral and carbohydrate mobilization during the germination of bean seeds. **Ecotoxicology and Environmental Safety** Volume 73, Issue 6, September 2010, Pages 1123-1129.

SHAH FR., et. al, **Toxicidade de metais pesados em plantas** (Eds.), Adaptação Vegetal e Fitorremediação, Springer, Nova York (2010), pp. 71 – 97

SHAHID, M., PINELLI, E., POURRUT, B., SILVESTRE, J., DUMAT, C. Lead-induced geno-toxicity to *Vicia faba* L. roots in relation with metal cell uptake and initial speciation. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** 74, 78–84, 2011

SHARMA, P.; DUBEY, R.S. Lead toxicity in plants. Brazilian **Journal of Plant Physiology**, v. 17, n.1, p. 35-52, 2005.

SHRI M, R DAVE, DIWEDI S, SHUKLA D, KESARI R, R TRIPATHI, TRIVEDI PK, CHAKRABARTY D. **Expressão heteróloga de sintetase de fitoquelatina *Ceratophyllum demersum* , CdPCS1, em arroz leva a menor acúmulo de arsênio em grão.** Sci Rep 4: 5784. (2014)

SILVA et al. Evaluation of tropical grasses for recovery of soils contaminated with manganese. In: Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo, X., 2014, Cusco. **Anais...** Cusco: Sociedade Peruana de la Ciencia del Suelo, 2014.

SOLEIMANI, M. et al. Effect of endophytic fungi on cadmium tolerance and bioaccumulation by *Festuca arundinacea* and *Festuca pratensis*. **International Journal of Phytoremediation**, v.12, p.535-549. 2010.

SOUZA, E. L de et. al, Plantas forrageiras para pastos de alta produtividade **Nutritime** Vol. 15, Nº 04, jul./ ago. de 2018 ISSN: 1983-9006

STEFANELLO R., et. al, **Tolerance of chia seeds to copper** Acta Biológica Catarinense 2018 Set-Dez;5(3):42-49

TCHOUNWOU PB, CG YEDJOU, PATLOLLA AK, SUTTON DJ **The toxicity of the heavy metal and the environment.** EXS 101: (2012) 133–164. https://doi-org.ez74.periodicos.capes.gov.br/10.1007/978-3-7643-8340-4_6

TEWARI RK, KUMAR P, SHARMA PN. Respostas antioxidantes para geração aprimorada de radical ânion superóxido e peróxido de hidrogênio nas plantas de amoreira com estresse de cobre, **Planta**, 2006 vol. 223 (pág. 1145-1153)

URAGUCHI, S. et al. Contributions of apoplastic cadmium accumulation, antioxidative enzymes and induction of phytochelatins in cadmium tolerance of the cadmium-accumulating cultivar of black oat. (*Avena strigosa* Schreb.). **Planta**, v.230, p.267-276. 2009.

VAN ASSCHE, F.; CLIJSTERS, H. Effect of metals on enzyme activity in plants. **Plant, Cell and Environment**, 13: 195-206,1990.

WILLIAMS, M. E. **Plant Nutrition 3: Micronutrients and metals.** The Plant Cell. 27(5):1-20, 2015.

WOITYLA EU., K. LECHOWSKA , S. KUBALA , M. GARNCZARSKA
Diferentes modos de ação do peróxido de hidrogênio durante a germinação de sementes Frente. **Plant Sci.**, 7, pp. 66 – 81, 2016

YADA, MARCELA MIDORI et al. **Atributos Químicos e Bioquímicos em Solos Degrados por Mineração de Estanho e em Fase de Recuperação em Ecossistema Amazônico.** [s. l.], n. 1, p. 714–724, 2015.

ZALEWSKA, M. Response of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) to soil contamination with zinc. **Journal of Elementology**, v.17, p.329-343, 2012.

ZHANG, X. et al. Potential of four forage grasses in remediation of Cd and Zn contaminated soils. **Bioresource technology**, v. 101, n. 6, p. 2063-2066, 2010

ZHANG, Y., et al. Metals and seeds: Biochemical and molecular implications and their significance for seed germination. **Environmental Pollution**, [s. l.], v. 186, n. April, p. 173–181, 2011.

ZUKOWSKA, J., BIZIUK, M. Methodological evaluation of method for dietary heavy metal intake. **J. Food Sci.** 73, R21–R29, 2008