

KARINE SOUSA CARSTEN BORGES

**GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE
PLANTAS DE COBERTURA E FORRAGEIRAS EM
EXPOSIÇÃO A CÁDMIO, COBRE E CHUMBO**

Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação em Manejo do Solo do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Manejo do Solo.

Orientadora: Prof^a. Dra. Mari Lucia Campos

LAGES, SC

2015

Borges, Karine Sousa Carsten
Germinação e desenvolvimento inicial de
plantas de cobertura e forrageiras em exposição a
cádmio, cobre e chumbo / Karine Sousa Carsten
Borges. - Lages, 2015.
132 p.: il. ; 21 cm

Orientador: Mari Lucia Campos
Inclui bibliografia
Tese (doutorado) - Universidade do Estado de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias,
Programa de Pós-Graduação em Manejo do Solo,
Lages, 2015.

1. Fitotoxicidade. 2. Metais pesados. 3.
Inibição. I. Borges, Karine Sousa Carsten. II.
Campos, Mari Lucia. III. Universidade do Estado de
Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em
Manejo do Solo. IV. Título

KARINE SOUSA CARSTEN BORGES

**GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE
PLANTAS DE COBERTURA E FORRAGEIRAS EM
EXPOSIÇÃO A CÁDMIO, COBRE E CHUMBO**

Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação em Manejo do Solo do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Manejo do Solo.

Banca Examinadora

Orientadora: _____

Dr^a Mari Lucia Campos
Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC – CAV

Membro: _____

Dr^a Catiline Schmitt
Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC – CAV

Membro: _____

Dr Luiz Paulo Rauber
Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC – CAV

Membro: _____

Dr^a Maria Benta Cassetari Rodrigues
Centro Universitário Unifacfest

Membro: _____

Dr^a Maria Sueli Herbele Mafra
Universidade do Planalto Catarinense- UNIPLAC

Lages, 17 de dezembro de 2015.

Aos meus pais, Luiz e Cleusa
pelo exemplo e amor de suas
vidas à minha formação, ao
meu marido Flávio e minha
filha Alice pelo amor e apoio,
Dedico.

AGRADECIMENTOS

Gostaria primeiramente de agradecer à Deus, por estar sempre comigo me dando forças.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho. Quero agradecer:

A minha família, aos meus pais Luiz e Cleusa, me incentivaram nos estudos e lutaram sempre junto comigo pelos meus sonhos, e a minha mãe por ter cuidado da minha filha para eu poder realizar o doutorado.

Ao meu marido e minha filha que sempre estiveram ao meu lado, em todos os momentos, vocês são o meu porto seguro. Minha irmã Giselle e sobrinhas Fernanda e Fabiana que mesmo distantes sempre estiveram tão presentes. A família do meu marido que sempre ajudaram e socorreram cuidando da minha filha para eu poder estudar.

A orientadora Prof. Dra. Mari Lucia Campos pela confiança, dedicação, por todos os ensinamentos e a amizade.

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

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

Ao colega José Ferraz Neto e Matheus Machado pela ajuda e paciência nas análises deste trabalho.

A voluntária Natiele pela ajuda na condução dos trabalhos.

As minhas amigas Letícia, Raquel e Priscila Stocco pela parceria nos estudos, amizade e motivação.

A todos os colegas do Laboratório de Análise e Levantamento de Solos e do Laboratório de Sementes.

A todos os professores que fizeram parte da minha formação, desde a alfabetização, em especial aos professores da Pós-graduação por todos os ensinamentos.

A Universidade do Estado de Santa Catarina e ao Programa de Pós-Graduação em Manejo do Solo pela oportunidade de estudo e a FUMDES pela bolsa concedida.

“Cada sonho que você deixa para trás é um pedaço do seu futuro que deixa de existir”.

Steve Jobs.

RESUMO

BORGES, K. S. C. Germinação e desenvolvimento inicial de plantas de cobertura e forrageiras em exposição a cádmio, cobre e chumbo. 2015. 132 p. Tese (Doutorado em Manejo do Solo – Área: Ciências Agrárias) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Manejo do Solo, Lages, 2015.

A contaminação do solo por elementos-traço compromete a qualidade do solo e possibilita a entrada destes elementos na cadeia alimentar, aumentando o risco potencial a saúde animal. Neste contexto o objetivo deste trabalho foi avaliar o vigor e o desenvolvimento inicial das plântulas *Avena stringosa*, *Raphanus sativus*, *Brachiaria brizantha* (cv. Piatã, Marandu, MG5) e *Brachiaria decumbens* em presença de cádmio, cobre e chumbo. Para tanto esse trabalho foi dividido em três capítulos. O primeiro capítulo trata de uma breve revisão bibliográfica sobre os efeitos tóxicos dos elementos-traço na germinação e no desenvolvimento inicial das plantas. O segundo capítulo apresenta os efeitos tóxicos da germinação e desenvolvimento das plântulas das espécies aveia preta (*Avena stringosa*) e nabo forrageiro (*Raphanus sativus*) na presença de cádmio e chumbo. Após dois testes de adequação de metodologia, as sementes de *Avena stringosa* e *Raphanus sativus* foram germinadas em caixas gerbox em câmara de BOD, e expostas ao cádmio e chumbo além da testemunha. Foram avaliados, porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento da plântula, índice de vigor. A *Avena stringosa* apresentou redução em todos os parâmetros

avaliados em presença de Cd e Pb. O *Raphanus sativus*, apresentou redução apenas no comprimento da radícula na exposição de Cd e Pb. O terceiro capítulo apresenta avaliação da germinação e do desenvolvimento inicial de três cultivares da espécie *Brachiaria brizantha* (cv. Piatã, Marandu e MG5) e da espécie *Brachiaria decumbens* em presença de Cd, Pb e Cu e ainda a quantificação os teores de Cd e Cu no tecido vegetal dessas espécies. Para o ensaio de germinação das sementes de braquiárias foram realizadas em papel germitest® em câmara Mangelsdorf. Neste ensaio avaliou-se a porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação, índice de vigor e comprimento da plântula. Em casa de vegetação as plântulas foram semeadas em 0,5 kg de solo sem contaminação e contaminado com Cd e Cu onde foram avaliados: o peso de matéria seca, índice SPAD e teor de Cd e Cu no tecido vegetal. Neste ensaio, todas as espécies apresentaram reduções no índice de vigor em presença de Cd, Pb e Cu. O Cu foi o elemento que mais apresentou efeitos tóxicos à germinação e desenvolvimento inicial das plântulas de *B. brizantha* (cv. Piatã, marandu e MG5) e *B. decumbens*. A presença de Cd e Cu no solo resultou em um decréscimo do índice SPAD para todas as espécies estudadas. Houve menores teores de Cd e Cu para a parte aérea e os maiores teores foram encontrados nas raízes.

Palavras-chave: Fitotoxicidade. Metais pesados. Inibição.

ABSTRACT

BORGES, K. S. C. **Germination and early development of cover crops and forage plants in exposure to cadmium, copper and lead..** 2015 132 p. Thesis (Doctorate in Soil Management) - University of the State of Santa Catarina. Postgraduate Program in Soil Management, Lages, 2015.

Contamination by trace elements occurs mainly by mining activities and improper disposal of waste in soil. This contamination affects the quality of soil and allows entry into the food chain increasing the potential risk to animal health. In this context the present study aims to assess the force and the initial seedling development *Avena stringosa*, *Raphanus sativus*, *Brachiaria brizantha* (cv. Piatã, Marandu, MG5) and *Brachiaria decumbens* in the presence of cadmium, copper and lead. For that this work was divided into three chapters, in which the first chapter is a brief literature review on the toxic effects of trace elements on the germination and early plant development. The second chapter presents the germination and seedling development of oat species (*Avena stringosa*) and radish (*Raphanus sativus*) in the presence of cadmium and lead. After two tests adequacy methodology, the seeds of *Avena stringosa* and *Raphanus sativus* occurred in gerboxes in BOD chamber at a temperature of 20 ° C and photoperiod of 12 h, where they were exposed to cadmium and lead more to witness. They were evaluated germination percentage, germination speed index, seedling length and appearance of toxicity. The *Avena stringosa* decreased the germination percentage, germination speed index, vigor index, was

observed appearance of chlorosis. The third chapter presents evaluation of germination and early development of three cultivars of the species *Brachiaria brizantha* (cv. Piată, Marandu and MG5) and *Brachiaria decumbens* species in the presence of Cd, Pb and Cu and also to quantify the Cd and Cu contents in plant tissue of these species. For the germination tests for germination tests of *Brachiaria* sp. seeds were held in germitest® role in Mangelsdorf chamber at 25 ° C with natural photoperiod. In these tests evaluated the germination percentage, percentage of abnormal seedlings, speed germination index, vigor index and seedling length. For the tests in a greenhouse seedlings were sown in 0,5 kg of contaminated soil Cd and Cu and witness, which evaluated the weight of dry matter, SPAD index and Cd and Cu content in the plant tissue. All species showed reductions in the prime rate in the presence of Cd, Pb and Cu. The Cu was the element that showed toxic effects on the germination and early seedling development of *Brachiaria brizantha* (cv. Piată, Marandu and MG5) and *Brachiaria decumbens*. The presence of Cd and Cu in soil resulted in a decrease in the SPAD index for all species. There was low translocation of Cd and Cu in the shoot and the highest levels were found in the roots.

Key-words: Phytotoxicity. Heavy metals. Inhibition.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Capítulo 2

Figura 1 -	Porcentagem de germinação para as espécies <i>Avena stringosa</i> e <i>Raphanus sativus</i>	76
Figura 2 -	Porcentagem de germinação das sementes de <i>Avena stringosa</i> e <i>Raphanus sativus</i> em ausência e presença de Cd e Pb.....	77
Figura 3 -	Índice de velocidade de germinação das sementes de <i>Avena stringosa</i> e <i>Raphanus sativus</i> em ausência e presença de Cd e Pb.....	78
Figura 4 -	Índice de vigor das sementes de <i>Avena stringosa</i> e <i>Raphanus sativus</i> em ausência e presença de Cd e Pb.....	80
Figura 5 -	Comprimento da parte aérea nas plântulas <i>Avena stringosa</i> e <i>Raphanus sativus</i> em ausência e presença de Cd e Pb.....	81
Figura 6 -	Comprimento radicular nas plântulas <i>Avena stringosa</i> e <i>Raphanus sativus</i> em ausência e presença de Cd e Pb.....	82
Figura 7 -	Efeito fitotóxico de cádmio (10 mg L ⁻¹) em <i>Avena stringosa</i> e <i>Raphanus sativus</i>	83

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Capítulo 3

Figura 1 -	Porcentagem de germinação para as espécies <i>Brachiaria brizantha</i> (cv. Piatã, Marandu e MG5) e <i>Brachiaria decumbens</i> em diferentes metodologias de superação de dormência.....	105
Figura 2 -	Porcentagem de germinação (PG) das espécies de <i>Brachiaria brizantha</i> (cv. Piatã, Marandu e MG5) e <i>Brachiaria decumbens</i> em preseça de Cd, Pb e Cu.....	107
Figura 3 -	Índice de velocidade de germinação (IVG) das espécies de <i>Brachiaria brizantha</i> (cv. Piatã, Marandu e MG5) e <i>Brachiaria decumbens</i> em preseça de Cd, Pb e Cu.....	108
Figura 4 -	Porcentagem de germinação de plântulas anormais em presença de Cu para as espécies <i>Brachiaria brizantha</i> (cv. Piatã, Marandu e MG5) e <i>Brachiaria decumbens</i>	110
Figura 5 -	Comprimento da parte aérea das plântulas de <i>Brachiaria brizantha</i> (cv. Piatã, Marandu e MG5) e <i>Brachiaria decumbens</i> em preseça de Cd, Pb e Cu.....	111
Figura 6 -	Comprimento radicular das plântulas de <i>Brachiaria brizantha</i> (cv. Piatã, Marandu e MG5) e <i>Brachiaria decumbens</i> em preseça de Cd, Pb e Cu.....	112

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Capítulo 3

- Figura 7 - Índice de Vigor (IV) das plântulas de *Brachiaria brizantha* (cv. Piatã, Marandu e MG5) e *Brachiaria decumbens* em preseça de Cd, Pb e Cu.....114
- Figura 8 - Índice SPAD das espécies *Brachiaria brizantha* (cv. Piatã, Marandu e MG5) e *Brachiaria decumbens* em preseça de Cd e Cu.....118

LISTA DE TABELAS

Capítulo 3

Tabela 1 -	Caracterização da qualidade física das sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> (cv. Piatã, Marandu, MG5) e <i>Brachiaria decumbens</i>	104
Tabela 2 -	Matéria seca do tecido vegetal em mg das espécies <i>Brachiaria brizantha</i> (cv. Piatã, Marandu, MG5) e <i>Brachiaria decumbens</i> em presença de Cd e Cu.....	116
Tabela 3 -	Teor de Cd e Cu no tecido vegetal das espécies <i>Brachiaria brizantha</i> (cv. Piatã, Marandu, MG5) e <i>Brachiaria decumbens</i>	120
Tabela 4 -	Teor disponível de Cd e Cu encontrados em Cambissolo Háplico na ausência e na presença de contaminação.....	121

LISTA DE QUADROS

Capítulo 3

Quadro 1 -	Características químicas e argila do Cambissolo	
	Háplico.....	101

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

APX	Ascorbato peroxidase
<i>B. brizantha</i>	<i>Brachiaria brizantha</i>
<i>B. decumbens</i>	<i>Brachiaria decumbens</i>
CAT	Catalase
Cd	Cádmio
Cr	Cromo
CTC	Capacidade de Troca Catiônica
Cu	Cobre
cv.	Cultivar
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ERO's	Espécies reativas de oxigênio
GSH	Glutathione redutase
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HNO ₃	Ácido nítrico
IV	Índice de vigor
IVG	Índice de velocidade de germinação
KCl	Cloreto de potássio
MSPA	Matéria seca parte aérea
MSR	Matéria seca raiz
mRNA	RNA mensageiro
Ni	Níquel
O ₂	Oxigênio
OH	Hidroxila
Pb	Chumbo
PG	Porcentagem de germinação
pH	Potencial hidrogeniônico
RNA	Ácido ribonucleico
SPAD	Soil Plant Analysis Development
SOD	Superóxido dismutase
Zn	Zinco

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	35
2	CAPÍTULO 1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	37
2.1	ELEMENTOS-TRAÇO NO SOLO	37
2.2	ALTERAÇÕES METABÓLICAS E RESPOSTAS BIOQUÍMICAS DAS PLANTAS NA ABSORÇÃO DE ELEMENTOS -TRAÇO	38
2.3	GERMINAÇÃO DAS SEMENTES EM AMBIENTES CONTAMINADOS	41
2.4	CÁDMIO NAS PLANTAS.....	44
2.5	CHUMBO NAS PLANTAS	45
2.6	COBRE NAS PLANTAS.....	46
2.7	PLANTAS FORRAGEIRAS	47
2.7.1	Nabo Forrageiro (<i>Rhaphanus sativus</i>).....	47
2.7.2	Aveia Preta (<i>Avena stringosa</i>).....	48
2.7.3	Braquiárias (<i>Brachiaria</i> sp.).....	49
3	OBJETIVOS	50
4	HIPÓTESES	50
	REFERÊNCIAS	51
5	CAPÍTULO 2 – DANOS NA GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DA PLÂNTULA DE <i>Avena</i> <i>stringosa</i> E <i>Rhaphanus sativus</i> NA EXPOSIÇÃO AO CÁDMIO E CHUMBO.....	67
5.1	INTRODUÇÃO	70
5.2	MATERIAL E MÉTODOS	72

5.3	RESULTADOS E DISCUSSÕES	75
5.3.1	Pocentagem de Germinação em Germinadora e em Câmara de Crescimento (BOD)	75
5.3.2	Germinação e desenvolvimento inicial de <i>Avena stringosa</i> e <i>Raphanus sativus</i> em presença de Cádmio e Chumbo	76
5.4	CONCLUSÕES	85
	REFERÊNCIAS.....	86
6	CAPÍTULO 3 – GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO INICIAL DA <i>Brachiaria brizantha</i> E <i>Brachiaria decumbens</i> EM PRESENÇA DE CÁDMIO, CHUMBO E COBRE	92
6.1	INTRODUÇÃO.....	96
6.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	98
6.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	104
6.3.1	Teste de germinação na presença de Cd, Cu e Pb ...	105
6.3.2	Casa de Vegetação	115
6.4	CONCLUSÕES	122
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	123
	REFERÊNCIAS	125

1 INTRODUÇÃO GERAL

Os elementos-traço encontram-se naturalmente no solo e suas concentrações variam dependendo do material de origem, clima, topografia, tipo e uso do solo. A quantidade presente dos de atributos como a capacidade de troca catiônica e matéria orgânica são determinantes para disponibilizar estes elementos ao meio ambiente (ALLEONI, et al., 2005; BECH et al., 2012). No entanto, a urbanização e industrialização elevam ainda mais suas concentrações no solo. O crescente uso de produtos tecnológicos e seu descarte inadequado bem como os desastres ambientais e o uso indiscriminado de agrotóxicos elevam ainda mais os teores de elementos-traço no meio ambiente. Com isso, a presença de elementos-traço no solo reduz a qualidade destes e torna perigoso para a biota, e aumenta o risco de exposição ao homem e aos ecossistemas e restringe o uso do solo (YANG; et al, 2015; YI & SUNG, 2015).

A planta é a principal entrada dos elementos-traço à cadeia alimentar. O uso de plantas de cobertura e forrageiras áreas contaminadas por elementos-traço gera uma grande preocupação para a saúde pública. Há elementos-traço que são conhecidos como inibidores de crescimento e exercem efeitos negativos sobre as plantas, podendo levar a respostas mais amplas de fitotoxicidade e diminuir o rendimento e a qualidade das culturas agrícolas (GRATÃO et al., 2005; YANG et al., 2010). Algumas espécies de plantas podem apresentar sintomas de toxidez quando expostas aos elementos-traço, enquanto outras podem sobreviver e até mesmo se adaptarem ao estresse provocado pelos elementos-traço presentes no solo, mantendo um crescimento e desenvolvimento sem exibir sintomas de toxicidade (OVENČKA & TAKÁČ, 2014).

Nesse sentido, propôs-se avaliar a germinação de *Avena stringosa* e *Raphanus sativus*, *Brachiaria brizantha* (cv. Piatã, Marandu e MG5) e *Brachiaria decumbens* em presença dos

elementos-traço Cd, Pb e Cu, bem como determinar os teores de Cd e Cu acumulados nas espécies *Brachiaria brizantha* (cv. Piatã, Marandu e MG5) e *Brachiaria decumbens*.

A presente tese foi dividida em três capítulos, sendo que o primeiro capítulo traz a revisão bibliográfica com a importância da germinação em presença de elementos-traço e uma breve descrição das espécies analisadas neste estudo. No segundo capítulo foram avaliados a germinação de *Avena stringosa* e *Raphanus sativus* em presença de cádmio e chumbo. No terceiro capítulo foram avaliados a germinação e acumulação de *Brachiaria brizantha* (cv. Piatã, Marandu e MG5) e *Brachiaria decumbens* em presença de cádmio, chumbo cobre e a acumulação de cádmio e cobre nestas espécies.

2 CAPÍTULO 1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ELEMENTOS-TRAÇO NO SOLO

O solo é o componente essencial para o meio ambiente. Consequentemente, a qualidade do solo deve ser preservada, uma vez que é a base dos ecossistemas terrestres e uma ligação para os ciclos biogeoquímicos. Naturalmente, a concentração de elementos potencialmente tóxicos como os elementos-traço depende do material de origem, clima, topografia, tipo e uso do solo (BECH et al., 2012).

O termo elemento-traço tem sido usado para definir elementos catiônicos e aniônicos presentes em baixas concentrações (usualmente $< 0,1 \text{ dag kg}^{-1}$) em solos e plantas (PIERZYNSKI et al., 1994; GUILHERME et al., 2005). Alguns elementos-traço são considerados essenciais para o metabolismo das plantas, enquanto outros não o são. Entretanto, mesmo aqueles elementos essenciais podem, ocasionar impactos negativos a biota terrestre e aquática (GUILHERME et al., 2005). A urbanização e industrialização elevam ainda mais as concentrações dos elementos-traço no solo, reduzindo a qualidade do solo e aumentando o risco de exposição à biota (YANG et al, 2015; YI & SUNG, 2015).

As características físico-químicas dos elementos-traço, aliados às características mineralógicas e químicas do solo, determinam o grau de mobilidade e disponibilidade desses elementos. Os elementos-traço podem estar na solução do solo, trocável, sorvido nos minerais da fração argila, complexado na matéria orgânica e precipitados em formas insolúveis (SHAHID et al., 2012).

A transferência dos elementos-traço do solo para a planta é um processo complexo, o qual depende de algumas propriedades como pH, capacidade de troca catiônica (CTC), granulometria, composição mineralógica do solo, extensão radicular entre outros (KABATA-PENDIAS, 2011).

A mobilidade e/ou disponibilidade dos elementos-traço desempenha um papel importante no compartimento da rizosfera e podem regular a entrada desses na cadeia alimentar. O entendimento dos processos físicos e químicos no solo aliados ao entendimento dos mecanismos de absorção e translocação na planta são de suma importância no gerenciamento do risco a exposição aos elementos-traço (PERALTA-VIDEA et al., 2009).

2.2. ALTERAÇÕES METABÓLICAS E RESPOSTAS BIOQUÍMICAS DAS PLANTAS NA ABSORÇÃO DE ELEMENTOS -TRAÇO

As plantas absorvem todos os elementos disponíveis no solo (DUARTE & PASQUAL, 2000). Estes elementos podem ser essenciais, ou seja, aquele elemento que a planta precisa para seu metabolismo e desenvolvimento, ou não essenciais, aqueles elementos que não desempenham nenhuma função fisiológica. Os elementos essenciais, como cobre, zinco e manganês, podem ser potencialmente tóxicos em elevadas concentrações no solo (ADREES et. al., 2015).

Os elementos-traço considerados não essenciais interferem na divisão das células da parte aérea, inibem direta ou indiretamente os processos fisiológicos da respiração e fotossíntese, interferem nas relações planta-água, o que resulta em redução do crescimento radicular e da biomassa vegetal (LIU et al., 2012; MALIZIA et. al., 2012). A habilidade dos elementos-traço de se ligar as enzimas, provoca a inativação ou até mesmo o aumento da atividade de outras enzimas, resultando em alterações na sua função catalítica (VAN ASSCHE & CLIJSTERS, 1990).

A exposição das plantas aos elementos-traço provoca um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), tais como, peróxidos de hidrogênio (H_2O_2), oxigênio singlete

(O_2^-) e hidroxilas (OH^-) (RESENDE et al., 2003). A ERO pode provocar peroxidação lipídica e por consequência, o aumento da permeabilidade nas membranas celulares e a perda da sua compartimentalização (APEL & HIRT, 2004; CUYBERS et al., 2010). Os danos provocados pelas ERO's podem incluir a inibição das enzimas responsáveis pelos processos fotossintéticos, danos à nível de DNA e RNA causando necrose e senescência das folhas (SCANDALIOS, 2005).

Como resposta de defesa à fitotoxicidade, a planta produz enzimas antioxidantes que amenizam os efeitos tóxicos provocados pelo aumento da produção da ERO (SOARES & MACHADO, 2007). São enzimas antioxidantes a catalase (CAT), a glutathione redutase (GSH), a superóxido dismutase (SOD) e a ascorbato peroxidase (APX) e antioxidantes não-enzimáticos o ácido ascórbico, o tocoferol e os carotenoides (ARENA et al., 2013; SANTOS et al., 2011).

O peróxido de hidrogênio é degradado pelas enzimas antioxidantes CAT nos peroxissomos e pela APX no cloroplastos e no citosol (APEL & HIRT, 2004; SCANDALIOS 2005). A enzima SOD elimina o poder tóxico do oxigênio singlete, formando o peróxido de hidrogênio o qual é eliminado posteriormente pela CAT ou pelo ascorbato-peroxidase. A SOD atua em todos os compartimentos celulares (ALSCHER et al., 2002). O antioxidante não proteico tocoferol também auxilia na detoxificação do peróxido de hidrogênio (SANTOS et al., 2011).

Os efeitos bioquímicos e moleculares antecedem o aparecimento de danos visíveis. Deste modo, as alterações bioquímicas e moleculares provenientes da ação tóxica dos elementos-traço oferecem evidências precoces dos efeitos negativos da exposição dos elementos-traço (PURUSHOTHAMAN et al., 2011; LIU et al., 2012). O aumento da atividade das enzimas antioxidantes nas plantas está associada ao melhor desempenho que as plantas

apresentam frente ao estresse provocado pelos elementos-traço (FIDALGO et al., 2013; SOARES & MACHADO 2007).

Além das enzimas antioxidantes, as plantas desenvolveram outros mecanismos para minimizar os efeitos tóxicos provocados por sua exposição aos elementos-traço. Dentre os mecanismos podem ser citados a exclusão do elemento-traço, a redução de captação do elementos-traço pela ação das micorrizas ou pelos exsudatos excretados pela raiz, pela quelação dos elementos-traço por metalotionínas e fitoquelatinas, que são proteínas ricas em cisteína, que tem alta afinidade em se ligar com por elementos-traço metálicos, os quais se unem e são compartimentados e levados para o vacúolo, onde são acumulados (FIDALGO et al., 2013; HALL, 2002; DI TOPPI, 1999).

A quelação dos elementos-traço ocorre pela alta afinidade de. As principais proteínas são as metalotionínas e as fitoquelatinas (HALL, 2002).

As metalotionínas são codificadas pela tradução do RNA mensageiro (mRNA) (ALI et. al., 2013; HALL, 2002), possuem baixo peso molecular (COBBERTT & GOLDSBROUGH, 2002). Seu modo de ação é muitas vezes ligado à sua capacidade de eliminar espécies reativas de oxigênio (ERO's) (LESZCZYSZYN et al., 2013; HASSINEN et al., 2011). As metalotionínas possuem as funções de manter o equilíbrio dos íons metálicos dentro das células, de detoxificação e proteção celular contra os efeitos tóxicos dos elementos-traço (HAN et al., 2015). As metalotionínas estão presentes no citosol e no momento da divisão celular ou em presença de íons metálicos podem ser encontrados no núcleo celular, desempenhando um papel de proteção do DNA contra possíveis danos provocados pelo estresse oxidativo (LEVADOUX-MARTIN et al., 2001).

As fitoquelatinas são formadas basicamente por três aminoácidos Glu, Cys e Gly que possuem uma estrutura geral

de (γ -Glu-Cys) n Gly onde n varia de 2 a 11 (SERRANO, et al., 2015; YADAV, 2010; COBBETT & GOLDSBROUGH, 2002). As enzimas glutatona e fitoquelatina sintase são responsáveis pela síntese das fitoquelatinas. A ativação dessas enzimas ocorre preferencialmente por cádmio seguido de prata, bismuto, chumbo, zinco, cobre, mercúrio, e ouro presentes no citosol (BRIAT & LEBRUN, 1999; SERRANO et. al., 2015). Após a síntese, as fitoquelatinas complexadas aos elementos são transportadas do citosol para dentro do vacúolo das células (OVENČKA & TAKÁČ 2014; SANTOS et. al., 2011; GRATÃO et al., 2005), protegendo assim as células dos efeitos tóxicos desses elementos (YADAV, 2010).

2.3 GERMINAÇÃO DAS SEMENTES EM AMBIENTES CONTAMINADOS

A germinação da semente é considerada como sendo o primeiro passo da vida de uma planta, sendo um dos processos fisiológicos mais sensíveis, afetada por interações hormonais e fatores ambientais, tanto bióticos quanto abióticos (MADEJÓN et al., 2015; MOOSAVI et al., 2012). As condições adequadas de temperatura, luminosidade e água devem ser atendida para que ocorra a germinação das sementes (CARVALHO & NAKAGAWA, 2012).

A presença dos elementos-traço rompem as condições adequadas exigidas na germinação das sementes o termo vigor é mais condizente quando as sementes são expostas aos elementos-traço. Vigor é o comportamento que as sementes se desenvolvem em condições onde acontece condições adversas e inusitadas tendo diversos fatores externos atuando (CARVALHO & NAKAGAWA, 2012), como no caso deste estudo, um fator (a exposição aos elementos-traço) rompe as condições ideais de germinação.

Diversas pesquisas avaliam os efeitos do vigor das sementes em exposição aos elementos-traço (DI

SALVATORE, et al., 2008; SADARI & ZARINKAMAR, 2012; MÁRQUEZ-GARCÍA, 2013; MORAES et al., 2014; ADREES et al., 2015). Porém estes pesquisadores utilizam o termo germinação das sementes em exposição aos elementos-traço para uma melhor compreensão para o leitor. Neste trabalho, o termo germinação também será adotado para avaliar o vigor das sementes em exposição aos elementos-traço.

Normalmente, a germinação em presença dos elementos-traço é comprometida e afeta o desenvolvimento das plântulas (YANG et al., 2010; KOPITKE et al., 2007), principalmente pela falta de mecanismos de defesa nessa fase (HATAMZADEH et al., 2012). A presença dos elementos-traço, podem ainda influenciar na sensibilidade e na toxicidade destes às plantas (ADREES et al., 2015). Ensaio de fitotoxicidade são particularmente relevantes quando contaminantes estão presentes no solo (KO et al., 2012).

O uso de bioensaios para avaliar a ecotoxicidade dos ambientes contaminados ganhou maior atenção nas últimas duas décadas (LIU, 2005). Enquanto que, estudos com plantas que crescem em ambientes contaminados e os efeitos dos elementos-traço na germinação das plantas são mais recentes (AHSAN et al., 2007).

O efeito dos elementos-traço também pode ser influenciado pela capacidade de interação do elemento-traço com o tegumento e tecidos embrionários das sementes de diferentes espécies e depende das propriedades físico-químicas destes elementos (Ko et al., 2012). A morfologia do tegumento pode afetar a permeabilidade em sementes intactas (KRANNER & COLVILLE, 2011). Diferentes espécies de plantas possuem os mais variados tipos de tegumentos, estrutura e anatomia de sementes (MUNZUROGLU & GECKIL, 2002) e, portanto, a mesma concentração de elementos-traço tem efeitos tóxicos diferentes de uma espécie para outra (KO et al., 2012).

Após a entrada de solução através do tegumento das sementes, a germinação conta com as reservas de nutrientes presentes na semente para o fornecimento de metabólitos para a respiração. Porém, os elementos-traço podem causar o estresse oxidativo e interferir, na atividade de enzimas como α -amilase e β -amilase, enzimas responsáveis pela degradação do amido que é o principal suprimento presente nas sementes no processo de germinação (KO et al, 2012; LIU et al, 2005; HE, et al., 2008). Portanto, a inibição dessas enzimas pode ser um indicativo dos mecanismos de toxicidade dos elementos-traço (KONG, 2013; LIU et. al., 2005). Plantas sensíveis à exposição de elementos-traço servem como indicadores em ambientes contaminados, pois respondem rapidamente aos efeitos deletérios dos poluentes (KONG, 2013).

A inibição na germinação foi observada em *Cicer arietinum* L. na presença do cobre (SMIRI & MISSAOUI, 2014), em trigo na exposição ao chumbo (YANG et al., 2010), e arsênio (LI et al., 2007), em arroz em exposição ao cádmio (HE et al., 2008). Outros pesquisadores como o DRAB e demais colaboradores (2011) também observaram a inibição da germinação ao avaliar os efeitos das sementes expostas aos metais cádmio, chumbo, zinco e cobre em sementes de canola, arroz, trigo e mostarda branca.

Além da germinação, parâmetros como índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento radicular e índice de vigor (IV) são importantes para demonstrar o desenvolvimento das sementes em exposição aos elementos-traço (LI et al., 2007).

O índice de velocidade de germinação é um parâmetro utilizado para avaliar se ocorre retardo ou não da germinação (HE et. al., 2008). A presença de elementos-traço no momento da germinação pode comprometer a absorção de água, causando inibição da absorção de solução, o que ocasiona um comprometimento no desenvolvimento da plântula (LIU et al., 2012). A inibição da germinação da cevada expostas ao Cd e

ao Cu ocorre devido a uma falha na mobilização de reserva a partir do endosperma (KALAI et al., 2014).

O comprimento radicular é outro parâmetro importante, pois, a radícula é o primeiro órgão da plântula que entra em contato com a solução contaminada (FENG et. al. 2016). Por isso, o comprimento radicular torna-se um dos parâmetros mais afetados em testes com presença de elementos-traço (LI et al., 2007). Esses elementos podem interferir na divisão mitótica ocasionando redução do comprimento radicular e/ou ausência da radícula (LIU et al., 2014; MUCCIFORA & BELLANI, 2013). A perda de dominância apical, pode ser outro fator que interfere no comprimento radicular, devido ao aumento de ramificação na raiz e formação de edemas localizados na ponta das raízes (KOPITKE et al., 2007).

O índice de vigor é um parâmetro que avalia a relação entre a germinação e o comprimento radicular (MADEJÓN et al., 2015). Mesmo não ocorrendo a inibição da germinação, o índice de vigor pode diminuir em presença de elementos-traço (HE et al, 2008). O decréscimo do índice de vigor pode ocorrer principalmente pela inibição do comprimento radicular (HE et. al., 2014).

2.4 CÁDMIO NAS PLANTAS

O cádmio, não é um elemento essencial ao metabolismo das plantas, sendo assim, é tóxico até mesmo em concentrações diminutas (GRATÃO et. al., 2005). A presença de cádmio nas plantas pode influenciar no fechamento estomático inibindo o processo da fotossíntese. A condutância estomática pode afetar a absorção de outros nutrientes minerais, seu efeito poderia estar relacionado a alterações nas relações hídricas. A redução da abertura estomática pode reduzir a disponibilidade de carbono para a fotossíntese acarretando a redução de taxas de

crescimento da planta (GUIMARÃES, 2008). A presença de cádmio na planta pode ainda prejudicar o funcionamento de reações fotoquímicas, pois este pode reduzir a regeneração da enzima Rubisco, diminuindo assim a atividade fotossintética das plantas (CHUGH & SAWHNEY, 1999).

Os principais sintomas de toxicidade de cádmio são a diminuição no crescimento da plântula, alteração da estrutura do cloroplasto, inibição da fotossíntese, clorose, peroxidação lipídica induzida, supressão de germinação, perturbações no metabolismos do enxofre e do nitrogênio dentre outras atividades metabólicas (GUIMARÃES et al., 2008; PURUSHOTHAMAN et al., 2011; GILL et al., 2013). Outros distúrbios fisiológicos causados por cádmio, incluem ainda a redução de biomassa vegetal, o qual pode ser uma consequência indireta, pela deficiência de nutrientes ou pela redução da atividade fotossintética da planta. Distúrbios de nutrição mineral surgem em consequência dos seus efeitos deletérios de cádmio sobre o metabolismo dos elementos essenciais, incluindo o cálcio, magnésio, potássio, ferro, zinco, manganês e cobre (CHUGH & SAWHNEY, 1999; CARVALHO- BERTOLI et al., 2012).

O cádmio pode interagir com outros metais, vitaminas e proteínas presentes na planta. Isto ocorre devido a similaridade do cádmio as propriedades físicas e químicas com outros íons como o cálcio, manganês, zinco e ferro. Os quais podem competir com o cádmio, como a substituição do zinco em muitas metaloenzimas causando alterações na atividade enzimática. A competição ferro/cádmio pode ocasionar danos no aparelho fotossintético (KABATA-PENDIAS, 2011).

2.5 CHUMBO NAS PLANTAS

O chumbo também é considerado um elemento não essencial ao metabolismo das plantas. Foi classificado como o segundo metal mais tóxico segundo a U. S. Agency for Toxic

Substances and Disease Registry (ATSDR, 2007). Seu aumento nas últimas décadas se dá principalmente pelas atividades de mineração, fabricação de baterias e indústrias de tintas, corantes e petrolífera (PAOLIELLO & DE CAPITANI, 2007).

O chumbo acumula-se principalmente no sistema radicular, nos vacúolos das células radiculares e se ligam ao pirofosfato presentes na parede celular. As plantas expostas ao chumbo nem sempre apresentam efeito deletério a planta ou (SHARMA & DUBEY 2005) quando apresentam, podem ter problemas nos processos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos das plantas, tais como a diminuição da germinação das sementes, comprimento das plântulas, matéria seca da raiz e da parte aérea; causa um descontrole na permeabilidade da membrana celular, inibição da atividade fotossintética, processos respiratórios da plantas, teores de clorofila, alterações dos cloroplastos, redução da divisão celular; anormalidades de crescimento e de desenvolvimento e ainda pode apresentar clorose em suas folhas (MUNZUROĞLU & GECKIL, 2002; SHARMA & DUBEY, 2005; SAMARDAKIEWICZ & WOŹNY, 2005; KABATA-PENDIAS, 2011; MORAES et al., 2014;ASHRAF et al., 2015).

2.6 COBRE NAS PLANTAS

Ao contrário dos outros elementos-traço relatados, o cobre é um elemento essencial para a manutenção de numerosos processos fisiológicos, porém as quantidades exigidas são pequenas (HART et al., 1999). No desenvolvimento normal da planta, o cobre atua como co-fator de metaloproteínas na cadeia de transportes de elétrons e em mitocôndrias e cloroplastos. O cobre ainda participa na fotossíntese respiração, na fixação de nitrogênio, em proteínas no metabolismo do nitrogênio e carboidratos, atividades antioxidantes, no

metabolismo da parede celular, e assimilação hormonal (YRUELA, 2009).

Porém, mesmo sendo um nutriente essencial, o cobre pode tornar-se tóxico para o crescimento da planta depois de atingir um determinado limiar (AHMAD et al., 2015). A toxidez provoca danos no aparato fotossintético e perturbação na integridade das membranas dos tilacóides, os quais resultam em clorose e necrose, inibições no crescimento radicular e parte aérea, inibição na absorção de água, retardo da germinação (FIDALGO et al., 2013; KARMOUS et al., 2012; KRANNER & COLVILLE, 2011; YRUELA, 2009).

2.7 PLANTAS FORRAGEIRAS

2.7.1 Nabo Forrageiro (*Rhaphanus sativus*)

Pertencente à família das Cruciferae, o *Rhaphanus sativus* é uma cultura muito utilizada em todo o mundo. Sua utilização se dá principalmente para a ração animal (LI, et al., 2013). Devido as suas propriedades nutricionais e as fontes de peroxidases e isotiocianatos são também bastante utilizados na medicina como anticancerígenos e antiinflamatórios (KIM, et al., 2014). Possuem também capacidade de bioacumulação e por concentrar elementos-traço em suas raízes e parte aérea. *R. sativus* também é investigada como uma espécie potencialmente útil para a fitoextração de elementos-traço a partir de solos contaminados (SINGH & PRASAD, 2015; LUKATKIN et al., 2014; SGHERRI et al., 2003). Além disso, outra peculiaridade do *R. sativus* são as mudanças encontradas nas características anatômicas e morfológicas de raízes, caules e folhas desta espécie devido ao estresse provocado pela contaminação como o Cd (LUKATKIN et al., 2014). Reduções no comprimento radicular e aumento de enzimas antioxidantes tais como catalase, superóxidodismutase, peroxidase e

sintomas tóxicos nas folhas em presença de Cu foram relatados por Sun e colaboradores (2010).

Estudos demonstram que *R. sativus* tem uma potencial remediador para contaminantes como o Sr (WANG et al., 2012), Se (HLANDUN et al., 2013) e também em casos de contaminação simultânea com zinco, chumbo, níquel, cobre, cromo e cádmio (MARCHIOL et al., 2004). Esta mesma espécie também pode ser utilizada em casos de bioindicadores de Cu (SUN et al., 2010).

2.7.2 Aveia Preta (*Avena stringosa*)

A *Avena Stringosa* é muito utilizada nas pastagens no sul do Brasil, por se tratar de pastagens de clima temperado, com crescimento lento o qual supre a deficiência alimentar em épocas de inverno (ROSO & RESTLE, 2000; LUPATINI et. al., 1998). No entanto, essa espécie também pode ser usada como fitoindicadoras de contaminação (GIROTTTO et al., 2014). Além disso, a *A. stringosa* pode também ser tolerante ao cádmio. Esta tolerância pode ocorrer devido à alta atividade de enzimas antioxidantes como as enzimas superóxido dismutase e ascorbato peroxidase (URAGUCHI et al., 2006). Esses pesquisadores demonstraram que a *A. stringosa* além de tolerante ao Cd e também apresenta acumulação deste elemento em suas folhas.

Em presença de cobre a *A. stringosa* apresenta reduções de matéria seca tanto da raiz quanto da parte aérea, clorose internerval (GIROTTTO et. al., 2014). O acúmulo de cobre em *A. stringosa* ocorre principalmente na raiz, indicando que o sistema radicular apresenta mecanismos que previnem e/ou reduzem a translocação do cobre para a parte aérea da planta (CHAIGNON & HINSINGER, 2003).

2.7.3 Braquiárias (*Brachiaria* sp.)

O gênero *Brachiaria* é uma gramínea herbácea, perene ou anual. Pertencente à família das Poaceae, apresenta cerca de cem espécies (ARROYAVE et al., 2013). Proveniente da África, o gênero *Brachiaria*, foi facilmente adaptado às condições climáticas do Brasil (FLORINDO et al., 2014), ocupando hoje cerca de 85% da área de pastagem o que representa 180 milhões de hectares de pastagens cultivadas em todo o Brasil (CESÁRIO et al., 2015). Esse gênero se torna importante visto sua representatividade no pastejo das regiões tropicais, principalmente na produção de gado e sementes para comercialização (RIET-CORRÊA et al., 2011; FLORINDO et al., 2014).

Por serem tolerantes ao estresse, as braquiárias apresentam potencial fitorremediador (ANDRADE et al., 2014; ARROYAVE et al., 2013). A *Brachiaria decumbens* parece ter um alto grau de tolerância, em solos contaminados com zinco, cádmio, cobre e chumbo (GOMES et al., 2011) e ao alumínio (ARROYAVE, et al., 2013). No Brasil, outro trabalho utilizando braquiárias, foi realizado por ARAÚJO e colaboradores (2011) onde *Brachiaria decumbens* demonstrou ser tolerante ao arsênio, porém com baixa translocação desse elemento.

3 OBJETIVOS

Objetivo Geral

Determinar o vigor e o desenvolvimento inicial das plântulas *Avena stringosa*, *Raphanus sativus*, *Brachiaria brizantha* (cv. Piatã, Marandu, MG5) e *Brachiaria decumbens* em presença dos elementos-traço Cd, Pb e Cu.

Objetivos Específicos

Avaliar os efeitos tóxicos na germinação de *Avena stringosa*, *Raphanus sativus* na presença de Cd e Pb e de *Brachiaria brizantha* (cv. Piatã, cv. Marandu e cv. MG5) e a *Brachiaria decumbens* na presença de Cd, Pb e Cu;

Avaliar o desenvolvimento inicial das espécies *Brachiaria brizantha* (cv. Piatã, cv. Marandu e cv. MG5) e a *Brachiaria decumbens*, em casa de vegetação, na presença Cd e Cu;

Avaliar o teor de Cd e Cu na raiz e na parte aérea da *Brachiaria brizantha* (cv. Piatã, cv. Marandu e cv. MG5) e a *Brachiaria decumbens*.

4 HIPÓTESES

As plantas *Avena stringosa* e *Raphanus sativus* são capazes de germinar e se desenvolver em presença de Cd e Pb.

As plantas *Brachiaria brizantha* (cv. Piatã, Marandu, MG5) e *Brachiaria decumbens* são capazes de germinar e se desenvolver em presença de Cd, Pb e Cu.

As plantas *Brachiaria brizantha* (cv. Piatã, Marandu, MG5) e *Brachiaria decumbens* em presença de Cd, Pb e Cu são capazes de acumular esses metais em seu tecido (raiz e parte aérea).

REFERÊNCIAS

ADREES, M.; ALI et al. The effect of excess copper on growth and physiology of important food crops: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 11, p. 8148-8162, 2015.

AHMAD, W.; NAJEED, U.; ZIA, M. H. Soil Contamination with Metals: Sources, Types and Implications. **Soil Remediation and Plants**, Prospects and Challenges, 37-61, 2015.

AHSAN, N. et al. Excess copper induced physiological and proteomic changes in germinating rice seeds. **Chemosphere**, v. 67, p. 1182-1193, 2007.

ALI, H.; KHAN, E.; SAIAD, M. A. Phytoremediation of heavy metals—Concepts and applications. **Chemosphere**, v., 91, n. 7, p. 869-881, 2013.

ALLEONI, L. R. F. et al. Atributos do solo relacionados à adsorção de cádmio e cobre em solos tropicais. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 27, n. 4, p. 729-737, 2005.

ALSCHER, R.G.; ERTURK, N.; HEATH, S.L. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**. v.53, n. 372, p. 1331- 1341, 2002.

ANDRADE, A. F. M. et al. EDTA-induced phytoextraction of lead and barium by brachiaria (*B. decumbens* cv. Basilisk) in soil contaminated by oil exploration drilling waste. **Acta Scientiarum**, v. 36, n. 4, p. 495-500, 2014.

APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p. 373-399, 2004.

ARAÚJO, A. S. A. et al. Fitorremediação de solos contaminados com arsênio (As) utilizando braquiária. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 1, p. 84-91, 2011.

ARENA, C. et al. Response of *Phaseolus vulgaris* L. plants to low-let ionizing radiation: Growth and oxidative stress. **Acta Astronautica**, v. 91, p. 107-114, 2013.

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

ASHRAF, U. et al. Lead toxicity in rice: effects, mechanisms, and mitigation strategies- a mini review. **Environmental Science and Pollution Research**, p.1-15, 2015.

ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry. **Toxicological profile for cadmium**. Atlanta, GA: U. S. Department of Health and Human Services, Public Health Services, 2012, 487 p.

ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry. **Toxicological profile for copper**. Atlanta, GA: U. S. Department of Health and Human Services, Public Health Services, 2004, 314 p.

ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry. **Toxicological profile for lead**. Atlanta, GA: U. S. Department

of Health and Human Services, Public Health Services, 2007. 582 p.

BANKS, M. K.; SCHULTZ, K. E. Comparison of plants for germination toxicity tests in petroleum contaminated soils. **Water Air Soil Pollut**, v. 167, p. 211–219, 2005.

BECH, J.; ABREU, M. M.; ALBANESE, S. Reclamation of mining site soils. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 113, p. 1-2, 2012.

BRIAT, J. F.; LEBRUN, M. Plant responses to metal toxicity. **Plant Biology and Pathology**, v. 322, n. 1, p. 43-54, 1999.

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

CARVALHO-BERTOLI, A. et al. *Lycopersicon esculentum* submitted to Cd-stressful conditions in nutrition solution: nutrient contents and translocation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 86, p. 176-181, 2012.

CEZÁRIO, A. S. et al. Silages of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu harvested at two regrowth ages: Microbial inoculant responses in silage fermentation, ruminant digestion and beef cattle performance. **Animal Feed Science and Technology**, v. 208, p. 33-43, 2015.

CHAIGNON, V. et al. Copper bioavailability and extractability as related to chemical properties of contaminated soils from a vine-growing area. **Environmental Pollution**, v. 123, p. 229–238, 2003.

CHUGH, L. K.; SAWHNEY, S. K. Photosynthetic activities of *Pisum sativum* seedlings grown in presence of cadmium. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 37, n. 4, p. 297-303, 1999.

COBBETT, C. GOLDSBROUGH, P. Phytochelatins and metallothioneins: Roles in Heavy Metal Detoxification and Homeostasis. **Plant Biology**, v. 53, p. 159-182, 2002.

CUYPERS, A. et al. Cadmium stress: an oxidative challenge. **Biomaterials**, v. 23, n. 5, p. 927-40, 2010.

DI SALVATORE, M.; CARAFA, A.M.; CARRATÙ, G. Assessment of heavy metals phytotoxicity using seed germination and root elongation tests: A comparison of two growth substrates. **Chemosphere**, v. 73, p.1461–1464, 2008.

DI TOPPI, L.S. et al. Effects of Cadmium Stress on Hairy Roots of *Daucus carota* **Journal of Plant Physiology**, v. 154, p. 385-391, 1999.

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.

DUARTE, R. S.; PASQUAL, A. Avaliação do cádmio (Cd), chumbo (Pb), níquel (Ni) e zinco (Zn) em solos, plantas e cabelos humanos. **Energia na Agricultura**, v. 15, n. 1, p. 46-58, 2000.

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.

FERNÁNDEZ-CALVIÑO, D. et al. Copper accumulation and fractionation in vineyard soils from temperate humid zone (NW Iberian Peninsula). **Geoderma**, v. 153, n. 1-2, p. 119-129, 2009.

FIDALGO, F. et al. Copper-induced stress in *Solanum nigrum* L. and antioxidant defense system responses. **Food and Energy Security**, v.2, n. 1, p. 70–80, 2013.

FLORINDO, J. B. et al. *Brachiaria* species identification using imaging techniques based on fractal descriptors. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 103, p. 48-54, 2014.

GILL, S.S. et al. Importance of nitric oxide in cadmium stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 63, p. 254-261, 2013.

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.

GOMES, M. P. et al. Ecophysiological and anatomical changes due to uptake and accumulation of heavy metal in *Brachiaria decumbens*. *Scientia Agricola*. v. 68, n. 5, p. 566-573, 2011.

GRATÃO, P.L. et al. Phytoremediation: green technology for the clean up of toxic metals in the environment. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 17, n. 1, p. 53-64, 2005.

GUILHERME, L. R. G. et al. Elementos-traço em solos e sistemas aquáticos. **Tópicos em Ciencia do Solo**, v. 4, p. 345-390, 2005.

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

HALL, J. L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 366, p. 1-11, 2002.

HAN, Y. L. et al. Cloning, characterization and cadmium inducibility of metallothionein in the testes of the mudskipper *Boleophthalmus pectinirostris*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 119, p. 1-8, 2015.

HART, P. J. et al. Structure-based mechanism for copper–zinc superoxide dismutase. **Biochemistry**, v. 38, p. 2167-2178, 1999.

HASSINNEN, V. H. et al. Plant metallothioneins-metal chelators with ROS- scavenging activity? **Plant Biology**, v. 13, p. 225-232, 2011.

HE, J. et al. Protective roles of nitric oxide on seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.) under cadmium stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v., 108, p. 114-119, 2014.

HE, J. et al. Effects of Cadmium Stress on Seed Germination, Seedling Growth and Seed Amylase Activities in Rice (*Oryza sativa*). **Rice Science**, v. 15, n. 4, p. 319-325, 2008.

HLANDUN, K. R. et al. Effects of selenium accumulation on phytotoxicity, herbivory, and pollination ecology in radish

(*Raphanus sativus* L.). **Environmental Pollution**, v. 172, p. 70-75, 2013.

KABATA-PENDIAS, A.; **Trace elements in soils and plants**. 4rd ed. Boca Raton: CRC Press, 2011. 534p.

KALAI, T. et al. Cadmium and copper stress affect seedling growth and enzymatic activities in germinating barley seeds. **Archives of Agronomy and Soil Science**. v. 60, n. 6, p. 765-783, 2014.

KARMOUS, I. et al. Proteolytic activities in *Phaseolus vulgaris* cotyledons under copper stress. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 18, n. 4, p. 337-343, 2012.

KIM, K. H. et al. 4-Methylthio-butanyl derivatives from the seeds of *Raphanus sativus* and their biological evaluation on anti-inflammatory and antitumor activities. **Journal of Ethnopharmacology**, v., 151, n. 1, p. 503-508, 2014.

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. **Environmental Biotechnology**, v. 95, n. 5, p. 1343-1350, 2012.

KONG, I. C. Joint effects of heavy metal binary mixtures on seed germination, root and shoot growth, bacterial bioluminescence, and gene mutation. **Journal of Environmental Sciences**. v. 25, n. 5, p. 889-894, 2013.

KOPITTKKE, P. M. et al. Toxic effects of Pb² on growth of cowpea (*Vigna unguiculata*). **Environmental Pollution**, v. 150, p. 280-287, 2007.

KRANNER, I.; COLVILLE, L. Metals and seeds: biochemical and molecular implications and their significance for seed germination. **Environmental and Experimental Botany**, v. 72, n. 1, p. 93-105, 2011.

LESZCZYSZYN, O. I.; IMAM, H. T.; BLINDAUER, C. A. Diversity and distribution of plant metallothioneins: a review of structure, properties and functions. **Metallomics**, v. 5, p. 1146–1169, 2013.

LEVADOUX-MARTIN, M. et al. Influence of metallothionein-1 localization on its function. **Biochemical Journal**, v. 355, n. 2, p. 473-479, 2001.

LI, C. X. et al. Effects of arsenic on seed germination and physiological activities of wheat seedlings. **Journal of Environmental Sciences**, v. 19, p. 725-732, 2007.

LI, L. et al. Molecular characterization of a trisegmented chrysovirus isolated from the radish *Raphanus sativus*. **Virus Research**, v. 176, n. 1–2, p. 169–178, 2013.

LI, X. et al. Effects of cadmium on uptake and translocation of nutrient elements in different welsh onion (*Allium fistulosum* L.) cultivars. **Food Chemistry**, v. 194, n. 17910, p. 101-110, 2016.

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, J. J.; WEI, Z.; LI, J. H. Effects of copper on leaf membrane structure and root activity of maize seedling. **Botanical Studies**, v. 55, p. 1–6, 2014.

LIU, H. et al. Manganese-mitigation of cadmium toxicity to seedling growth of *Phytolacca acinosa* Roxb. is controlled by the manganese/cadmium molar ratio under hydroponic conditions. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 73, p. 144-153, 2013.

LIU, X. L. et al. Toxicity of arsenate and arsenite on germination, seedling growth and amylolytic activity of wheat. **Chemosphere**, v. 61, n. 2, p. 293– 301, 2005.

LUKATKIN, A. et al. Effect of copper on pro- and antioxidative reactions in radish (*Raphanus sativus* L.) in vitro and in vivo. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 28, n. 1, p. 80-86, 2014.

LUPATINI, G. C. et al. Avaliação da mistura de aveia preta e azevém sob pastejo submetida a níveis de nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, n. 1, p. 1939-1 943, 1998.

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. 187,n. 11, p. 663-674, 2015.

MALIZIA, D. et al. Common plants as alternative analytical tools to monitor heavy metals in soil. **Chemistry Central Jornal**, v.6, p. 2-6, 2012.

MARCHIOL, L. et al. Phytoextraction of heavy metals by canola (*Brassica napus*) and radish (*Raphanus sativus*) grown

on multicontaminated soil. **Environmental Pollution**, v. 132, p. 21-27, 2004.

MÁRQUEZ-GARCIA, B. et al. The effects of heavy metals on germination and seedling characteristics in two halophyte species in Mediterranean marshes. **Marine Pollution Bulletin**, v. 70, n. 1-2, p. 119-124, 2013.

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 of Plant Physiology**, v. 164, n. 5, p. 601-610, 2007.

MOOSAVI, E. 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. **Journal of Agricultural Science**, v. 4, p. 1–19, 2012.

MORAES, C. L. et al. Alterações fisiológicas e ultraestruturais de plântulas de tomate induzidas por chumbo. **Ilheringia- Série Botânica**, v. 69, n. 2, p. 312-323, 2014.

MUCCIFORA, S.; BELLANI, L. M. Effects of copper on germination and reserve mobilization in *Vicia sativa* L. seeds. **Environmental Pollution**, v. 179, p. 68-74, 2013.

MUNZUROGLU, O.; GECKIL, H. Effects of metals on seed germination, root elongation, and coleoptile and hypocotyl growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 43, p. 203-213, 2002.

ÖNCEL, I.; KELES, Y.; ÜSTÜN, A. S..Interactive effects of temperature and heavy metal stress on the growth and some biochemical compounds in wheat seedlings. **Environmental Pollution**, v. 107, n. 3, p. 315-320, 2000.

OVENČKA, M.; TAKÁČ, T. Managing heavy metal toxicity stress in plants: Biological and biotechnological tools. **Biotechnology Advances**, v. 32, n. 1, p. 73-86, 2014.

PAOLIELLO, M. M. B.; DE CAPITANI, E. M. Occupational and environmental human lead exposure in Brazil. **Environmental Research**, v. 103, n. 2, p. 288-297, 2007.

PERALTA-VIDEA, J. R. et al. The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants: implications for the food chain. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 41, p. 1665-1677, 2009.

PIERZYNSKI, G.M.; SIMS, J.T. & VANCE, G.F. Soils and environmental quality. Boca Raton, Lewis Publishers, 1994. 313p.

PONGRAC, P. et al. Physiological responses to Cd and Zn in two Cd/Zn hyperaccumulating *Thlaspi* species. **Environmental and Experimental Botany**, v. 66, n. 3, p. 479-486, 2009.

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.

RESENDE, M.L.V.; SALGADO, S.M.L.; CHAVES, Z.M. Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas a patógenos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 123-130, 2003.

RIET-CORREA B. et al. *Brachiaria* spp. poisoning of ruminants in Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 3, p. 183-192. 2011.

ROSO, C.; RESTLE, J. Aveia Preta, Triticale e Centeio em Mistura com Azevém. 2. Produtividade Animal e Retorno Econômico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 1, p. 85-93, 2000.

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**, n. 6, v. 7, p. 1940-1943, 2012.

SAMARDAKIEWICZ, S.; WOŹNY, A. Cell division in *Lemna minor* roots treated with lead. **Aquatic Botany**, v. 83, p. 289-295, 2005.

SANTOS, F. S. et al. Resposta antioxidante, formação de fitoquelatinas e composição de pigmentos fotoprotetores em *Brachiaria decumbens* Stapf submetida à contaminação com Cd e Zn. **Química Nova**, v. 34, n. 1, p. 16-20, 2011.

SCANDALIOS, J. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v.38, p. 995–1014, 2005.

SERRANO, N. et al. Recent contributions to the study of phytochelatin synthase: an analytical approach. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 73, p. 129-145, 2015.

SGHERRI, C. COSI, E.; NAVARI-IZZO, F. Phenols and antioxidative status of *Raphanus sativus* grown in copper excess. **Physiologia Plantarum**, v. 118, p. 21–28, 2003.

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

SHI, G. L. et al. The transportation and accumulation of arsenic, cadmium, and phosphorus in 12 wheat cultivars and their relationships with each other. **Journal of Hazardous Materials**, v. 299, p. 94-102, 2015.

SHIYAB, S. Impact of cadmium accumulation on physiological characteristics of two cabbage varieties during phytoremediation. **Journal of Food, Agriculture and Environment**, v. 13, n. 2, p. 262- 268, 2015.

SINGH, A.; PRASAD, S. M. A lucrative technique to reduce Ni toxicity in *Raphanus sativus* plant by phosphate amendment: Special reference to plant metabolism. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 119, p. 81-89, 2015.

SMIRI, M.; MISSAOUI, T. The role of ferredoxin: thioredoxin reductase/thioredoxin in seed germination and the connection between this system and copper ion toxicity. **Journal of Plant Physiology**, v. 171, n. 17, p. 1664- 1670, 2014.

SOARES, A.M.S.; MACHADO, O.L.T. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 1, n. 1, p. 9-19, 2007.

STREET, R. A. et al. Toxicity of metal elements on germination and seedling growth of widely used medicinal plants belonging to hyacinthaceae. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 79, n. 4, p. 371-376, 2007.

SUN, B. Y. et al. Certain antioxidant enzymes and lipid peroxidation of radish (*Raphanus sativus* L.) as early warning biomarkers of soil copper exposure. **Journal of Hazardous Materials**, v. 183, n. 1-3, p. 833-838, 2010.

URAGUCHI, S. et al. Characteristics of cadmium accumulation and tolerance in novel Cd-accumulating crops, *Avena strigosa* and *Crotalaria juncea*. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 12, p. 2955-2965, 2006.

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

YADAV, S. K. Heavy metals toxicity in plants: An overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. **South African Journal of Botany**, v., 76, n. 2, p. 167-179, 2010.

YANG, Y. et al. Lead-induced phytotoxicity mechanism involved in seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, n. 8, p. 1982-1987, 2010.

YANG, Y.; WU, J.; CHRISTAKOS, G. Prediction of soil heavy metal distribution using Spatiotemporal Kriging with trend model. **Ecological Indicators**, v. 56, p. 125-133, 2015.

YI, Y. M.; SUNG, K. Influence of washing treatment on the qualities of heavy metal– contaminated soil. **Ecological Engineering**, 81: 89-92, 2015.

YRUELA, I. Copper in plants: acquisition, transport and interactions.

WANG, D. et al. The uptake of Cs and Sr from soil to radish (*Raphanus sativus* L.) - potential for phytoextraction and remediation of contaminated soils. **Journal of Environmental Radioactivity**, v. 110, n. 78-83, 2012.

WANG, S. et al. Variations in metal tolerance and accumulation in three hydroponically cultivated varieties of *Salix integra* treated with lead. **PLOS ONE**, v. 9, n. 9 p. 108568, 2014.

WANG, X., LIU, Y. Validation of germination rate and root elongation as an indicator to assess phytotoxicity with *Cucumis sativus*. **Chemosphere**, v. 44, p.1711–1721, 2001.

WANG, C. et al. The effect of excess Zn on mineral nutrition and antioxidative response in rapeseed seedlings. **Chemosphere**, v. 75, n. 11, p. 1468-1476, 2009

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

ZHI, Y. et al. Q. Assessment of potential soybean cadmium excluder cultivars at different concentrations of Cd in soils. **Journal of Environmental Sciences**, v. 35, n. 1, p. 108-114, 2015.

5 CAPÍTULO 2 – DANOS NA GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DA PLÂNTULA DE *Avena stringosa* E *Raphanus sativus* NA EXPOSIÇÃO AO CÁDMIO E CHUMBO

RESUMO

A contaminação de cádmio e chumbo se dá principalmente pela mineração, atividades agrícolas e aplicação de lodo de esgoto e adubos fosfatados nos solos. O presente estudo objetivou avaliar o efeito tóxico de Cd e Pb na germinação e desenvolvimento das plântulas das espécies aveia preta (*Avena stringosa*) e nabo forrageiro (*Raphanus sativus*). Primeiramente foram testadas duas metodologias para adequação da germinação das espécies estudadas. Após, a escolha da melhor metodologia, as sementes foram expostas à presença de cádmio (10 mg L^{-1}) e chumbo (200 mg L^{-1}) e a testemunha 0 mg L^{-1} (0 mg L^{-1}). Foram utilizadas 25 sementes perfazendo a unidade experimental, com quatro repetições cada. As avaliações da germinação foram realizadas diariamente por um período de 10 dias, após este período foi calculada a porcentagem de germinação (PG), o índice de velocidade de germinação (IVG), o índice de vigor (IV). Foram ainda realizadas medições do tamanho da raiz, parte aérea e massa seca de raiz e parte aérea. As duas metodologias utilizadas para a adequação da germinação de aveia preta e nabo forrageiro mostraram-se apropriados. Houve reduções da PG, do IVG e IV em presença dos metais estudados para a aveia preta. Em nabo forrageiro a PG e o IVG não foram alterados na presença dos elementos-traço. O IV foi menor na presença de chumbo para as duas espécies. O comprimento da

parte aérea foi maior nas duas espécies na presença do cádmio. Houve reduções do comprimento radicular em aveia preta e nabo forrageiro em presença do cádmio e do chumbo. Houve presença de clorose em aveia preta e necrose em nabo forrageiro em presença do cádmio. O nabo forrageiro mostrou-se mais resistente quando exposto ao cádmio e ao chumbo em relação a aveia preta.

Palavras-chave: Efeito tóxico. Germinação. Elementos-traço.

ABSTRACT

The cadmium and lead contamination mainly occurs by mining, agricultural activities and application of sewage sludge and phosphate fertilizers in soils. This study aimed to evaluate the effect of germination and seedling development of the species *Avena stringosa* and *Raphanus sativus* in cadmium and lead trace elements presence. The seeds were placed in gerboxes on blotting paper with 25 seeds making experimental unit, with four replications. The cadmium and lead concentrations were 10 and 200 mg L⁻¹ respectively, plus the dose witness of 0 mg L⁻¹. Daily were evaluated for a period of 10 days and after this period, we calculated the percentage of germination, emergence rate index, vigor index. Measurements of the size of the root, shoot and root dry weight and shoot were held. Both germination tests have proved suitable for the germination of *Avena stringosa* and *Raphanus sativus*. In the presence of Cd and Pb, there was a reduction in the percentage of germination and emergence speed index in *Avena stringosa*. The germination percentage and germination speed rate of *Raphanus sativus* was not altered in the presence of metals. The shoot length was higher in cadmium for both species. The root length decreases in length when exposed to has been reduced in the presence of trace elements cadmium and lead. In the presence of cadmium and *Raphanus sativus* and *Avena stringosa* showed visible phytotoxic effects. The smallest vigor index in both species was lead on the two species.

Key-words: Toxic effect. Seed germination. Trace elements.

5.1 INTRODUÇÃO

O acúmulo de substâncias consideradas poluentes acarreta em maior preocupação no sistema solo-água. Esse acúmulo de poluentes ocorre devido ao crescente aumento de atividades industriais, uso do lodo de esgoto de origem industrial, urbana, domésticas e agrícolas, e adubos fosfatados (PAIVA et al., 2004).

Frente ao constante aumento da poluição, a fitorremediação surge como uma alternativa de limpeza ecológica e sanitária em áreas degradadas. A técnica de fitorremediação é uma técnica que utiliza as plantas associados para reduzir e/ou estabilizar a contaminação encontrada no meio ambiente (DONI et al., 2015). Essa tecnologia além de ter baixo custo, auxilia no aspecto visual do local e ainda é ambientalmente mais aceita se comparado a outras abordagens mais evasivas como a escavação, lixiviação com uso de grandes quantidades de ácidos e osmose reversa. Para que ocorra uma descontaminação efetiva é necessário que a planta tenha boa capacidade de absorção e resistência do poluente, um sistema radicular profundo e alta taxa de crescimento (COUTINHO & BARBOSA, 2007; SURRIYA et al., 2014).

Os elementos-traço encontram-se na solução do solo na forma catiônica, eles são prontamente absorvidos pelas raízes das plantas. A grande preocupação é que as plantas são o ponto de partida na entrada destes elementos na cadeia alimentar (GUIMARÃES et al., 2008; KABATA-PENDIAS, 2011). Os mecanismos de transporte e absorção dos elementos essenciais pelas plantas também favorecem a entrada para os elementos não essenciais, sendo assim, podem tornar-se tóxicos às plantas (PERALTA-VIDEA, et al., 2009).

Os principais sintomas provocados pela toxicidade de Cd são a diminuição no crescimento da plântula, alteração da estrutura do cloroplasto, inibição da fotossíntese, clorose, peroxidação

lipídica induzida, supressão de germinação e do crescimento do tubo polínico, perturbações no metabolismo do enxofre e do nitrogênio dentre outras atividades metabólicas (GUIMARÃES et al., 2008; PURUSHOTHAMAN et al., 2011; GILL et al., 2013).

Os elementos-traço, como o Cd e o Pb, são considerados como um fator de estresse e alteram as funções de diversos organismos bem como podem levar a diversos distúrbios. Estes elementos podem acumular-se principalmente no sistema radicular, nos vacúolos das células radiculares e liga-se ao pirofosfato presentes na parede celular., podem reduzir a taxa de respiração e de crescimento, interferir em processos fotossintéticos e inibição da ação de enzimas fundamentais das plantas. Além disso, podem apresentar clorose, redução do sistema radicular e parte aérea, redução na divisão celular e problemas na absorção de água (SHARMA & DUBEY, 2005; KABATA-PENDIAS, 2011; MALIZIA et al., 2012 MAZZEI et al., 2013; CHEN et al., 2014).

Vários autores indicam os impactos negativos de elementos-traço sobre a germinação de sementes de diversas espécies (WALTER, et al., 2006; DRAB, et al., 2011; LIU, et al., 2012).

Diante do exposto, o presente trabalho tem por objetivo avaliar o efeito de Cd e Pb na germinação e crescimento inicial das espécies *Avena stringosa* e *Raphanus sativus*.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análises de Sementes (LAS) do Centro de Ciencias Agroveterinarias CAV- UDESC, Lages-SC. Para este experimento foi utilizado as sementes puras IAPAR 61 (*Avena stringosa*) e IPR 116 (*Raphanus sativus*) provenientes do Instituto Agronômico do Paraná- IAPAR. Primeiramente foi realizado um teste preliminar para avaliar dois métodos de germinação para sementes de aveia preta (*Avena stringosa*) e nabo forrageiro (*Raphanus sativus*). O primeiro método utilizado foi folhas de papel para germinação do tipo germintest[®] onde os papéis foram previamente molhados com água destilada em uma quantidade calculada 2,5 vezes o peso do papel conforme protocolo da Regras e Análise de Sementes- RAS (BRASIL, 2009). Logo em seguida, as sementes foram acondicionadas em uma germinadora do tipo Mangelsdorf em temperatura constante de 20 °C com iluminação natural, até estabilização da germinação. A outra metodologia utilizada foi com caixas plásticas transparentes do tipo gerbox[®] e papel do tipo mata-borrão seguindo mesmo protocolo quanto a umidade do papel e temperatura, porém foi colocada em câmaras de crescimento do tipo BOD, com fotoperíodo de 12h claro/escuro.

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 cinco dias das sementes de *Avena stringosa* e *Raphanus sativus*. 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. Para os todos os testes foram utilizadas 25 sementes como unidade experimental em quatro repetições, adotou-se o delineamento inteiramente casualizado.

Após a escolha do método de germinação, outro experimento foi conduzido em ausência e em presença de Cd e Pb. As concentrações utilizadas de Cd e Pb foram 10 e 200 mg L⁻¹, a fim de extrapolar os valores de investigação agrícola proposto pela Resolução nº 420 do CONAMA (2009) e as soluções destes elementos foram preparadas a partir dos sais Cd(NO₃)₂ e Pb(NO₃)₂.

Todos os protocolos da metodologia escolhida do teste anterior, e para o umedecimento dos papéis para a germinação nos tratamentos com o Cd e Pb a água destilada aplicada foi substituída pela solução destes elementos.

Em todos os testes de germinação, foram consideradas germinadas as plântulas que obtiveram comprimento radicular superior a 5 mm, o rompimento da plúmula para *A. stringosa* e abertura da primeira folha para *R. sativus*. As contagens da germinação foram registradas a cada 24h até estabilização da germinação. Após estabilização da germinação foram avaliados, porcentagem de germinação (PG), o índice de velocidade de Germinação (IVG), o desenvolvimento das plântulas (comprimento de parte aérea e raiz) e o índice de vigor (IV).

1. A porcentagem de Germinação (PG) foi calculada através do número de plântulas normais (visualização de parte aérea e raiz) identificadas no 10º dia do experimento, dividido pelo número total de sementes.

$$PG = \left(\frac{n}{N} \right) * 100$$

2. Índice de Velocidade de Germinação (IVG) foi calculado pelo somatório do número de sementes germinadas a cada dia, dividido pelo número de dias decorridos entre a semeadura e a germinação, de acordo com a fórmula de MAGUIRE (1962).

$$IVG = \Sigma \left(\frac{n}{t} \right)$$

3. Comprimento da parte aérea e raiz principal – ao final do teste de germinação, portanto ao 10º dia do experimento, mediu-se, em centímetros, o comprimento da parte aérea de cada plântula e da raiz.

$$IV = \text{comp. plântula (cm)} \times \text{porcentagem germinação (\%)}%$$

4. Índice de Vigor (IV) foi calculado pelo comprimento da plântula multiplicado pela porcentagem de germinação conforme metodologia de MORADI et al., (2008).

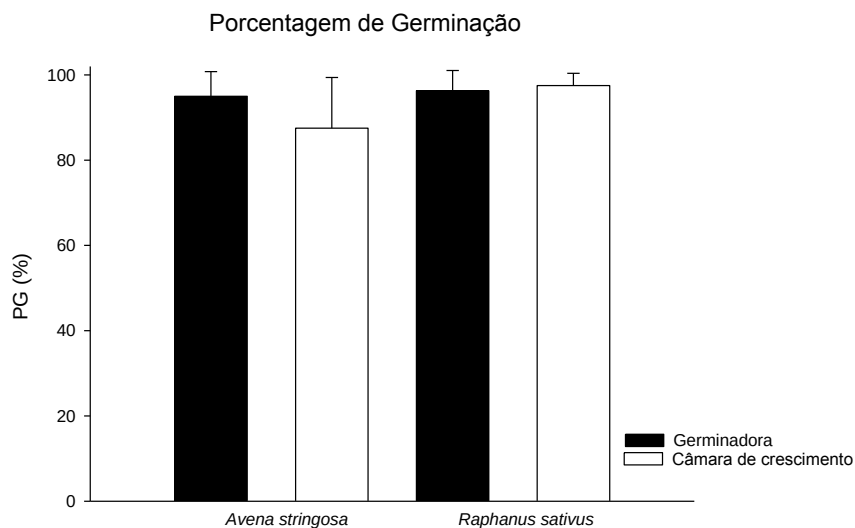
Para a análise estatística, os dados de porcentagem de germinação foram transformados em $\text{arc sen}\sqrt{x}/100$. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$), considerando arranjo fatorial dos tratamentos (espécies e elementos-traço- Cd e Pb). Quando constatada significância estatística, realizou-se o teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para verificar a magnitude da diferença entre tratamentos.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.3.1. Pocentagem de Germinação em Germinadora e em Câmara de Crescimento (BOD)

Para avaliação da metodologia mais adequada para a germinação de *A. stringosa* e *R. sativus* as metodologias escolhidas não apresentaram diferenças significativas. Sendo que os dois testes de germinação se mostraram adequados para a germinação de *A. stringosa* e *R. sativus* com germinação superior a 85% (Figura 1). Para a espécie *A. stringosa* a germinação ficou entre 95 a 87% para germinação em germinadora e em câmara de crescimento BOD respectivamente. Em *R. sativus* a germinação entre os dois métodos foi em torno de 95% nas duas metodologias de germinação. As duas metodologias utilizadas neste estudo se mostraram eficientes na germinação de *A. stringosa* e *R. sativus*.

Figura 1- Porcentagem de germinação para as espécies *Avena stringosa* e *Raphanus sativus*.



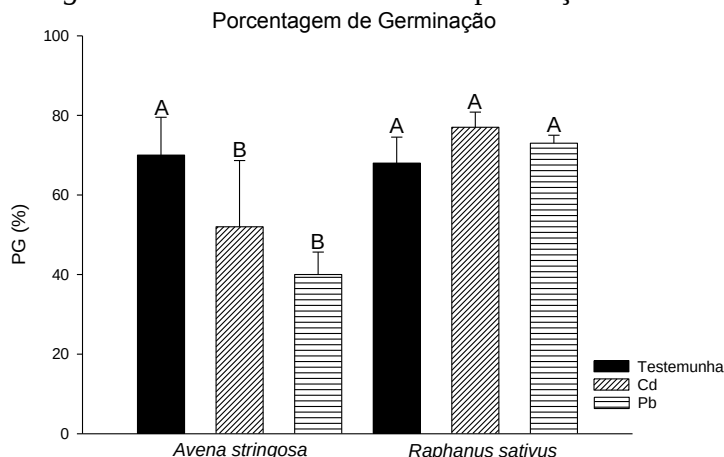
Fonte: Próprio autor, 2015.

5.3.2. Germinação e desenvolvimento inicial de *Avena stringosa* e *Raphanus sativus* em presença de Cádmio e Chumbo

Para os testes de germinação em presença de Cd e Pb foi utilizado o método em Câmara de Crescimento do tipo BOD. Os resultados apresentados na Figura 2 demonstram que em presença dos elementos-traço Cd e Pb, não houve alterações na porcentagem de germinação para *R. sativus*. A germinação dessa espécie ficou em torno de 70% tanto na testemunha quanto para Cd e Pb. Por outro lado, a porcentagem de germinação para *A. stringosa* mostrou uma sensibilidade com a presença de Cd e Pb. Na ausência dos elementos-traço, a germinação foi de 70%, enquanto que na presença do Cd e do

Pb, a porcentagem de germinação reduziu para 52 e 40 % respectivamente.

Figura 2. Porcentagem de Germinação das sementes de *A. stringosa* e *R. sativus* em ausência e presença de Cd e Pb.



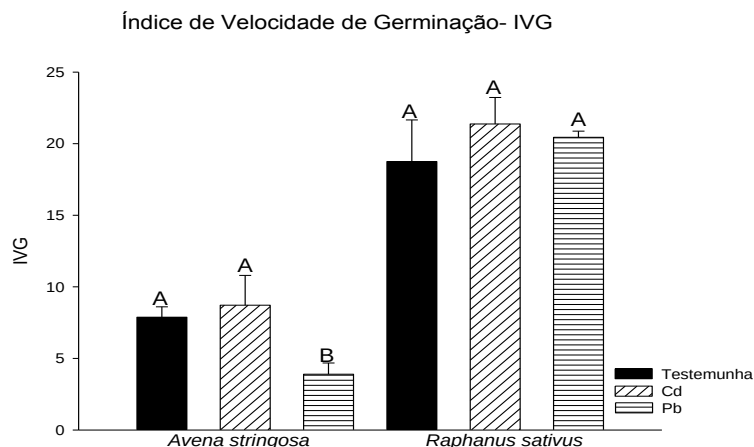
Fonte: Próprio autor, 2015.

Nota: As letras comparam estatisticamente os tratamentos em mesma espécie.

Essa inibição da germinação em *A. stringosa* pode ser gerada pela perturbação do equilíbrio osmótico. Onde a presença de elementos-traço ocasionou um de sais que acaba gerando um aumento da pressão osmótica (CHANDRA et al., 2008; DRAB et al., 2011). A diminuição de germinação é um fenômeno muito encontrado em outras espécies como a canola, cártamos (MOOSAVI et al.; 2012), em grão de bico (PURUSHOTHMAN, 2011) e salsa (LIU et al. 2012), onde estes autores observaram uma redução de até 60% em concentrações de Cd. Reduções da germinação em presença de Pb também foram observados em trigo (YANG et al.; 2010).

A exposição ao chumbo reduziu o IVG em *A. stringosa* (Figura 3). Porém, quando exposta ao Cd o IVG não teve diferença significativa. Além disso, a germinação de *A. stringosa* na testemunha (0 mg L⁻¹) e em presença de Cd (10 mg L⁻¹) começou no terceiro dia e estabilizou a germinação por volta do sétimo dia. No entanto, em presença de Pb (200 mg L⁻¹) houve um retardo no início da germinação para essa espécie, o qual começou no sétimo dia. A diferença de permeabilização do tegumento em diferentes espécies perante a presença do elemento-traço pode ocasionar a inibição ou retardo da germinação das sementes (WIERZBICKA & OBIDZNISKA, 1998).

Figura 3. Índice de Velocidade de Germinação das sementes de *A. stringosa* e *R. sativus* em ausência e presença de Cd e Pb.



Fonte: Próprio autor, 2015.

Nota: As letras comparam estatisticamente os tratamentos em mesma espécie.

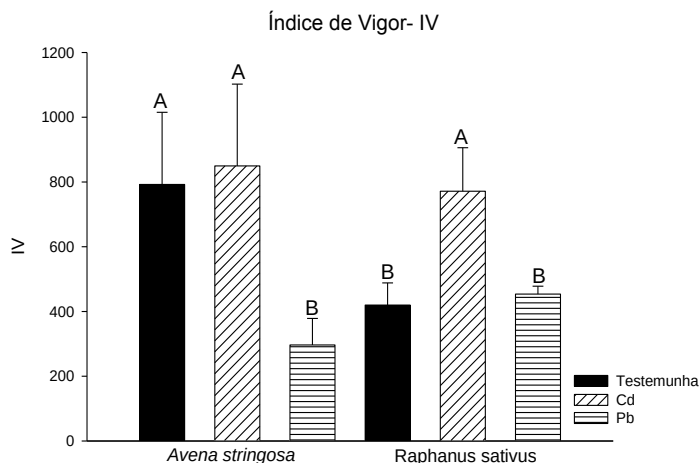
PANDEY e demais pesquisadores (2007) observaram que a presença de Cd e Pb diminuiu a atividade das enzimas amilase e protease, causando a redução da germinação de *Catharanthus roseus* essas enzimas são responsáveis pela quebra e mobilização dos nutrientes armazenados no endosperma da semente.

O IVG de *R. sativus* não mostrou diferença significativa quando foram expostas aos elementos-traço estudados. Foi notado também que não houve retardo na germinação de *R. sativus* em presença dos elementos-traço Cd e Pb. A germinação começou no terceiro dia para a testemunha e no quarto dia ocorreu a germinação para os tratamentos com os elementos-traço Cd e Pb, no quinto dia observou-se a estabilização da germinação dessa espécie em todos os tratamentos. Dados obtidos por KANNAN & UPRETI (2008) demonstraram que não houve diferença significativa em sementes de feijão-mingo (*Vigna radiata*) que foram pré-embebidos com efluentes contendo Cd, Cu e Pb por um período de 6 h, no entanto esses autores ressaltam que após esse período perceberam um decréscimo na germinação e no vigor das sementes.

A. stringosa em presença de Cd, o IV não diferiu da testemunha quanto ao IV ficou em torno de 800. No entanto, em presença de Pb o IV diminuiu para 296, o que representa uma redução de 37% no IV. Por outro lado, em *R. sativus* pode-se observar um aumento de 420 para 770 em presença do Cd comparando com a testemunha. Este aumento ocorreu pelo aumento da parte aérea no tratamento com o Cd, influenciando no comprimento total da plântula desta espécie. Entretanto, em presença do Pb, o IV não teve diferença significativa com a testemunha (Figura 4). Pode se dizer que para *R. sativus*, o decréscimo do IV em Pb se deu principalmente devido ao decréscimo do comprimento radicular o qual foi menor se comparado ao Cd. MOOSAVI e demais pesquisadores (2012) observaram diminuições no IV em presença de Cd e Pb para a

canola, o trigo e o girassol. Esses mesmos pesquisadores constataram que a diminuição da raiz foi a principal motivo pelas quedas do IV.

Figura 4. Índice de Velocidade de Germinação das sementes de *A. stringosa* e *R. sativus* em ausência e presença de Cd e Pb.



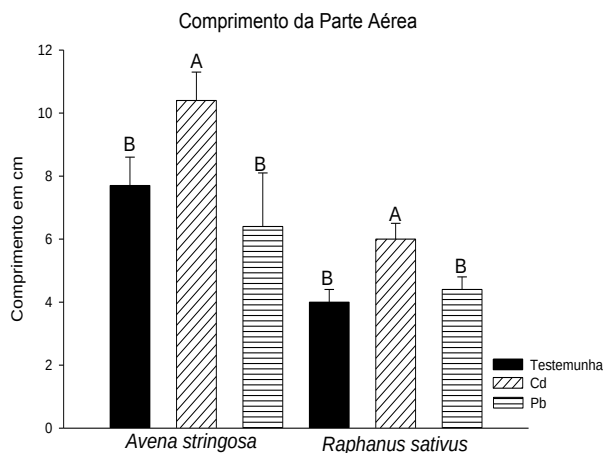
Fonte: Próprio autor, 2015.

Nota: As letras comparam estatisticamente os tratamentos em mesma espécie.

Houve um acréscimo no crescimento da parte aérea em presença do Cd, esse acréscimo foi de 8 para 10 cm em *A. stringosa* e de 4 para 6 cm para *R. sativus* (Figura 5).

O que pode estar ocorrendo em *R. sativus* é a baixa translocação do Cd para a parte aérea. Diversas plantas utilizam como proteção a imobilização e retenção dos elementos-traço nas raízes evitando a propagação do elemento-traço para a parte aérea (DRAZKIEWICZ & BASZYNSKI, 2005).

Figura 5. Comprimento da parte aérea nas plântulas *A. stringosa* e *R. sativus* em ausência e presença de Cd e Pb.

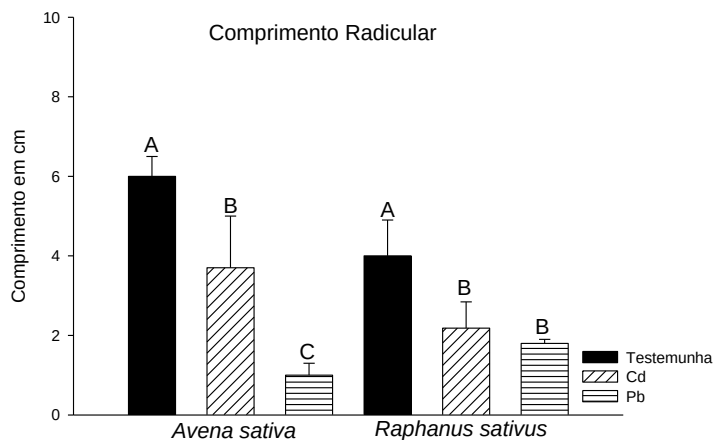


Fonte: Próprio autor, 2015.

Nota: As letras comparam estatisticamente os tratamentos em mesma espécie.

A raiz é a parte da plântula mais sensível à presença de elemento-traço quando comparado a germinação para avaliar a toxicidade provocada pelos elementos-traço (ARAÚJO & MONTEIRO, 2005). Houve um decréscimo no comprimento da radícula nas duas espécies estudadas em presença dos elementos-traço Cd e Pb. O comprimento radicular de *A. stringosa* na testemunha foi de 6,0 cm e na presença de Cd diminuiu para quase a metade (3,5 cm). Contudo, em presença de Pb a *A. stringosa* foi ainda mais sensível, o comprimento radicular foi de 1 cm (Figura 6).

Figura 6. Comprimento radicular nas plântulas *Avena stringosa* e *Raphanus sativus* em ausência e presença de Cd e Pb.



Fonte: Próprio autor, 2015

Nota: As letras comparam estatisticamente os tratamentos em mesma espécie.

Para *R. sativus* também houve diminuição no comprimento radicular em presença de Cd e Pb. Em presença desses elementos, o comprimento radicular diminuiu pela metade, de 4 cm na testemunha para 2 cm na presença de Cd e Pb. Outros autores também observaram esse fenômeno em espécies de *Catharanthus roseus* (PANDEY et al., 2007) e centeio (DRAB et al., 2011). A diminuição do comprimento de plântulas e principalmente de raiz também foi observada em camomila (SADERI & ZARINKAMAR, 2012). Em concentrações tóxicas, os elementos-traço 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)

O Cd provocou ainda efeitos fitotóxicos nas plântulas de *A. stringosa* e *R. sativus*. Foram observados pontos de clorose nas extremidades das folhas da *A. stringosa* (Figura 7).

Figura 7. Efeito fitotóxico de cádmio (10 mg L^{-1}) em *Avena stringosa* e *Raphanus sativus*.



Fonte: Próprio autor.

A ocorrência de clorose em espécies submetidas ao Cd pode ocorrer devido à competição entre o Fe e o Cd por sítios de absorção da membrana plasmática, ou ainda pela influência do Cd em enzimas da biossíntese de clorofilas, o que pode causar redução de números de cloroplastos ou má formação destes (KABATA-PENDIAS, 2011; GUIMARÃES et al., 2008). Clorose provocado por Cd também foi observado por LIU e colaboradores (2013) em *Phytolacca acinosa* Roxb, sob condições hidropônicas.

Para *R. sativus*, a exposição ao Cd causou necrose no epicótilo e em suas primeiras folhas. O surgimento de necrose em plantas exposta aos elementos-traço pode ocorrer com o aumento da concentração destes no apoplasto. Ao atingir seu limiar, os grupos de células especializadas em acumular o elementos-traço são sinalizadas que a concentração é maior que sua capacidade de detoxificação o que resulta na morte desses grupos celulares formando pontos necróticos nas plantas (SIEMIANOWSKI et al., 2013). Outra explicação seria a

interferência do Cd que pode influenciar nas rotas metabólicas de fosforilação oxidativa nas mitocôndrias, na fotossíntese e nos cloroplastos (VERMA & DUBEY, 2003). As espécies reativas de oxigênio (EROs) podem desencadear reações de peroxidação de lipídeos causando aumento na permeabilidade das membranas bem como a perda da compartimentalização celular (CUYPERS, et al., 2010). Pode ainda ocorrer a oxidação protéica causando inibição enzimática e outros danos bem como danos ao nível do DNA e RNA e por consequência diminuição de processos da fotossíntese e necrose das folhas (SCANDALIOS, 2005).

5.4 CONCLUSÕES

A *A. stringosa* foi mais sensível à presença dos elementos-traço Cd e Pb do que *R. sativus*.

Houve reduções da porcentagem e retardo na germinação e reduções do índice de vigor em *A. stringosa* especialmente na presença de Cd.

A presença de Cd e Pb não influenciou na porcentagem de germinação e no índice da velocidade de germinação de *R. sativus*.

O comprimento radicular foi o parâmetro mais sensível em presença dos elementos-traço Cd e Pb.

O Pb foi o elemento-traço que mais reduziu o índice de vigor em *A. stringosa*.

O efeito tóxico de Cd e Pb em *R. sativus* foi observado somente na inibição do crescimento radicular

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, A.S.R., MONTEIRO, R.T.R.. Plant bioassays to assess toxicity of textile sludge compost. **Scientia Agricola**, v. 62, n. 3, p. 286–290, 2005.

BHARAGAVA, R. N.; CHANDRA, R. Effect of bacteria treated and untreated post-methanated distillery effluent (PMDE) on seed germination, seedling growth and amylase activity in *Phaseolus mungo* L. **Journal of Hazardous Materials**, v. 180, p. 730–734, 2010.

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

CHANDRA, R.; YADAV, S.; MOHAN, D. Effect of distillery sludge on seed germination and growth parameters of green gram (*Phaseolus mungo* L.) **Journal of Hazardous Materials**, v. 152, p. 431–439, 2008.

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.

CONAMA - CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução 420, de 28 de dezembro de 2009. Disponível em:
<<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=620>> Acesso em: 26. fevereiro. 2014.

COUTINHO, H. D.; BARBOSA, A. R. Fitorremediação: Considerações Gerais e Características de Utilização. **Silva Lusitana**, v. 15, n. 1, p. 103 - 117, 2007.

CUYPERS, A. et al. Cadmium stress: an oxidative challenge. **Biometals**, v.23, n. 5, p. 927-40, 2010.

DONI, S. et al. Heavy metal distribution in a sediment phytoremediation system at pilot scale. **Ecological Engineering**, v. 81, p. 146-157, 2015.

DRAZKIEWICZ, M.; BASZNSKI, T., Interference of nickel with the photosynthetic apparatus of *Zea mays*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, n. 5, p. 982-986, 2010.

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.

JOHNSON, L. F.; TROUT, T. J. SATELLITE NDVI assisted monitoring of vegetable crop evapotranspiration in California's San Joaquin valley. **Remote Sensing**, v.4, p.439-455, 2012.

GILL, S.S. et al. Importance of nitric oxide in cádmium stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 63, p. 254-261, 2013.

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

KABATA-PENDIAS, A.; **Trace elements in soils and plants**. 4rd ed. Boca Raton: CRC Press, 2011. 534p.

KANNAN, A.; UPRETI, R. K. Influence of distillery effluent on germination and growth of mung bean (*Vigna radiata*) seeds. **Journal of Hazardous Materials**, v. 153, n. 1-2, p. 609-615, 2008.

LEFEVRE, I. et al. Variation in response to heavy metals during vegetative growth in *Dorycnium pentaphyllum* Scop. **Plant Growth Regulation**, v. 59, n. 1, p. 1-11, 2009.

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, H. et al. Manganese-mitigation of cadmium toxicity to seedling growth of ***Phytolacca acinosa*** Roxb. is controlled by the manganese/cadmium molar ratio under hydroponic conditions. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 73, p. 144-153, 2013.

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

MAGUIRE, J.D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2 n. 2, p.176-177, 1962.

MALIZIA, D. et al. Common plants as alternative analytical tools to monitor heavy metals in soil. **Chemistry Central Jornal**, v. 6, n. 2-6, 2012.

MAZZEI, V. et al. Effects of heavy metals accumulation on some reproductive characters in *armadillidium granulatum* Brandt (Crustaceam Isopoda, Oniscidea). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v 98, n. 1, p. 66-73, 2013.

MOOSAVI, S. A. et al. Effects of Some Heavy Metals on Seed Germination Characteristics of Canola (*Barassica napus*), Wheat (*Triticum aestivum*) and Safflower (*Carthamus tinctorious*) to Evaluate Phytoremedi[ation Potential of These Crops. **Journal of Agricultural Science**, v. 4, n. 9, p. 11-19, 2012.

MORADI, D.; SHARIFZADEH, P. F.; JANMOHAMMADI, M. Influence of priming techniques on seed germination behavior of maize inbred lines (*Zea mays* L.) ARPN **Journal of Agricultural and Biological Science**, v. 3, p. 22-25, 2008.

NASCIMENTO, C. W. A.; XING, B. Phytoextration: a review on enhanced metal availability and plant accumulation. **Scientia Agricola**, v. 63, p. 299-311, 2006.

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

PANDEY, S.; GUPTA, K.; MULHERJEE, A. K. Impacto f cádmium and lead on *Catharanthus roseos* – A phytoremediation study. **Journal of Environmental Biology**, v. 28, n. 3, p. 655-662, 2007.

PERALTA-VIDEA, J. R. et al. The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants: implications for the food chain. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 41, p. 1665-1677, 2009.

PURUSHOTHANMAN, A. et al. Investigation of cadmium and lead induced phytotoxicity on seed germination, seedling growth and antioxidant metabolism of chick pea (*Cicer*

arientinum L.). **International Journal of Current Research**, v. 33, p. 18-23, 2011.

SCANDALIOS, J. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v. 38, p. 995–1014, 2005.

SADERI, S.Z. & ZARINKAMAR, F. The effect of diferrent Pb and Cd concentrations on seed germination and seedling growth of *Matricaria chamomilla*. **Advances in Environmetal Biology**, v. 7, n. 6, p. 1940-1943, 2012.

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

SIEMIANOWSKI, O. et al. Development of Zn-related necrosis in tobacco is enhanced by expressing AtHMA4 and depends on the apoplastic Zn levels. **Plant, Cell and Environment**, v. 36, p. 1093–1104, 2013.

SILVA, F. A. S. E.; AZEVEDO, C. A. V. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 4, n.1, p 71-78, 2002.

SURRIYA, O. et al. Phytoremediation of Soils: Prospects and Challenges. **Soil Remediation and Plants**, p.1-36, 2015.

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

VERMA, S.; DUBEY, R.S. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. **Plant Science**, v. 164, p. 645-655, 2003.

WALTER, I.; MARTÍNEZ, F.; CALA, V. Heavy metal speciation and phytotoxic effects of three representative sewage sludges for agricultural uses. **Environmental Pollution**, v. 139, n. 3, p. 507-514, 2006.

WIERZBICKA, M.; OBIDZINSKA, J. The effect of lead on seed imbibition and germination in different plant species. **Plant Science**, v. 137, p. 155–171. 1998.

YANG, Y. et al. Lead-induced phytotoxicity mechanism involved in seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 73, p. 1982–1987, 2010.

ZHAO, Q. et al. Potential health risks of heavy metals in cultivated topsoil and grain, including correlations with human primary liver, lung and gastric cancer, in Anhui province, Eastern China. **Science of the Total Environment**, v. 470-. 471, p.340–347, 2014.

6 CAPÍTULO 3 – GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO INICIAL DA *Brachiaria brizantha* E *Brachiaria decumbens* EM PRESENÇA DE CÁDMIO, CHUMBO E COBRE

RESUMO

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a germinação e o desenvolvimento inicial de três cultivares da espécie *Brachiaria brizantha* (cv. Piatã, Marandu e MG5) e da espécie *Brachiaria decumbens* em presença dos elementos-traço Cd, Pb e Cu e quantificar os teores de Cd e Cu no tecido vegetal dessas espécies. Após a escolha da metodologia, as sementes foram colocadas em papel de germinação do tipo germitest®, previamente molhadas com soluções contendo cádmio, chumbo e cobre (3, 180 e 200 mg L⁻¹ respectivamente) além da testemunha (0 mg L⁻¹). Foram calculadas a porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação (IVG), índice de vigor (IV) e comprimento da plântula. Em um segundo momento, as sementes foram germinadas em vasos de 0,5 kg de solo contaminado com Cd e Cu nas mesmas concentrações utilizadas no experimento de germinação e uma testemunha. Em casa de vegetação foram avaliados o índice SPAD, matéria seca da parte aérea e da raiz e ainda quantificado o teor de metais Cd e Cu no tecido vegetal, separados em parte aérea e raiz. A espécie *B. decumbens* apresentou sensibilidade em exposição aos elementos-traço Cd, Pb e Cu ocasionando inibição da germinação, decréscimo no índice de velocidade de germinação e de índice de vigor. O comprimento da parte

aérea não foi afetado na presença destes elementos-traço. No teste de germinação, o Cu foi o elemento que mais causou efeitos tóxicos à germinação e desenvolvimento inicial das plântulas de *B. brizantha* (cv. Piatã, marandu e MG5) e *B. decumbens*. Não houve diferença na produção de massa seca de parte aérea entre plantas cultivadas na ausência e na presença de Cd e Cu no solo. A presença de Cd e Cu no solo resultou em redução do índice SPAD para todas as espécies estudadas. Os maiores teores foram encontrados nas raízes. *B. decumbens* apresentou maiores teores de Cu em sua raiz.

Palavras-chave: Inibição. Fitotoxicidade. Metais pesados.

ABSTRACT

This study aims to evaluate the germination and early development of three cultivars of the species *Brachiaria brizantha* (cv. Piatã, Marandu and MG5) and *Brachiaria decumbens* species presence trace elements Cd, Pb and Cu and quantify the Cd content and Cu in the plant tissue of these species. A burgeoning pre-test was conducted to evaluate the most appropriate methodology for the germination of seeds of these species and cultivars. After the selection of methodology, the seeds were placed in paper germination germitest® type, preveamente wet with solutions containing cadmium, lead and copper (3, 180 and 200 mg L⁻¹ respectively) plus the control (0 mg L⁻¹). Was calculated the percentage of germination, germination speed index (IVG), vigor index (IV) and length of seedling. In a second step, the seeds were germinated in pots of 0,5 kg of soil contaminated with Cd and Cu in the same concentrations used in the germination experiment (3 and 200 mg L⁻¹) and control (0 mg L⁻¹). Under greenhouse conditions were evaluated the SPAD index, dry matter of shoot and root and even quantified the content of cadmium and copper metals in plant tissue, separated into shoot and roots. In *B. decumbens* showed sensitivity in exposure to trace elements Cd, Pb and Cu causing inhibition of germination, decrease in the speed of germination index and vigor index. Reducing the vigor index was mainly due to inhibition of root length for sensitivity to trace elements Cd, Pb and Cu in all species studied. The shoot length was not affected in the presence of these elements-traço. In germination test, the presence of Cu was the element that showed toxic effects on the germination and early seedling development of *B. brizantha* (cv. Piatã, Marandu and MG5) and *B. decumbens*. No differences in dry matter yield of shoots

of plants grown in the absence and presence of Cd and Cu in soil. The presence of Cd and Cu in soil resulted in reduced SPAD index for all species. There was low translocation of Cd and Cu in the shoot, the highest levels were found in the roots. *B. decumbens* showed higher Cu concentration at its root.

Key-Words: Inhibition. Phytotoxicity. Heavy metals.

6.1 INTRODUÇÃO

A atividade humana tem elevado cada vez mais os níveis de elementos-traço no ambiente. A planta é a principal entrada desses elementos na cadeia alimentar. A maioria dos elementos-traço são conhecidos como inibidores de crescimento e exercem efeitos negativos sobre as plantas, podendo levar a respostas mais amplas de fitotoxicidade e diminuir o rendimento e a qualidade das culturas agrícolas (GRATÃO *et al.*, 2005; YANG, *et al.*, 2010).

Alguns elementos-traço, como o Cd e o Pb são considerados tóxicos até mesmo em concentrações diminutas, provocando efeitos deletérios às plantas. Esses efeitos deletérios podem ser observados no crescimento da plântula, alterações da estrutura dos cloroplastos, inibição da fotossíntese, clorose, peroxidação lipídica induzida, supressão de germinação, redução do sistema radicular, perturbações nas atividades metabólicas da planta e redução de biomassa vegetal (GUIMARÃES, *et al.*, 2008; PURUSHOTHAMAN, *et al.*, 2011; MALIZIA, *et al.*, 2012; GILL, *et al.*, 2013).

Além disso, as plantas podem apresentar efeitos indiretos provocados por estes elementos-traço tais como inibição na absorção de água e deficiência de nutrientes. Distúrbios de nutrição mineral surgem de efeitos deletérios provocados pelos elementos-traço sobre o metabolismo de elementos essenciais, incluindo o cálcio, magnésio, potássio, ferro, zinco, manganês e cobre (KABATA-PENDIAS, 2011; CARVALHO-BERTOLLI, *et al.*, 2012).

O Cu por outro lado, desempenha um papel significativo em processos fisiológicos tais como a fotossíntese e a respiração, dentre outros (YRUELA, 2009; KARIMI, *et al.*, 2012). No entanto, em condições ambientais onde o cobre é encontrado em excesso no solo, as plantas podem apresentar sintomas de toxidez o qual culmina em distúrbios fisiológicos

inibindo o crescimento das plantas (KARIMI, et al., 2012; KABATA-PENDIAS, 2011). A toxidez provocada pelo Cu causa danos e perturbação na integridade das membranas dos tilacóides, ocasionando o comprometimento na fotossíntese, os quais resultam em clorose ou necrose, inibições no crescimento radicular e na parte aérea (YRUELA, 2009; FIDALGO, et al, 2013).

Em áreas contaminadas por elementos-traço, as gramíneas mostram-se mais promissoras no seu estabelecimento, por apresentarem relativa facilidade de desenvolvimento, promover crescimento rápido na cobertura do solo, melhorarem as estruturas físicas e químicas do solo, auxiliarem na ciclagem dos nutrientes e aumentarem o teor de matéria orgânica do solo (MARQUES, et al., 2011; AMARAL, et al., 2012).

Dentre as gramíneas o gênero *Brachiaria spp.* se destaca devido a alta matéria seca, fácil cultivo e adaptação a diferentes solos, possibilita o cultivo no ano todo, e o baixo custo de manutenção da área cultivada (LUCENA, 2010). No entanto poucos estudos são realizados com esse gênero perante a contaminação por elementos-traço (GOMES, et al. 2011).

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a germinação e o desenvolvimento inicial de três cultivares da espécie *Brachiaria brizantha* (cv. Piatã, Marandu e MG5) e da espécie *Brachiaria decumbens* em presença dos elementos-traço Cd, Pb e Cu e quantificar o teor de Cd e Cu em seu tecido vegetal.

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em duas etapas distintas. Na primeira etapa, o experimento foi conduzido no Laboratório de Análises de Sementes- LAS. Na segunda parte do experimento foi realizado em Casa de Vegetação e a condução das análises ocorreu no Laboratório de Levantamento Ambiental.

As sementes de *Brachiaria brizantha* (cv. Piatã, Marandu e MG5) e *Brachiaria decumbens* utilizadas são provenientes de uma agropecuária comercial do município de Lauro Müller-SC. A pureza das sementes foi determinada seguindo o protocolo sugerido em Regras e Análise de Sementes – RAS (BRASIL, 2009), (Tabela 1). Antes de todos os testes, as sementes foram submetidas a tratamento sanitário, em solução de hipoclorito de sódio a 3% por cinco minutos e após lavadas em água destilada.

1ª etapa- Teste de germinação na presença de Cd, Cu e Pb

Um teste preliminar de superação de dormência foi realizado a fim de avaliar a metodologia mais adequada para a germinação de *Brachiaria brizantha* (cv. Marandu, Piatã e MG5) e *Brachiaria decumbens*. Na realização do superação de dormência foram utilizadas quatro metodologias: (1) Germinadora: germinação em rolos de papel para germinação do tipo germitest[®] em germinadora Mangelsdorf a temperatura de 25 °C em fotoperíodo natural; (2) Câmara BOD 8/16: germinação com caixas de plástico do tipo gerbox[®] com papel mata-borrão em câmara de crescimento tipo BOD com fotoperíodo de 8/16 h claro/escuro e termoperíodo de 20/25 °C; (3) Câmara BOD 12/12: germinação com caixas de plástico do tipo gerbox[®] com papel mata-borrão em câmara de crescimento tipo BOD com fotoperíodo de 12h em temperatura constante de

25 °C. (4) Imersão em água 24h: imersão das sementes em água destilada em temperatura ambiente por um período de 24h e retiradas da água em ventilação natural por 1 h , após, a germinação ocorreu em caixas de plástico do tipo gerbox[®] com papel mata-borrão em câmara de crescimento tipo BOD com fotoperíodo de 8/16 h e termoperíodo de 20/25 °C; Todos os testes foram realizados com quatro repetições e 25 sementes representaram a unidade experimental. A quantidade de água destilada utilizada para umedecimento dos papéis de germinação foi de 2,5 vezes o peso seco do papel em todos os testes.

Na realização do experimento de germinação em presença de elementos-traço, seguiu-se a metodologia que obteve maior porcentagem de germinação no teste preliminar. Além da testemunha (0 mg L⁻¹), as concentrações dos elementos-traço foram 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). Todas as soluções foram confeccionadas a partir dos compostos Nitrato de Cádmio Cd(NO₃)₂, Nitrato de Chumbo Pb(NO₃)₂ e Nitrato de Cobre Cu(NO₃)₂. Para a unidade experimental foi considerada 50 sementes, com quatro repetições para cada tratamento. Foram consideradas germinadas as plântulas que obtiveram comprimento radicular superior a 5 mm e o rompimento da plúmula. As contagens da germinação foi registrada a cada 24h até estabilização da germinação.

As sementes foram avaliadas pelos seguintes parâmetros: porcentagem de germinação (PG); índice de velocidade de germinação (IVG); desenvolvimento das plântulas (comprimento de parte aérea e radícula); pelo índice de vigor (IV).

1. Porcentagem de Germinação (PG) – calculada através do número de plântulas normais (visualização de parte aérea e raiz) identificadas no 20º dia do experimento, dividido pelo número total de sementes.

$$PG = \left(\frac{n}{N} \right) * 100$$

onde, n é o número de plântulas normais e; N é o número total de plântulas.

2. Índice de Velocidade de Germinação (IVG) – calculado pelo somatório do número de sementes germinadas a cada dia, dividido pelo número de dias decorridos entre a semeadura e a germinação, de acordo com a fórmula de MAGUIRE (1962).

$$IVG = \Sigma \left(\frac{n}{t} \right)$$

onde, n é o número de sementes germinadas a cada dia de contagem e; t é o número de dias da semeadura. Unidade adimensional.

3. Comprimento da parte aérea e raiz principal – ao final do teste de germinação, portanto ao 20º dia do experimento, mediu-se, em centímetros, o comprimento da parte aérea de cada plântula e da raiz.
4. Índice de Vigor - calculado seguindo a fórmula sugerida por MORADI et al., (2008), o qual mede o comprimento da raiz vezes a porcentagem de germinação.

$$IV = \text{comp.plântula (cm)} \times \text{porcentagem germinação (\%)}$$

Os dados de porcentagem de germinação foram transformados para $\arcsen\sqrt{x}/100$ e os dados do teor dos elementos-traço foram analisados após transformação logarítmica, $Y = \log(X + 1)$. 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.

2ª etapa - Desenvolvimento em casa de vegetação

A segunda etapa do experimento, foi conduzido em Casa de Vegetação, no período de agosto a outubro de 2014. As unidades experimentais foram constituídas de cinco plantas para cada tratamento. Foram utilizadas 4 variedades de Braquiárias diferentes, sendo três cultivares de *Brachiaria brizantha* (cv. Piatã, Marandu, MG5) e *Brachiaria decumbens* desenvolvidas em vasos plásticos contendo 0,5 kg de solo da camada superficial (perfil de 0 a 10 cm) de um Cambissolo Háplico, coletado em ambiente natural no município de Lages, SC. As características químicas desse solo são apresentadas na Quadro 1.

Quadro 1 – Características químicas e argila do Cambissolo Háplico.

pH H ₂ O	CTC _{pH7,0}	Al ⁺³	Ca	Mg	K	P	Argila	CO ¹
	cmolc dm ⁻³				mg dm ⁻³		%	
5,0	35,2	56,1	3,3	1,0	52	0,6	34	1,4

Fonte: Produção do próprio autor, 2015.

Nota: ¹Carbono Orgânico.

Para a contaminação do solo, utilizou-se duas soluções confeccionadas a partir dos compostos Nitrato de Cádmio Cd(NO₃)₂ e o Nitrato de Cobre Cu(NO₃)₂. A concentração de Cd e Cu foi 3 e 200 mg L⁻¹ respectivamente, conforme valores de investigação agrícola propostos pela Resolução nº 420 do CONAMA (2009). A contaminação do solo ocorreu após a secagem e tamisagem do solo em peneira de 2 mm, onde cada elemento-traço representou um tratamento. O solo, depois de

contaminado, foi mantido incubado por 30 dias com umidade acima da capacidade de campo, para a estabilização das condições químicas.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo que cada vaso recebeu 10 sementes. Para o pleno desenvolvimento das plantas, a umidade do solo foi mantida na capacidade de campo e a luminosidade em condições naturais de intensidade e fotoperíodo. A temperatura ficou entre 15 e 25°C e a umidade do ar controlada entre 70 e 95%.

No 10º dia após a emergência das plantas foi feito o desbaste até ficar 5 plantas em cada vaso, perfazendo a unidade experimental. No 30º dia, foram tomados os valores de intensidade do verde das folhas (índice Soil Plant Analysis Development – SPAD), obtido através do medidor portátil de clorofila SPAD 502 (Konica Minolta®, Tóquio, Japão), que utiliza princípios ópticos não destrutivos, baseados na absorbância e/ou refletância da luz pelas folhas. Foram amostradas folhas totalmente expandidas, no período entre 8-10 h da manhã. O valor de intensidade de verde considerado foi a média de leituras efetuadas em cinco folhas, ausentes de danos físicos ou sintomas do ataque de pragas e doenças, amostradas aleatoriamente nas cinco plantas de cada unidade experimental,

Posteriormente ao desenvolvimento das plantas, procedeu-se a coleta das plantas separando-as em parte aérea e raiz. As amostras vegetativas foram lavadas com água destilada e secas em estufa com circulação forçada de ar, em temperatura de aproximadamente 65 °C até atingir peso constante. Após a secagem, o material foi pesado para avaliação da produção de matéria seca da parte aérea (MSPA) e matéria seca da raiz (MSR) e processadas em moído de tecido vegetal. A quantificação dos elementos Cd e Cu na planta foram realizada na parte aérea e raiz separadamente a fim de avaliar o local de

maior acumulação. As amostras foram submetidas à digestão ácida, utilizando 0,25 g de tecido vegetal e 6 mL de HNO_3 14,5 mol L^{-1} em tubos de teflon conforme método USEPA 3051 em forno de Micronondas Multiwave 3000 (USEPA, 1994), em cada bateria foi inserido a amostra referência NIST 1573A Tomato Leaves onde obteve-se 0,77 mg kg^{-1} de Cd, sendo o esperado $1,52 \pm 0,04$ mg kg^{-1} e 4,01 mg kg^{-1} de Cu, sendo esperado $4,70 \text{ mg } \text{kg}^{-1} \pm 0,14 \text{ mg } \text{kg}^{-1}$. Os teores dos elementos-traço Cd e Cu foram quantificados em espectrômetro de absorção atômica de alta resolução e atomização eletrotérmica (CONTRAA 700 - Analytik Jena), condições de leitura foram as indicadas pelo fabricante. Para os teores disponíveis no solo foi utilizado a metodologia de TEDESCO (1995). Os teores foram quantificados em espectrofotometria de absorção atômica (AA Perkin Elemer – A Analyst 100).

Os dados foram submetidos aos testes de normalidade de Shapiro-Wilk e de homogeneidade de variâncias de Levene, para testarem-se as pressuposições teóricas da análise da variância, aplicando-se as transformações de escalas necessárias quando foi o caso. A seguir os dados foram submetidos à análise de variância conforme o delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial. Foi utilizado teste de comparação de médias de Tukey para discriminar o efeito dos níveis dos fatores, quando foi o caso.

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise da qualidade física das sementes de *Brachiaria brizantha* (cv. Piatã, Marandu, MG5) e *Brachiaria decumbens*, é apresentada na Tabela 1. A porcentagem de pureza das sementes estudadas variou de 55 a 73%. Este teste permite uma melhora na qualidade dos lotes, visto que separa as sementes puras do material inerte.

TABELA 1- Caracterização da qualidade física das sementes de *B. brizantha* (cv. Piatã, Marandu, MG5) e *B. decumbens*.

ESPÉCIE	Porcentagem da Pureza %
<i>B. brizantha</i> (cv. Piatã)	71,5
<i>B. brizantha</i> (cv. Marandu)	55,6
<i>B. brizantha</i> (cv. MG5)	73,5
<i>B. decumbens</i>	66,6

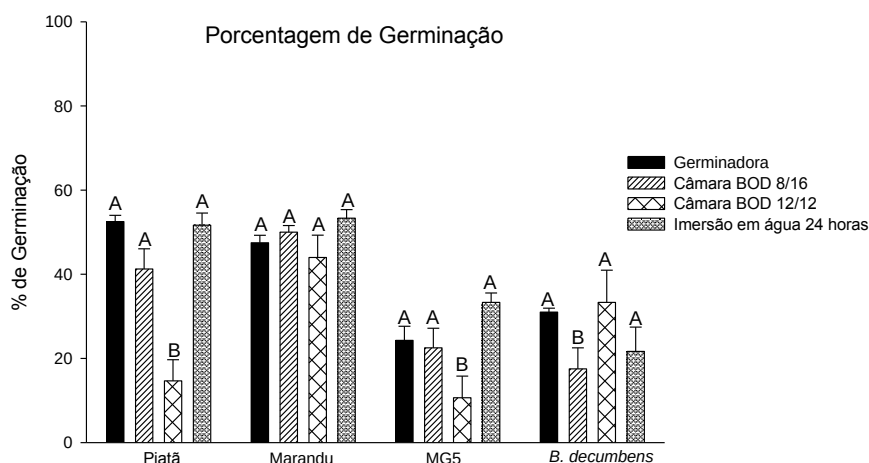
Fonte: Próprio autor, 2015.

Somente para a *B. brizantha* cv. Marandu todos os testes mostraram-se adequados. Por outro lado, em *B. brizantha* cv Piatã e MG5 a metodologia com câmara de crescimento BOD com fotoperíodo de 12 horas foi a metodologia menos indicada para a germinação dessas espécies (Figura 1). A porcentagem de germinação para a cv. Piatã em BOD com fotoperíodo de 12 horas diminuiu de 52 para 14% quando comparado com as demais. Para a cv. MG5 a redução foi de 24 para 10%.

Para a *B. decumbens* a metodologia menos indicada foi câmara de BOD com fotoperíodo de 8/16 h sendo que a porcentagem de germinação ficou em torno de 20%. Os testes de germinação realizados na Germinadora e Imersão em água por 24 h foram os testes mais apropriados para a germinação

das sementes de todas as cultivares de *B. brizantha* e *B. decumbens* (Figura 1). Tendo em vista a facilidade de execução do experimento, optou-se pela escolha da germinação em Germinadora, para todas as espécies estudadas.

Figura 1- Porcentagem de germinação das espécies *B. brizantha* (cv. Piatã, Marandu e MG5) e *B. decumbens* em diferentes metodologias de superação de dormência.



Fonte: Próprio autor, 2015.

Nota: As letras maiúsculas comparam estatisticamente as espécies dentro de diferentes tratamentos.

6.3.1 Teste de germinação na presença de Cd, Cu e Pb

A espécie *B. decumbens* apresentou reduções na PG em exposição a todos os elementos-traço estudados.

As cv. Piatã, Marandu e MG5 de *B. brizantha* não apresentaram diferença na porcentagem de germinação (PG) em exposição ao Cd. Em exposição ao Pb as cultivares Piatã e Marandu também não apresentaram diferenças de PG, porém a

cv. MG5 teve uma redução da PG de 34%, e *B. decumbens* de 12%, quando comparados com a testemunha (Figura 2 A).

A exposição ao Cu reduziu a PG em todas as espécies estudadas. Para Piatã a redução da PG de 36%, em Marandu essa redução foi de 33%, para MG5 a redução foi de 57%. Porém foi para a *B. decumbens* que o Cu, a germinação apresentou maior inibição da germinação, pois a PG em exposição ao Cu foi de apenas 1%, ou seja, uma redução de 99% comparados com a testemunha.

A presença de elementos-traço em solução, pode provocar um bloqueio de absorção de água para as sementes.

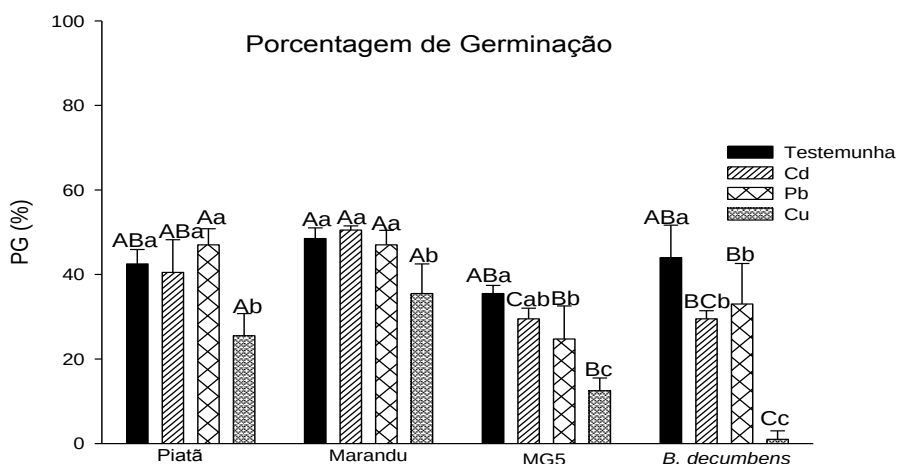
A presença de elementos traço pode bloquear o transporte de água para a semente, devido o aumento do potencial osmótico da solução. Neste caso, o efeito tóxico que o elemento-traço provoca é um efeito secundário, provocado pela baixa absorção de água e não os efeitos tóxicos do elemento podem causar ao embrião (BARCELO & POSCHENRIEDER, 1990; AHSAN et al., 2007; KRANNER & COLVILLE, 2011). No entanto, KALAI et. al. (2014), afirmam que a inibição da germinação pode ocorrer devido a uma falha na mobilização do endosperma provocada pelo declínio da α -amilase, atividade fosfatase ácida e fosfatase alcalina bem como uma pequena modificação da atividade β -amilase causando uma falha na mobilização do Cd e Cu no endosperma.

Uma alternativa para aliviar o estresse provocado pela exposição de elementos-traço nas sementes foi proposta por QI et al. (2015) os quais demonstraram que doses baixas de radiação gama podem aliviar o estresse provocado por Cd e Pb. Estes pesquisadores observaram um aumento de 15% na germinação e aumento do comprimento radicular de *Arabidopsis thaliana* após a aplicação do raio gama. Os raios gama estimulam os genes responsáveis pela desintoxicação de

elementos-traço, causando o aumento da atividade de enzimas antioxidantes e níveis de prolina nas plântulas.

Outra alternativa para amenizar os efeitos negativos da exposição aos elementos-traço é o pré-tratamento das sementes com ácido salicílico, o qual desempenha um papel positivo na germinação de sementes e crescimento inicial da plântula, protegendo-o contra a toxicidade do Cd, moderando o seu efeito tóxico sobre a mobilização das reservas orgânicas nas fases iniciais do desenvolvimento da plântula (KALAI et al., 2015).

Figura 2- Porcentagem de germinação PG (A) e Índice de Velocidade de Germinação-IVG (B) das espécies *Brachiaria brizantha* (cv. Piatã, Marandu e MG5) e *Brachiaria decumbens* em presença de Cd, Pb e Cu.

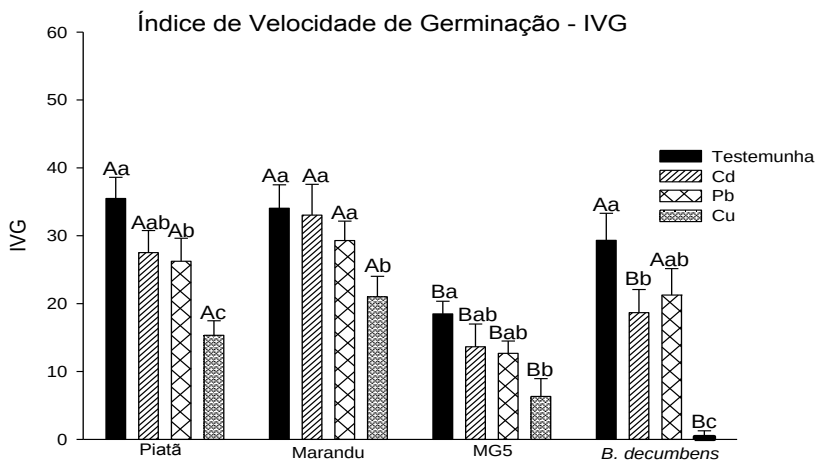


Fonte: Próprio autor, 2015.

Nota: As letras maiúsculas comparam estatisticamente as espécies dentro de mesmo tratamento e letras minúsculas comparam os tratamentos em mesma espécie.

Em exposição ao Cd, as cv. Piatã, Marandu e MG5 de *B. brizantha* não apresentaram reduções do Índice de Velocidade de Germinação (IVG). Em contrapartida, em exposição ao Pb, para a cv. Piatã, ocasionou redução do IVG, de 35 (testemunha) para 26 (Pb). Essa redução pode ser explicada devido ao retardo do início da germinação em exposição a este elemento, que ocorreu dois dias após o início da germinação na testemunha (Figura 3).

Figura 3- Índice de Velocidade de Germinação-IVG das espécies *Brachiaria brizantha* (cv. Piatã, Marandu e MG5) e *Brachiaria decumbens* em presença de Cd, Pb e Cu.



Fonte: Próprio autor, 2015.

Nota: As letras maiúsculas comparam estatisticamente as espécies dentro de mesmo tratamento e letras minúsculas comparam os tratamentos em mesma espécie.

Assim como ocorreu na PG, a *B. decumbens* apresentou reduções do IVG em exposição a Cd e Cu. Em exposição ao Cu, todas as espécies estudadas tiveram um retardo de germinação de cinco dias comparados com o do início da germinação sem a presença de elementos-traço. O retardo da germinação pode ocorrer pelo papel de proteção o qual o tegumento pode exercer nas sementes, sendo capaz de bloquear e reter os elementos-traço em sua superfície. Porém, quando o elemento-traço é absorvido, ele é depositado no endosperma, órgão responsável por fornecer nutrientes para processo de germinação, assim podendo ser translocado para o embrião (SUN & LUO, 2014). Já o atraso do IVG quando da exposição ao Cu, pode ser resultado de uma redução na disponibilidade do nitrogênio no eixo embrionário. Isso ocorre devido a inibição da síntese protéica resultando na diminuição da disponibilidades de aminoácidos presentes no tegumento (KARMOUS et. al., 2012).

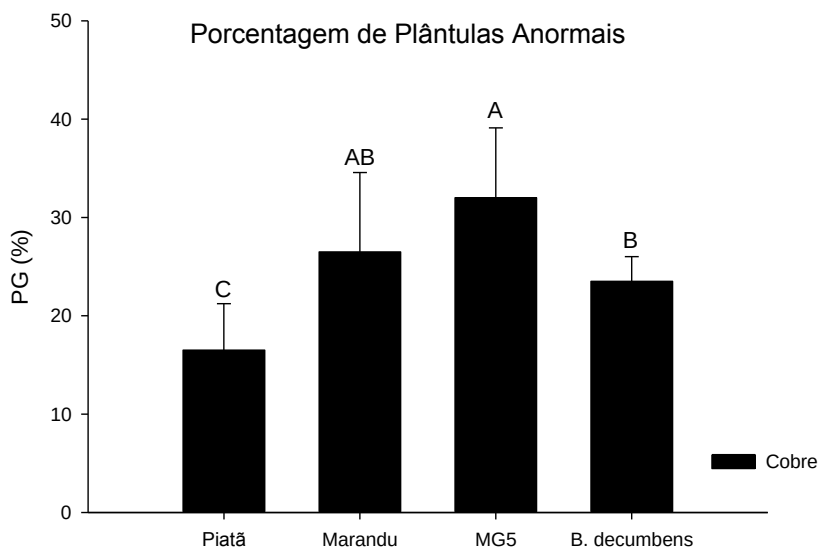
Em presença de Cu, houve uma grande incidência de plântulas com ausência de radícula para todas as espécies estudadas de *Brachiaria brizantha* (cv. Piatã, Marandu e MG5) e *Brachiaria decumbens*. Com isso, foi calculado a porcentagem de plântulas que apresentara essa anormalidade (Figura 4).

As cultivares Marandu e MG5 de *B. brizantha* apresentaram as maiores porcentagens de plântulas anormais (32%), enquanto que, cv. Piatã foi a cultivar que apresentou a menor porcentagem de plântulas anormais (16,5%).

A capacidade do acúmulo de Cu nos tecidos da raiz é maior que a translocação para a parte aérea sob condições tanto de excesso quanto de deficiência de Cu (KABATA-PENDIAS, 2011). A absorção de elementos-traço em braquiárias promove o estresse oxidativo, comprometendo as paredes da epiderme que ficam mais finas em relação a exoderme, resultando na degradação celular das raízes. Além disso, a

presença dos elementos-traço acelera a maturação da parede celular em meso e endoderme (GOMES, et al., 2011).

Figura 4 - Porcentagem de germinação em plântulas anormais em presença de Cu para as espécies *B. brizantha* (cv. Piatã, Marandu e MG5) e *B. decumbens*.



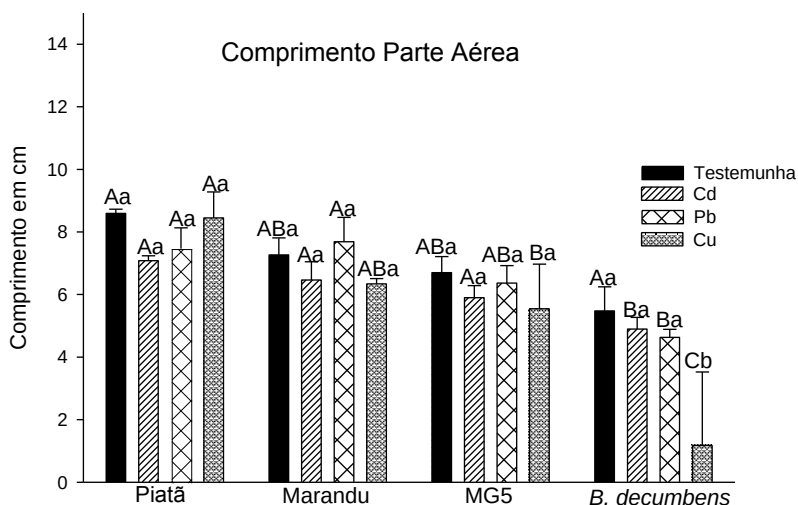
Fonte: Próprio autor, 2015.

Nota: As letras comparam estatisticamente as espécies dentro de mesmo tratamento.

Não houve diferença significativa para comprimento da parte aérea para cultivares *B. brizantha* (cv. Piatã, Marandu e MG5) em presença de Cd, Pb e Cu e para *B. decumbens* na presença dos elementos-traço Cd e Pb. Contudo, em presença do Cu a *B. decumbens* apresentou inibição no crescimento da parte aérea, o qual reduziu de 5,5 para 1,0 cm (Figura 5). O

baixo translocamento de elementos-traço da raiz para a parte aérea faz com que a parte aérea seja pouco influenciada pela exposição das plântulas aos elementos-traço (FIDALGO et. al., 2013).

Figura 5- Comprimento da parte aérea das plântulas de *Brachiaria brizantha* (cv. Piatã, Marandu e MG5) e *Brachiaria decumbens* em presença de Cd, Pb e Cu.

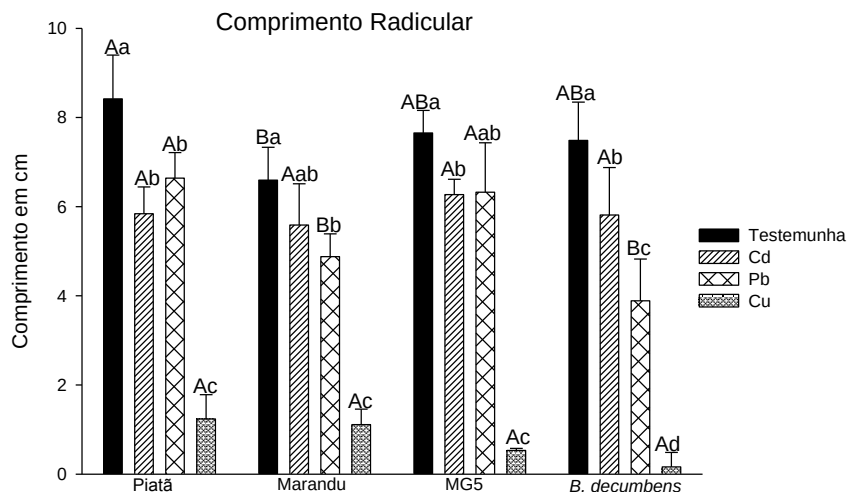


Fonte: Próprio autor, 2015.

Nota: As letras comparam estatisticamente as espécies dentro de mesmo tratamento.

A exposição ao Cd não apresentou diferenças significativas para nenhuma espécie. Na presença de Cd causou reduções do comprimento radicular de 2,5 e 1,0 cm para a cv. Piatã de *B. brizantha* e em *B. decumbens* respectivamente (Figura 6). Porém, para cv. Marandu e MG5 de *B. brizantha* não houve reduções do comprimento radicular na presença de Cd.

Figura 6- Comprimento radicular das plântulas de *B. brizantha* (cv. Piatã, Marandu e MG5) e *B. decumbens* em presença de Cd, Pb e Cu.



Fonte: Próprio autor, 2015.

Nota: Letras maiúsculas comparam estatisticamente as espécies dentro de mesmo tratamento e letras minúsculas comparam os tratamentos em mesma espécie.

Na exposição ao Pb as cultivares Piatã, Marandu de *B. brizantha* e *B. decumbens* apresentaram reduções do comprimento radicular. Já na exposição ao Cu, as reduções do comprimento radicular puderam ser observadas nas cultivares Piatã, MG5 de *B. brizantha* e *B. decumbens*. Nas cultivares Piatã e Marandu foi observado que mesmo não apresentando

diferenças na PG, a exposição ao Pb causou reduções do comprimento radicular. E ainda, a maior redução de comprimento radicular foi observada na exposição ao Cu, sendo que o crescimento não ultrapassou 1,5 cm nas espécies estudadas.

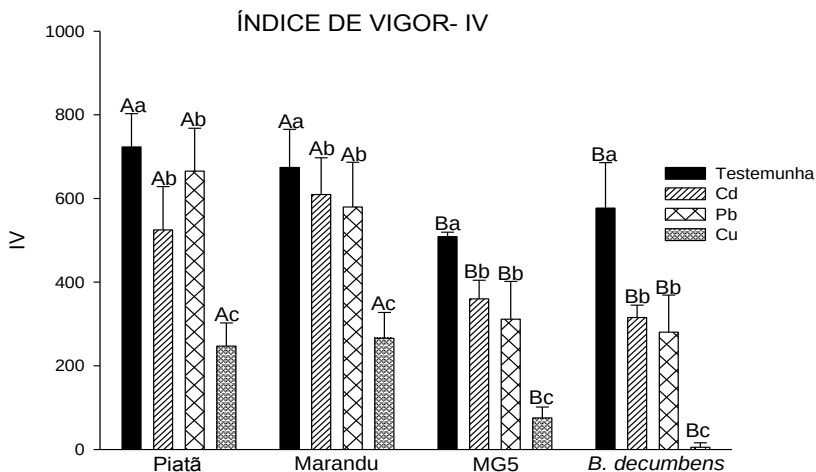
O bloqueio da ativação de enzimas e redução ou bloqueamento direto de divisão celular e a interferência na formação da mitose podem explicar a redução no crescimento radicular. A repressão da síntese protéica, replicação do DNA também pode bloquear a divisão celular (MOOSAVI, et al., 2012).

Quando as plantas são expostas ao excesso de Cu, este elemento pode influenciar no metabolismo do N, com a diminuição da atividade da nitrato redutase e no teor da clorofila, visto que a biossíntese de clorofilas é dependente do fornecimento de N (XIONG et. al., 2006). A diminuição da enzima nitrato redutase pode ainda afetar na redução do comprimento da raiz, diminuição da quantidade de folhas, declínio da biomassa vegetal ocasionado pelo aumento da concentração de Cu em tecidos de plantas (XIONG et. al., 2006).

A presença dos elementos-traço Cd, Pb e Cu ocasionou reduções no índice de vigor (IV) em todas as espécies estudadas (Figura 7). A diminuição do IV, que é resultado da baixa porcentagem de germinação e/ou decréscimo do comprimento radicular pode ser provocado pela inibição da mitose e pela redução da síntese dos componentes da parede celular e no metabolismo dos polissacarídeos (HEIDARI & SARANI, 2011). Assim como os dados aqui obtidos, SADERI & ZARINHAMAR (2012) obtiveram reduções na germinação e baixo crescimento radicular de *Matricaria chamomilla* expostas ao Cd e ao Pb. Em sementes de *Populus alba* contaminadas por Cd, MADEJÓN et al. (2015) não encontraram diferenças no vigor dessas sementes comparando com sementes não contaminadas. Vale ressaltar que a

contaminação testada por estes autores era na semente e não no ambiente.

Figura 7- Índice de Vigor (IV) das plântulas de *B. brizantha* (cv. Piatã, Marandu e MG5) e *B. decumbens* em presença de Cd, Pb e Cu.



Fonte: Próprio autor, 2015.

Nota: Letras maiúsculas comparam estatisticamente as espécies dentro de mesmo tratamento e letras minúsculas comparam os tratamentos em mesma espécie.

A germinação é a fase mais sensível no ciclo de vida de uma planta, e não há nenhum teste consistente ou parâmetro mensurável válido para todas as condições possíveis no momento da sementeira, ou seja, a germinação in vitro não remete as condições de desenvolvimento a campo das plantas (MADEJÓN, et. al., 2015). Os testes de germinação servem como um parâmetro preliminar ao desenvolvimento das plântulas em exposição aos elementos-traço (DI SALVATORI

et. al., 2008). Sendo assim, o experimento foi conduzido em uma segunda etapa para avaliar estas condições.

6.3.2.Casa de Vegetação

A matéria seca da raiz (MSR) não apresentou interação entre as espécies estudadas com a presença ou ausência de Cd e de Cu. Através do teste de médias pode-se observar que não houve diferenças entre as espécies estudadas bem como para os tratamentos estudados (Tabela 2).

Houve interação para matéria seca de parte aérea (MSPA) entre as cultivares de *B. brizantha* e *B. decumbens*. A exposição ao Cd causou um aumento de MSPA de 1028,2 para 1457,8 mg para a cv. MG5 de *B. brizantha* (Tabela 2). A presença de Cu aumentou a MSPA de 483,4 para 836,2 mg na cv. Marandu de *B. brizantha*, um1 aumento de 57,8% quando comparado à testemunha. Entretanto, para as cv. Piatã de *B. brizantha* e para a *B. decumbens* não houve diferença entre os tratamentos.

ANDRADE et al. (2014) observaram que a exposição de *B. decumbens* ao Ba e ao Pb também não resultou em diferenças no peso da matéria seca. A exposição das braquiárias aos elementos-traço, pode resultar na produção de fitoquelatinas e compostos antioxidantes como o ascorbato e o tocoferol, o qual minimiza os efeitos tóxicos dos elemento-traço (SANTOS et. al., 2011).

Um indicativo de tolerância à exposição das plantas aos elementos-traço é a proporcionalidade de peso de matéria seca entre ausência e presença desses contaminates (ANDRADE et al., 2014; TOLENTINO et al., 2014). Isso foi observado neste trabalho para *B. decumbens* e para cultivar MG5.

Tabela 2. Massa seca do tecido vegetal das espécies *B. brizantha* (cv. Piatã, Marandu e MG5) e *B. decumbens* em ausência e presença dos elementos-traço Cd e Cu.

Cultivares	Parte aérea				Raiz			
	Testemunha	Cd	Cu	Média	Testemunha	Cd	Cu	Média
		mg kg ⁻¹				mg kg ⁻¹		
Piatã	893,8Ba	902,5Aa	902,3Ba	899, 6	767,5	729,5	736,7	744,6A
Marandu	483,4Cb	836,2Aa	891,3Ba	737,0	751,3	681,8	922,4	785,2A
MG5	1457,9Aa	1028,2Ab	1596,7Aa	1361,0	776,4	805,8	850,2	810,8A
Dec	1135,8ABa	1180,8Aa	1129,5Ba	1148,7	569,5	697,3	773,8	680,2A
Média	992,7	987,0	1130,00		716,2a	728,6a	820,8a	

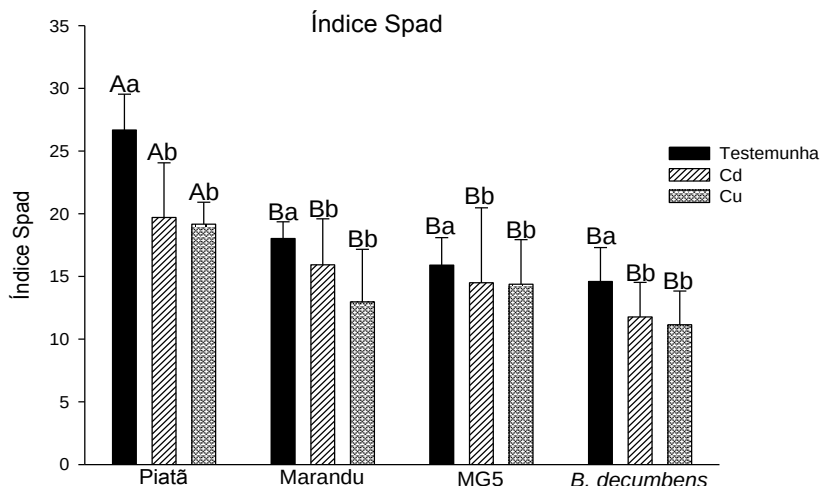
Fonte: Próprio autor, 2015.

Nota: A representação das letras maiúsculas comparam estatisticamente as espécies dentro de mesmo tratamento e letras minúsculas comparam os tratamentos em mesma espécie.

Verificou-se reduções do Índice SPAD em todas as espécies estudadas em exposição ao Cd e ao Cu. O efeito negativo provocado pela exposição de Cd e Cu as plantas reflete na medida indiretas do teor de clorofila através do Índice SPAD (MARCHIOL, et. al., 2004).

A cv. Piatã de *B. brizantha* foi a que apresentou maiores reduções do Índice SPAD de 27 na ausência de elementos-traço para 19 na presença de Cd e 18 na de Cu (Figura 8). SANTOS et al. (2013) encontraram reduções do índice SPAD em *Phaseolus vulgaris* L. em exposição a doses crescentes de Cd. A absorção de Cd em plantas pode causar desorganização das estruturas grana e redução da biossíntese de clorofila, interferindo com a fotossíntese, respiração e relações hídricas (GILL et al., 2013). Os teores de clorofila, da atividade das enzimas do ciclo de Calvin e FSII são suscetíveis aos elementos-traço. Em associação, tanto direta quanto indireta, esses fatores contribuem para a redução da assimilação de taxas do carbono (GOMES et al., 2011).

Figura 8- Índice SPAD das espécies *Brachiaria brizantha* (cv. Piatã, Marandu e MG5) e *Brachiaria decumbens* em presença de Cd e Cu.



Fonte: Próprio autor, 2015.

As letras maiúsculas comparam estatisticamente as espécies dentro de mesmo tratamento e letras minúsculas comparam os tratamentos em mesma espécie.

O tecido radicular apresentou maiores teores de Cd e Cu, comparados com a parte aérea para todas as espécies estudadas, como pode ser visualizado na Tabela 3. Não houve diferença estatística entre os teores de Cd encontrados nas raízes de todas as cultivares de *B. brizantha* e *B. decumbens*. Os teores de Cd na parte aérea não diferiram entre as cv. Piatã, Marandu de *B. brizantha* e *B. decumbens*, já a cv. MG5 de *B. brizantha* apresentou o menor teor de Cd. A resistência aos elementos-traço pode basear-se num mecanismo de exclusão,

em que o elemento se acumula nas raízes e a sua translocação para a parte aérea é impedida (RUI, et al., 2015).

A presença de elementos-traço pode causar mudanças no tamanho, forma e arranjo de parênquima cortical em células de *B. decumbens*. Essas alterações indicam uma interferência desses elementos-traço na velocidade de maturação de raiz, possivelmente provocado pela capacidade destes contaminantes perturbarem o equilíbrio hormonal da planta. O espessamento das paredes das células na raiz pode indicar um fornecimento de maior área para retenção dos elementos-traço, diminuindo a sua translocação para a parte aérea (GOMES et. al., 2011).

Diferenças de acúmulo em diferentes cultivares de mesma espécie também foram constatada por RUI e colaboradores (2015). Esses autores observaram que cultivares da espécie *Vicia sativa* L. apresentaram diferenças de sensibilidade ao Cd. Em um outro trabalho realizado com trigo foram encontradas diferenças de concentração de Cd, Pb, Zn, Cu, Ni e Cr em diferentes cultivares cultivadas em solos contaminados com lodo de esgoto doméstico (JAMALI, et al., 2009).

SANTOS et al. (2006) observaram um aumento de até 2,7 vezes na absorção de Cd em *Brachiaria decumbens* após aplicação de fitoquelantes, mostrando que esta espécie também pode aumentar seu poder de remediação nos solos contaminados.

TABELA 3. Teor de Cd e Cu no tecido vegetal das espécies *B. brizantha* cv. Piatã, Marandu, MG5 e da *B. decumbens* na ausência e na presença desses elementos.

	Cultivares	Parte Aérea	Raiz	Parte Aérea	Raiz
		Teor de Cd mg kg ⁻¹		Teor de Cu mg kg ⁻¹	
Ausência	Piatã	0,40Ab	1,19Ab	0,94Cb	8,22Bb
	Marandu	1,30Ab	1,47Ab	5,88Ab	12,26Bb
	MG5	0,56Ab	0,87Bb	2,30Bb	12,77Ba
	Dec	0,86Ab	1,44Ab	5,40Ab	14,20Ab
Presença	Piatã	1,95Aa	5,22Aa	8,25Aa	13,15Ba
	Marandu	2,99Aa	3,22Aa	9,03Aa	15,77Ba
	MG5	1,43Ba	3,35Aa	5,32Aa	12,96Ba
	Dec	2,41Aa	2,77Aa	9,06Aa	30,80Aa

Fonte: Próprio autor, 2015.

Nota: A representação das letras maiúsculas comparam estatisticamente as espécies dentro de mesmo tratamento e letras minúsculas comparam os tratamentos em mesma espécie.

Ao contrário do observado na germinação em laboratório, a presença de alta concentração de Cu não causou efeito fitotóxico para as plantas avaliadas em casa de vegetação. Isso possivelmente é resultado da capacidade que o Cu tem de se complexar com a matéria orgânica, ligando-se aos grupos funcionais carboxílicos e fenólicos (KIM, et al., 1999). O teor de Cu disponível, observado na Tabela 4, é quatro vezes menor que a dose aplicada ao solo (200 mg kg^{-1}). O mesmo não foi observado para Cd, onde o teor disponível obtido foi de $2,8 \text{ mg kg}^{-1}$ assemelhando-se à dose aplicada ao solo (3 mg kg^{-1}).

Tabela 4. Teor disponível de cádmio e cobre encontrados em Cambissolo Háplico na ausência e na presença de contaminação.

	Cd	Cu
	mg kg^{-1}	
Ausência	0,83	1,64
Presença	2,88	52,97

Fonte: Próprio autor, 2015.

Em exposição ao Cu, *B. decumbens* foi a espécie que apresentou maior teor de Cu em seu tecido radicular e não foi observado efeitos fitotóxicos de *B. decumbens* em exposição ao Cu. Este resultado pode estar relacionado a menor disponível de Cu no solo e a baixa translocação de Cu para parte aérea.

6.4 CONCLUSÕES

A *B. decumbens* foi a espécie mais sensível à exposição de todos os Cd, Pb e Cu.

A *B. decumbens* apresentou inibição da germinação, decréscimo no índice de velocidade de germinação e de índice de vigor. Esses efeitos foram menos evidentes para as cultivares Piatã, Marandu e MG5 de *B. brizantha*.

A redução do no Índice de Vigor medida pelo comprimento radicular e mais sensível à presença do Cd, Pb e Cu para as espécies estudadas. Por outro lado, o comprimento da parte aérea não foi afetado na presença dos mesmos elementos.

No teste de germinação o Cu foi o elemento-traço que mais causou danos à germinação e desenvolvimento inicial das plântulas de *B. brizantha* (cv. Piatã, marandu e MG5) e *B. decumbens*.

A exposição ao Cu causou toxicidade a todas as espécies estudadas.

Não houve diferença na produção de massa seca da raiz entre plantas cultivadas na ausência e na presença de Cd e Cu no solo.

A presença de Cd e Cu no solo resultou em redução do índice SPAD para *B. brizantha* (cv. Piatã, Marandu e MG5) e *B. decumbens*.

Os maiores teores de Cd e Cu foram encontrados nas raízes de todas as espécies estudadas.

A *B. decumbens* apresentou maiores teores de Cu em sua raiz.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presença dos elementos-traço Cd, Pb interferem no desenvolvimento inicial das plântulas de *Avena stringosa* e *Raphanus sativus* e na presença de Cd, Pb e Cu nas cultivares Piatã, Marandu e MG5 de *Brachiaria brizantha* e em *Brachiaria decumbens*. A presença de Cd causou efeitos fitotóxicos para as espécies *Avena stringosa*, *Raphanus sativus*. Para os testes de germinação das braquiárias o Cu foi o metal que mais causou toxicidade nas plântulas. *Brachiaria decumbens* foi a espécie mais sensível a presença de Cd, Pb e Cu.

Em casa de vegetação, não houve decréscimo na matéria seca das cultivares Piatã, Marandu e MG5 de *Brachiaria brizantha* e em *Brachiaria decumbens* em presença de Cd e Cu. Os teores de Cd e Cu nas raízes foram maiores que os teores encontrados na parte aérea. A presença de Cu no solo, serviu como um incremento destes elementos para as plantas estudadas. Neste caso, os efeitos tóxicos do Cu não puderam ser visualizados neste estudo.

Estudos em casa de vegetação são necessários para avaliar o desenvolvimento dessas espécies em presença de Cd e Pb. Bem como estudos com doses crescentes de Cd, Pb e Cu para cultivares Piatã, Marandu e MG5 de *Brachiaria brizantha* e em *Brachiaria decumbens* faz-se necessário para avaliar efeitos fitotóxicos nas plantas de braquiárias, afim de avaliar o comportamento dessas espécies em concentrações maiores dos elementos-traço estudados e principalmente avaliar os efeitos tóxicos provocados pelo Cu.

Pode se dizer que a *Avena stringosa* serve como planta indicadora em exposição aos elementos Cd e Pb.

As braquiárias, *B. brizantha* (cv. Piatã, Marandu e MG5) e *B. decumbens* podem ser utilizadas em recuperação de áreas com os elementos-traço Cd e Cu. No entanto, a cultivar

Marandu destaca-se pela maior produção de matéria seca em exposição ao Cd e ao Cu, podendo ser utilizada para a recuperação de áreas contaminadas por estes elementos. Já a cultivar MG5 de *B. brizantha* apresentou os menores teores de Cd sendo a cultivar mais indicada utilização em pastagens.

REFERÊNCIAS

AHSAN, N. et al. Excess copper induced physiological and proteomic changes in germinating rice seeds. **Chemosphere**, v. 67, n. 6, p. 1182–1193, 2007.

ALI, H.; KHANB, E.; SAJADC, M.A. Phytoremediation of heavy metals-Concepts and applications. **Chemosphere**, v. 91, p. 869–881, 2013.

AMARAL, C. S. et al. Crescimento de *Brachiaria brizantha* pela adubação mineral e orgânica em rejeito estéril da mineração de quartizito. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 1, p.130-141, 2012.

ANDRADE, A. F. M. et al. EDTA-induced phytoextraction of lead and barium by brachiaria (*B. decumbens* cv. Basilisk) in soil contaminated by oil exploration drilling waste. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 36, n. 4, p. 495-500, 2014.

ARAÚJO, A. S. A. et al. Fitorremediação de solos contaminados com Arsênio (As) utilizando braquiária. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 1: 84-91, 2011.

BARCELO, J. POSCHENRIEDER, C. Plant water relations as affected by heavy metals stress: a review. **Journal Plant Nutrition**, v. 13, 1-37, 1990.

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

BURGOS, P. et al. Natural remediation of an unremediated soil twelve years after a mine accident: Trace element mobility and plant composition. **Journal of Environmental Management**, v. 114, n. 15, p. 36–45, 2013.

CARMO, M. L. et al. Seleção de plantas para fitorremediação de solos contaminados com Picloram. **Planta Daninha**, v. 26, n. 2, p. 301-313, 2008.

CARVALHO-BERTOLI, A. et al. *Lycopersicon esculentum* submitted to Cd-stressful conditions in nutrition solution: nutrient contents and translocation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 86, p. 176-181, 2012.

DI SALVATORE, M.; CARAFA, A.M.; CARRATÙ, G. Assessment of heavy metals phytotoxicity using seed germination and root elongation tests: A comparison of two growth substrates. **Chemosphere**, v. 73, p. 1461–1464, 2008.

FIDALGO, F. et al. Copper-induced stress in *Solanum nigrum* L. and antioxidant defense system responses. **Food and Energy Security**, v. 2, n. 1, p. 70–80, 2013.

GILL, S.S. et al. Importance of nitric oxide in cadmium stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 63, p. 254-261, 2013.

GOMES, M. P. et al. Ecophysiological and anatomical changes due to uptake and accumulation of heavy metal in *Brachiaria decumbens*. **Scientia Agricola**, v. 68, n. 5, p. 566-573, 2011.

GRATÃO, P.L. et al. Phytoremediation: green technology for the clean up of toxic metals in the environment. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 17, n. 1, p. 53-64, 2005.

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

HEIDARI, M.; SARANI, S. Effects of lead and cadmium on seed germination, seedling growth and antioxidant enzymes activities of mustard (*Sinapis arvensis* L.). **Agricultural and Biological Science**, v. 6, p 44-47, 2011.

JAMALI, M. K. et al. Heavy metal accumulation in different varieties of wheat (*Triticum aestivum* L.) grown in soil amended with domestic sewage sludge. **Journal of Hazardous Materials**, v. 164, n. 2-3, p. 1386- 1391, 2009.

KABATA-PENDIAS, A.; **Trace elements in soils and plants**. 4rd ed. Boca Raton: CRC Press, 2011. 534p.

KALAI, T. et al. Salicylic acid alleviates the toxicity of cadmium on seedling growth, amylases and phosphatases activity in germinating barley seeds. **Archives of Agronomy and Soil Science**, 13p, 2015.

KALAI, T. et al. Cadmium and cooper stress affect seedling grownth and enzymatic activities in germinating barley seeds. **Archives of Agronomy and Soil Science**, 60, 6: 765-783, 2014.

KARIMI, P. et al. The effects of excess copper on antioxidative enzymes, lipid peroxidation, proline, chlorophyll, and concentration of Mn, Fe, and Cu in *Astragalus neomobayenii*. **The ScientificWorld Journal**, v. 2012, p. 1-6, 2012.

KARMOUS, I. et al. Proteolytic activities in *Phaseolus vulgaris* cotyledons under copper stress. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 18, n. 4, p. 337-343, 2012.

KHAOKAEW, S.; LANDROT, G. A field-scale study of cadmium phytoremediation in a contaminated agricultural soil at Mae Sot District, Tak Province, Thailand: (1) Determination of Cd-hyperaccumulating plants. **Chemosphere**, 2014.

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

KIM, S. D. et al. Influence of dissolved organic matter on the toxicity of copper to *Ceriodaphnia dubia*: Effect of complexation kinetics. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 18, n. 11, p. 2433-2437, 1999.

LIU, T. F. et al. Single and joint toxicity of cypermethrin and copper on *Chinese cabbage* (Pakchoi) seeds, **Journal of Hazardous Materials**, v. 163, p. 344- 348, 2009.

LUCENA, R. B. et al. Doenças de bovinos no Sul do Brasil: 6.706 casos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 5, p. 428-434, 2010.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.

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. 187, n. 11, p. 663-674, 2015.

MARCHIOL, L. et al. Phytoextraction of heavy metals by canola (*Brassica napus*) and radish (*Raphanus sativus*) grown on multicontaminated soil. **Environmental Pollution**, v. 132, p. 21-27, 2004.

MARQUES, M.; AGUIAR, C.R.C.; SILVA, J. J. L. S. da. Desafios técnicos e barreiras sociais, econômicas e regulatórias na fitorremediação de solos contaminados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, p. 1-11, 2011.

MALIZIA, D. et al. Common plants as alternative analytical tools to monitor heavy metals in soil. **Chemistry Central Journal**, v. 6, p. 2-6, 2012.

MOOSAVI, S. A. 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. **Journal of Agricultural Science**, v. 4, n. 9, p. 11-19, 2012.

MORADI, D.; SHARIFZADEH, P. F.; JANMOHAMMADI, M. Influence of priming techniques on seed germination behavior of maize inbred lines (*Zea mays* L.) ARPN. **Journal of Agricultural and Biological Science**, v. 3, p. 22-25, 2008.

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.

QI, W. et al. Pretreatment with low-dose gamma irradiation enhances tolerance to the stress of cadmium and lead in *Arabidopsis thaliana* seedlings. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, p. 243-249, 2015.

RUI, H. et al. Cd-induced oxidative stress and lignification in the roots of two *Vicia sativa* L. varieties with different Cd tolerances. **Journal of Hazardous Materials**, v. 15, p. 30045-30050, 2015.

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**, v. 7, n. 6, p. 1940-1943, 2012.

SANTOS, F. S. et al. Chelate-induced phytoextraction of metal polluted soils with *Brachiaria decumbens*. **Chemosphere**, v. 65, n. 1, p. 43-50, 2006.

SANTOS, F. S. et al. Resposta antioxidante, formação de fitoquelatinas e composição de pigmentos fotoprotetores em *Brachiaria decumbens* Stapf submetida à contaminação com Cd e Zn. **Química Nova**, v. 34, n. 1, p. 16-20, 2011.

SILVA, A. A. et al. Teores de micronutrientes em pastagens de *Brachiaria decumbens* fertilizada com cama de frango e fontes minerais. **Bioscience Journal**, v. 27, n. 1, p. 32-40, 2011.

SUN, J. L.; LUO L. Q. A study on distribution and chemical speciation of lead in corn seed germination by synchrotron radiation X-ray fluorescence and absorption near edge structure spectrometry. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, n. 42, v. 10, p. 1447-1452, 2014.

TEDESCO, M.J.; VOLKWEISS, S.J.; BOHNEN, H. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: Departamento de solos, UFRGS. 118 p., (Boletim Técnico), 1995.

TOLENTINO, T. et al. Especificação do cádmio em *Brachiaria brizantha* e biodisponibilidade dos macro e micronutrientes. **Ciências Agrárias**, v. 37, n. 3, 292-298, 2014.

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY-USEPA. **Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils and soils**. Method 3051. Office of Solid Waste and Emergency Response, U.S. Government Printing Office, Washington, DC, 1994. Disponível em <<http://www.epa.gov.epaoswer/hazwaste/test/pdfs/3051.pdf>> acesso em 04 abril. 2015.

XIONG, Z.; LIU, C.; GENG, B. Phytotoxic effects of copper on nitrogen metabolism and plant growth in *Brassica pekinensis* Rupr. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 64, p. 273-280, 2006.

YANG, Y. et al. Lead-induced phytotoxicity mechanism involved in seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, n. 8, p. 1982-1987, 2010.

YRUELA, I. Copper in plants: acquisition, transport and interactions. **Functional Plant Biology**, v. 36, p. 409-430, 2009.

WIERZBIKA, M.; OBIDZINSKA, J. The effect of lead on seed imbibition and germination in different plant species. **Plant Science**, v. 137, n. 2, p. 155- 171, 1998.

ZANCHETA, A. C. F.; ABREU, C. A.; ZAMBROSI, C. B.; ERISMANN, N. M.; LAGÔA, A. M. M. A. Fitoextração de cobre por espécies de plantas cultivadas em solução nutritiva. **Bragantia**, v. 70, n. 4, p. 737-744, 2011.