

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROBIOLOGIA

Camila Cavalheiro da Costa

**EXCESSO DE ESTRÔNCIO NA FISIOLOGIA DE *Pfaffia glomerata*
(Spreng.) Pedersen.**

Santa Maria, RS
2017

Camila Cavalheiro da Costa

**EXCESSO DE ESTRÔNCIO NA FISILOGIA DE *Pfaffia glomerata* (Spreng.)
Pedersen.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Agrobiologia**

Orientador: Prof. Fernando Teixeira Nicoloso

**Santa Maria, RS
2017**

Camila Cavalheiro da Costa

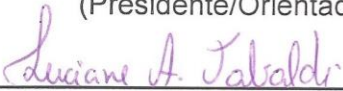
Excesso de estrôncio na fisiologia de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Agrobiologia**


Aprovado em 11 de setembro de 2017:



Fernando Teixeira Nicoloso Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)



Luciane Almeri Tabaldi Dr. (UFSM)



Evandro Luiz Missio Dr. (DDPA/SEAPI/RS)

Santa Maria, RS.
2017

DEDICATÓRIA

OFEREÇO aos meus pais e ao meu namorado pela orientação e apoio constante, dedico também aos meus avós, tios e a todos os amigos que mesmo a distância sempre se fizeram presentes nesta jornada.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por todas as oportunidades que me permitiram chegar a este momento, pelo privilégio de ser protagonista de mais essa vitória. E em especial gostaria de agradecer:

A minha família, em especial os meus pais João Ubiratã Neto da Costa e Maristania Cavalheiro da Costa aos quais sem o amor incondicional, incentivo e esforços para me proporcionar condições de continuar estudando, obrigado acreditarem no meu potencial e ajudar a realizar os meus sonhos. Assim, quero que saibam que sem vocês nada disso seria possível e serei eternamente grata.

Ao meu namorado Arthur Soares Paim Junior pelo amor, carinho, paciência e compreensão pelos momentos ausentes, bem como a amizade e as longas conversas sobre o futuro, perseverança, sonhos e objetivos. Obrigado por ser um dos grandes incentivadores da minha realização profissional.

A amiga Ana Paula Stevo pela amizade, pelas inúmeras conversas, incentivo a novos desafios e paciência pelos momentos ausentes.

Ao meu orientador Prof. Fernando Teixeira Nicoloso pela orientação, disponibilidade, atenção e ensinamentos compartilhados.

A minha coorientadora Camila Peligrinotti Tarouco pela atenção, disponibilidade, conhecimento compartilhado e amizade.

Aos meus amigos e colegas de laboratório Aniélen, Anderson, Bianca, Gilian, Jover, Letícia, Liliani, Lucas, Miriam, Melissa, Nassif, Ruziele e Raíssa agradeço por toda a ajuda e também pela disponibilidade e conhecimento compartilhado.

A Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-graduação em Agrobiologia, pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

EPÍGRAFE

“Existem muitas hipóteses em ciência que estão erradas. Isso é perfeitamente aceitável, eles são a abertura para achar as que estão certas”. (Carl Sagan)

RESUMO

EXCESSO DE ESTRÔNCIO NA FISIOLOGIA DE *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen.

AUTORA: CAMILA CAVALHEIRO DA COSTA
ORIENTADOR: FERNANDO TEIXEIRA NICOLOSO

A *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen é uma importante espécie medicinal e tem sido amplamente utilizada para caracterizar respostas fisiológicas e bioquímicas em relação ao excesso de diversos metais pesados. Dentre esses, o Sr é um metal comumente encontrado nos solos e em altas concentrações pode apresentar potencial nocivo às plantas. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi caracterizar as respostas bioquímicas e fisiológicas de dois acessos de *Pfaffia glomerata* (GD e JB) submetidos a diferentes concentrações de estrôncio (Sr) (0, 1, 2,5, 5 e 10 mM) em solução nutritiva. As plantas foram multiplicadas *in vitro* e, posteriormente, transferidas a um sistema hidropônico para aclimatização durante sete dias. Após esse período, foram adicionadas as concentrações de Sr. Após 21 dias de cultivo foram avaliados parâmetros de crescimento, bioquímicos de estresse oxidativo e fotossintéticos. O aumento da concentração de Sr reduziu o comprimento da parte aérea, o número de folhas, a massa seca de raízes e de hastes apenas do acesso GD. Os parâmetros de crescimento de raízes apresentaram diminuição no comprimento, área superficial e volume para ambos os acessos. Na parte aérea, o acesso GD apresentou maior atividade da SOD e aumento nas concentrações de H₂O₂ e MDA, mas diminuiu as concentrações de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofilas totais e carotenoides. O acesso JB apresentou aumento nas concentrações de H₂O₂ e MDA na maior concentração de Sr e apenas na concentração de 2,5 mM de Sr houve maior acúmulo de clorofila *a* e clorofila *b*. Nas raízes do acesso GD houve aumento da atividade da SOD com o aumento da concentração de Sr, mas para o acesso JB houve aumento na atividade da SOD apenas na concentração de 2,5 mM de Sr. A concentração de H₂O₂ aumentou no acesso GD e diminuiu no acesso JB. Já a concentração de MDA reduziu no acesso GD e para o acesso JB houve redução na concentração de 5 mM de Sr. Observou-se também alterações no processo fotossintético do acesso GD, principalmente na maior concentração de Sr, causando redução na taxa de assimilação líquida de CO₂, condutância estomática, concentração intercelular de CO₂, taxa transpiratória e eficiência de carboxilação da rubisco. O acesso GD apresentou as maiores alterações nos parâmetros analisados e o acesso JB se mostrou mais tolerante a altas concentrações de Sr na solução nutritiva do que o acesso GD, que apresentou severa redução de crescimento na maior concentração de Sr (10 mM).

Palavras-Chave: Fitorremediação, Fisiologia, Ginseng brasileiro, Interação, Metais pesados.

ABSTRACT

STRONTIUM EXCESS ON PHYSIOLOGY OF *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen.

AUTHOR: CAMILA CAVALHEIRO DA COSTA
ADVISER: FERNANDO TEIXEIRA NICOLOSO

Pfaffia glomerata (Spreng.) Pedersen has been widely used to characterize the physiological and biochemical responses to the excess of various heavy metals, and also for the use in phytoremediation of areas contaminated by heavy metals. Among these, Sr is a metal commonly found in soils and that in high concentrations presents harmful potential to plants. The aimed of this work was characterize two accessions of *Pfaffia glomerata* (GD and JB) cultivated in five concentrations of strontium (Sr) (0, 1, 2,5, 5 and 10 mM) in solution nutrition. The plants were multiplied *in-vitro* culture and later carried to the hydroponic system and acclimatized in the solution nutrition for seven days. After this time, concentrations of Sr were added. After 21 days of culture, growth, biochemical and photossintetic parameters were evaluated. The increase in Sr concentration reduced shoot lenght, number of leaves, root and stems dry mass only in the GD acess. The parameters of roots showed decrease in length, surface area and volume for both acessions. In the shoots, GD acess showed higher SOD activity and increased H₂O₂ and MDA concentrations, but decreased chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoid concentrations. The JB acess showed an increase in the concentrations of H₂O₂ and MDA in the highest concentration of Sr and only in the concentration of 2,5 mM of Sr there was a greater accumulation of chlorophyll a and chlorophyll b. In the roots it was observed that in the GD acess increased SOD activity with the increase of the Sr concentration and for the JB acess only in the concentration of 2,5 mM of Sr, an increase in the concentration of SOD was observed. The H₂O₂ concentration increased for the GD acess and decreased in the JB acess. The concentration of MDA reduced in the GD acess and for JB acess there was a reduction in the concentration of 5 mM of Sr. It was also observed changes in the photosynthetic process of the GD acess, mainly in the higher concentration of the element, causing reduction in the net assimilation rate of CO₂, stomatal conductance, intercellular CO₂ concentration, transpiratory rate and carboxylation efficiency of rubisco. GD acess showed the highest changes in the analyzed parameters and the JB acess was more tolerant to high concentrations of Sr in the nutrient solution than the GD acess, which showed a reduction of growth in the highest concentration of Sr (10 mM).

Keywords: Phytoremediation, Physiology, Brazilian Ginseng, Interaction, Heavy metals.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Número de folhas, comprimento da parte aérea e área foliar das plantas de dois acessos de *Pffafia glomerata* (GD e JB) em resposta às concentrações de Sr (0, 1, 2,5, 5 e 10 mM L⁻¹) na solução nutritiva.42
- Figura 2 - Massa seca de folhas, massa seca de hastes, massa seca de raízes e massa seca total das plantas de dois acessos de *Pffafia glomerata* (GD e JB) em resposta às concentrações de Sr (0, 1, 2,5, 5 e 10 mM L⁻¹) na solução nutritiva43
- Figura 3 - Comprimento de raízes (A), área superficial radicular (B), volume de raízes (C) e diâmetro médio de raízes (D) em dois acessos de *Pffafia glomerata* (GD e JB) cultivadas em solução nutritiva contendo diferentes concentrações de Sr (0, 1, 2,5, 5, 10 mM L⁻¹).45
- Figura 4 – Taxa de assimilação líquida de CO₂ (A), condutância estomática (Gs), concentração interna de CO₂, taxa transpiratória (E) e eficiência de carboxilação da rubisco (A/Ci) em dois acessos de *Pffafia glomerata* (GD e JB) cultivadas em solução nutritiva contendo diferentes concentrações de Sr (0, 1, 2,5, 5 e 10 mM L⁻¹).49
- Figura 5 – Eficiência do uso da água (EUA) para ambos acessos de *Pffafia glomerata* (GD e JB) cultivadas em solução nutritiva contendo diferentes concentrações de Sr (0, 1, 2,5, 5 e 10 mM L⁻¹).50
- Figura 6 - Concentração de Clorofila *a*, Clorofila *b*, Clorofila total e carotenoides em dois acessos de *Pffafia glomerata* (GD e JB) cultivadas em solução nutritiva contendo diferentes concentrações de Sr (0, 1, 2,5, 5 e 10 mM L⁻¹). Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem na comparação entre concentrações de Sr na comparação entre tratamentos; médias seguidas pela mesma letra maiúscula não diferem na comparação entre acessos em cada concentração de Sr, pelo teste de Tukey(p≤0,05)53
- Figura 7 - Atividade da Superóxido Dismutase (SOD), concentração de Peróxido de Hidrogênio (H₂O₂) e MDA avaliados na parte aérea (A, B, e C) e raízes (D, E e F) em dois acessos de *Pffafia glomerata* (GD e JB) cultivadas em solução nutritiva contendo diferentes concentrações de Sr (0, 1, 2,5, 5 e 10 mM L⁻¹). Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem na comparação entre concentrações de Sr; médias seguidas pela mesma letra maiúscula não diferem na comparação entre acessos em cada concentração pelo teste de Tukey (p≤0,05)....56

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	11
2. PROPOSIÇÕES	13
2.1 OBJETIVO GERAL	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3.1 ASPECTOS GERAIS SOBRE A ESPÉCIE <i>Pfaffia glomerata</i> (Spreng.) Pedersen.....	15
3.2 FITORREMEDIAÇÃO E A <i>Pfaffia glomerata</i> (Spreng.) Pedersen	16
3.3 PROPRIEDADES E DISTRIBUIÇÃO DO ESTRÔNCIO	17
3.4 EFEITOS DO ESTRÔNCIO SOBRE SAÚDE HUMANA.....	19
3.5 EFEITOS DO ESTRÔNCIO NAS PLANTAS.....	20
3.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
4. ARTIGO I – RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE DOIS ACESSOS DE <i>Pfaffia glomerata</i> (SPRENG.) PEDERSEN CULTIVADAS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ESTRÔNCIO.....	35
4.1 INTRODUÇÃO	36
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.2.1 Material vegetal utilizado	37
4.2.2 Condições de cultivo.....	37
4.2.3 Análise de crescimento e produção de biomassa.....	38
4.2.4 Parâmetros bioquímicos	39
4.2.5 Parâmetros fotossintéticos	40
4.2.6 Análise estatística	41
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4.3.1 Crescimento e produção de biomassa	41
4.3.2 Parâmetros biométricos radiculares	44
4.3.3 Parâmetros fotossintéticos	47
4.3.4 Parâmetros bioquímicos	52
4.4 CONCLUSÕES.....	58
4.5 REFERÊNCIAS.....	59

1. INTRODUÇÃO GERAL

O aumento da poluição nos últimos anos tornou os metais pesados uma preocupação recorrente aos seres vivos (LIMA et al., 2013). Os metais pesados são íons metálicos que normalmente são encontrados em baixas concentrações nos solos (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2011). Essas concentrações dependem, principalmente, do material de origem e dos processos de formação resultantes do intemperismo e de outros processos pedogenéticos (FADIGAS et al., 2002; KEDE et al., 2008).

Muitos dos metais pesados que chegam aos seres vivos são absorvidos por meio da alimentação ou pela água, e em grandes quantidades podem se tornar nocivos aos seres vivos (OLIVER, 1997; SCHWANZ et al., 2008). No entanto, nem todos os metais são prejudiciais, alguns sendo essenciais aos seres vivos, tais como: cobre (Cu), zinco (Zn), manganês (Mn), cobalto (Co), molibdênio (Mo) e selênio (Se), enquanto outros, como: arsênio (As), bário (Ba), cádmio (Cd), mercúrio (Hg), chumbo (Pb), estrôncio (Sr), titânio (Ti) e urânio (U) não apresentam funções conhecidas e, devido as suas características, podem apresentar risco efetivo ou potencial ao meio ambiente, a saúde animal e humana e as plantas (AMARAL-SOBRINHO, 1993; 1998; MOUWERIK et al., 1997).

A introdução e acúmulo de metais como o Sr no meio ambiente pode ocorrer de diferentes maneiras, tais como: a fertilização dos solos com lodo de esgoto (LAZO, 2010), a utilização de insumos químicos agrícolas (fertilizantes e pesticidas) (AVELAR et al., 2011, GUILHERME et al., 2005; MENDES et al., 2010), descarte inadequado de resíduos de metalúrgicas e mineradoras (GUPTA; SINHA 2006; KAVAMURA; ESPOSITO, 2010; LI et al., 2007) e também pelos radionuclídeos provenientes de testes ou acidentes nucleares (DAN et al., 2015). Sendo intensificados à medida que se aumenta a ação antropogênica (COLE et al., 1990)

Diante desse cenário, tem se buscado cada vez mais alternativas para o tratamento de áreas contaminadas, principalmente quando se trata de grandes extensões de solos e/ou água, que necessitam ser removidos ou destruídos, o que se torna impraticável pelos elevados custos e dificuldades no manejo (BRAGATO, 2006).

Entre os métodos de biorremediação disponíveis, a fitorremediação aparece como uma alternativa prática, eficiente e de baixo custo. Esse processo consiste na descontaminação de solo ou água utilizando-se de plantas tolerantes e o conhecimento das características físico-químicas do contaminante (CALGAROTO, 2009; MARQUES et al., 2011; PIRES et al., 2003).

Tendo em vista que nem todas as espécies vegetais desenvolvem-se em ambientes contaminados, o primeiro passo é a identificação das espécies que, além de apropriadas às condições locais, sejam tolerantes ao contaminante (MARQUES et al., 2011), possuindo a habilidade de removê-lo, extraí-lo e/ou mineralizá-lo no ambiente (PROCÓPIO et al., 2009). A eficiência do processo de fitorremediação é medida pela redução do contaminante no solo ou na água em concentrações abaixo dos valores de referência e tempo requeridos (CUNNINGHAM et al., 1996).

O desenvolvimento das plantas, em geral, é influenciado pela disponibilidade de nutrientes e pela presença de metais pesados, onde, alterações nesses fatores refletem diretamente sobre o metabolismo e a produção de metabólitos secundários (GOBBO NETO; LOPES, 2007). A concentração dos nutrientes nas plantas está sujeita a fatores internos e externos, como o tipo de solo, a espécie vegetal, o estágio de maturação, o manejo da cultura e clima (McDOWELL et al., 1993) e, além disso, as concentrações podem ser alteradas pelas interações com outros elementos, como o alumínio (Al), As, Ba, céσιο (Cs), ferro (Fe), lítio (Li), níquel (Ni), Pb, rubídio (Rb) e Sr que afetam a absorção de outros elementos como cálcio (Ca) e magnésio (Mg) (CHU et al., 2015; KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2011).

O Sr é um elemento naturalmente encontrado na crosta terrestre, pode ser introduzido por meio da ação antrópica, aumentando assim as concentrações existentes e, apesar de estar presente nos solos, não é considerado essencial para o desenvolvimento das plantas (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2011). O Sr pode ser encontrado principalmente em rochas ígneas máficas, rochas sedimentares ácidas, depósitos de enxofre, carvão, petróleo, fertilizantes, águas superficiais e subterrâneas. Nos solos, o Sr está sob a forma de sais minerais, em níveis que podem variar bastante (ATSDR, 2004; KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2011; LÁPIDO-LOUREIRO et al., 2000; LÁPIDO-LOUREIRO et al., 2008).

Devido ao Sr apresentar características químicas semelhantes a alguns nutrientes como o Ca, Mg e potássio (K), as plantas acabam por absorver equivocadamente no lugar desses nutrientes. O excesso de Sr pode causar

alterações fisiológicas nas plantas, como a formação de espécies reativas de oxigênio e, conseqüentemente, interferindo no processo fotossintético e na biossíntese das clorofilas, ocasionando redução no comprimento da parte aérea, comprimento de raízes e massa seca de plantas (DEBNATH; MUKHERJI, 1982; HE et al., 2012; ISERMANN, 1981; KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2011; LIMA, 2012; LIMA, 2011; TOSHIHIRO; KENSUKE, 2005; WALLACE, 1971).

A *Pfaffia glomerata*, ou ginseng brasileiro como é amplamente conhecida, é uma espécie reconhecida pelas suas características medicinais e, por isso, muito utilizada pela população e indústria farmacêutica (MAGALHÃES, 2000). Além do uso como fitoterápico, tem sido muito estudada para o uso como planta fitorremediadora em áreas contaminadas (CRUVINEL, 2009; OLIVEIRA et al., 2009). Especificamente, em estudos conduzidos com *Pfaffia glomerata* submetida a diferentes metais como o Al, Cd, Pb, prata (Ag), Fe e Zn foi observado que devido à grande variabilidade genética da espécie, é comum encontrar diferentes níveis de tolerância (CARNEIRO et al., 2002; BERNARDY, 2015; FERIGOLO, 2017; KAMADA et al., 2009; MALDANER et al., 2015; NEIS, 2013; PEREIRA, 2016).

Por isso, uma vez que, a contaminação de grandes áreas por Sr é provável, e associado ao potencial fitoextrator da *P. glomerata*, se faz necessário a caracterização dos efeitos do excesso de Sr e a identificação da capacidade de tolerância de cada acesso, bem como determinar a partir de qual concentração o Sr torna-se limitante para o crescimento dos acessos.

2. PROPOSIÇÕES

2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar as alterações de parâmetros de crescimento, fisiológicos e bioquímicos em plantas de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen cultivadas na presença de estrôncio.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- I) Verificar os efeitos do estrôncio nos parâmetros de crescimento (comprimento da parte aérea, área foliar, número de folhas por planta, comprimento de

raízes, área superficial radicular, volume de raízes, diâmetro médio de raízes, massa seca de folhas, massa seca de hastes, massa seca de raízes, massa seca total) de plantas de *P. glomerata*;

- II) Verificar os efeitos do estrôncio nos parâmetros bioquímicos (conteúdo de clorofilas *a*, clorofila *b*, clorofilas totais, carotenoides, peróxido de hidrogênio, superóxido dismutase e peroxidação lipídica) de plantas de *P. glomerata*;
- III) Verificar os efeitos do estrôncio nos parâmetros de taxa de assimilação líquida de CO₂ (*A*), condutância estomática (*G_s*), concentração interna de CO₂ (*C_i*), taxa transpiratória (*E*), eficiência da carboxilação da rubisco (*A/C_i*) e eficiência do uso da água (*EUA*) em plantas de *P. glomerata*;
- IV) Distinguir os acessos de *P. glomerata* (*GD* e *JB*) quanto à tolerância ao excesso de Sr;

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 ASPECTOS GERAIS SOBRE A ESPÉCIE *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen

O gênero *Pfaffia* possui diferentes espécies, as quais pertencem à família Amaranthaceae, que são muito utilizadas em substituição ao Ginseng coreano (*Panax ginseng*), o qual pertence à família Araliácea. A *P. glomerata* (Spreng.) Pedersen é conhecida como ginseng brasileiro devido ao formato de suas raízes. Dentre os vários nomes como é conhecida estão: fáfia, corongo-sempre-viva, ginseng brasileiro (devido à semelhança com o importado), ginseng do Pantanal, corrente, para-tudo, jacomin-corrente, anador, canela velha e abranda (MARCHIORETTO, 2008; NASCIMENTO et al., 2007; NICOLOSO et al., 1999; OLIVEIRA, 1986; RODRIGUES et al., 2000).

A *P. glomerata* é uma planta nativa e está distribuída geograficamente por todo o território brasileiro e em alguns países da América do Sul, sendo encontrada principalmente nas matas ciliares, campos inundáveis e capoeiras (MARCHIORETTO et al., 2010; NASCIMENTO et al., 2007; PACHECO et al., 2012; SIQUEIRA, 1988; SMITH; DOWNS, 1998). No Brasil são encontradas cerca de 21 espécies de *Pfaffia*, dentre elas, as mais estudadas são a *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen e a *Pfaffia paniculata* (Mart.) Kuntze (OLIVEIRA, 1986; SIQUEIRA, 1988). A espécie *P. glomerata* é caracterizada por ser um arbusto perene de aproximadamente 2,0 m de altura (MARCHIORETTO et al., 2010; OLIVEIRA, 2012) e raízes de formatos variados, que lembram formas humanoides. A espécie ainda se distingue por apresentar grande adaptabilidade e rápido crescimento, desenvolvendo-se melhor em regiões com temperaturas elevadas (GOSMANN et al., 2003; VIGO et al., 2004).

No Brasil, é comum o uso de plantas com propriedades medicinais como alternativa para o tratamento de diversas enfermidades. Com essa finalidade, a *P. glomerata* tem sido muito explorada devido ao grande potencial medicinal como analgésico, antioxidante, tônico, afrodisíaco, para a diabetes, afecções dos sistemas digestivo, tratamento de doenças cancerígenas e também para melhorar a memória

(CORREA et al., 2002; MONTANARI JUNIOR, 2005; MAGALHÃES, 2000; MONTEIRO et al., 2012; NETO et al., 2005; OLIVEIRA et al., 1980; OTOFUJI, 2005; POTT; POTT, 2007; TESKE; SOUZA et al., 2005; TRENTINI, 2001). Para extração dos fitoterápicos são utilizadas tanto as folhas quanto as raízes. Porém, as propriedades farmacológicas são atribuídas principalmente às raízes (MONTANARI JUNIOR et al., 1999; OLIVEIRA, 1986; RODRIGUES et al., 2000).

Em razão da ampla aplicação da *P. glomerata* para tratamento de doenças tem crescido o interesse pela indústria farmacêutica em isolar os princípios ativos para produção de fitoterápicos (RATES; GOSMANN, 2002). Além disso, outro potencial da espécie *P. glomerata* é o uso destas plantas na fitorremediação de áreas contaminadas. Tal interesse tem crescido em virtude da sua capacidade fitoextratora e também pela moderada tolerância que a mesma apresenta por metais pesados (BERNARDY et al., 2016; NEIS, 2013; PIRES et al., 2003).

3.2 FITORREMEDIAÇÃO E A *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen

A fitorremediação é o uso de plantas com intuito de extrair, reduzir, conter ou imobilizar íons metálicos, que são potencialmente poluidores do solo ou da água (AMADO; CHAVES-FILHO, 2015; NASCIMENTO et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2009). A identificação de plantas que apresentem tolerância às altas concentrações de metais pesados, e que sejam capazes de sobreviver e acumular íons metálicos apesar dos sintomas de fitotoxicidade, são essenciais para a ampla utilização da fitorremediação (AMADO; CHAVES-FILHO, 2015). Além dos benefícios com a remoção dos contaminantes, o uso de espécies vegetais tem auxiliado na reabilitação de áreas degradadas, proteção dos solos a erosão hídrica e eólica, e a diminuir a lixiviação dos contaminantes (ANDRADE et al., 2007).

Esta tecnologia é relativamente pouco explorada, apesar de apresentar grandes potencialidades de aplicação. Tanto no Brasil, quanto em outros países, existem solos contaminados que necessitam ser tratados (NASCIMENTO et al., 2009; RIBEIRO-FILHO et al., 2001). E, no geral, as técnicas convencionais requerem grandes investimentos, pois normalmente é necessária a utilização de escavação, incineração, extração com solvente e óxido-redução, o que tornam as técnicas convencionais praticamente inviáveis (ASSUNÇÃO; ROHLFS, 2012; OLIVEIRA et al., 2009). Já a fitorremediação tem sido considerada viável pelo baixo

custo, eficiência na descontaminação, possibilidade de aplicação em grandes áreas e capacidade de remediar diferentes tipos de contaminantes ao mesmo tempo (PIRES et al., 2003; VASCONCELOS et al., 2012) como explosivos, pesticidas, solventes, óleo cru, hidrocarbonetos e metais (EPA, 2005). No entanto, apresenta como fator limitante para sua ampla utilização o crescimento das raízes, uma vez que, é necessário o contato das raízes com o contaminante para que sejam absorvidos (SILVA, 2016; SINGH, JAIN, 2003).

3.3 PROPRIEDADES E DISTRIBUIÇÃO DO ESTRÔNCIO

Os elementos traço ou metais pesados são íons metálicos encontrados normalmente em concentrações muito baixas nos solos, plantas, tecidos ou águas subterrâneas (DUFFUS, 2002; KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2001). Muitos desses aparecem em concentrações muito baixas, chegando em alguns casos os solos apresentarem concentrações de íons não essenciais superiores a dos dos íons essenciais (TYLER; OLSSON, 2001, a, b). Sendo assim, o material de origem sobre o qual este solo se formou, bem como a composição e o processo de formação, são componentes fundamentais para a determinar a quantidade de metais pesados presente (FADIGAS et al., 2002).

Dentre os metais pesados encontrados nos solos, o estrôncio (Sr) é encontrado em dois estados de oxidação 0 e $^{+2}$, mas em condições ambientais normais, apenas o estado de oxidação $^{+2}$ é estável (ATSDR, 2004; KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2011; MOUDRAKOVSKI, 2013). Na natureza, é encontrado na forma mineral de celestita (SrSO_4) e estroncianita (SrCO_3), e ainda pode estar associado a alguns minerais de silicatos como impurezas. O elemento é precipitado na forma de sulfatos e carbonatos, e por não ser muito móvel no solo, é fortemente adsorvido por argilas (USGS, 2015). A disponibilidade de Sr nos solos é afetada pelo pH dos solos, altos valores de capacidade de troca de cátions (CTC), teor de matéria orgânica e cálcio (Ca) permutável, pois em solos ácidos o Sr torna-se mais disponível, o que pode acabar favorecendo com que ele seja lixiviado pelo perfil do solo ou absorvido pelas plantas. Em solos calcários ou com alta matéria orgânica, o Sr tende a permanecer concentrado nas camadas superficiais (GUILHERME et al., 2005; TSIALTAS et al., 2003).

O Sr presente na natureza não é radioativo. Segundo a Agency for Toxic Substances and Disease Registry - ATSDR (ATSDR, 2004) ele existe em quatro formas estáveis (isótopos): ^{84}Sr , ^{86}Sr , ^{87}Sr , ^{88}Sr e apenas o ^{90}Sr é radioativo. O ^{90}Sr apresenta uma meia vida em torno de 28 anos no meio ambiente, e se origina da fissão nuclear do $^{235}\text{urânio}$ (^{235}U) e do $^{239}\text{chumbo}$ (^{239}Pb), podendo se formar também nas explosões de bombas atômicas e acidentes nucleares. O Sr é classificado na tabela periódica como metal alcalino terroso, e juntamente com ele estão o Ca, magnésio (Mg), rádio (Ra) e o berílio (Be). O Sr é também o menos abundante desses metais na crosta terrestre sendo tão abundante quanto o cloro e o enxofre (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2011).

Naturalmente, a atividade agrícola causa diminuição dos teores dos minerais nos solos, requerendo que esses minerais sejam repostos através da aplicação de fertilizantes (LUZ et al., 2010). Com a finalidade de repor os nutrientes extraídos pelas plantas são utilizados fertilizantes industrializados e fertilizantes derivados de pó de rocha (LÁPIDO-LOUREIRO; NASCIMENTO, 2009). No entanto, alguns grupos de rochas que são utilizadas como matéria prima para a fabricação desses fertilizantes, apresentam grande concentração de elementos que são prejudiciais (VAN STRAATEN, 2007).

Neste contexto, a ação antropogênica tem causado aumento significativo da deposição de Sr (COLE et al., 1990), e esse aumento se deve ao crescente uso de insumos agrícolas como lodo de esgoto, fertilizantes fosfatados, calcário, esterco de animais e queima de carvão (AVELAR et al. 2011; IPPOLITO; BARBARICK, 2006; WATTS; HOWE, 2010) e também o descarte inadequado de rejeitos domésticos que possuem na sua composição Sr, são fontes em potencial de inserção desse elemento no ambiente. O relatório anual da United States Geological Survey (USGS, 2015) relata que nos Estados Unidos (EUA) o Sr é utilizado para fabricação de artefatos para pirotecnia e sinalizadores, ímãs de ferrite de cerâmica, pigmentos, agentes de enchimento, produção eletrolítica de zinco, fabricação de vidro, fluidos de perfuração para exploração, produção de petróleo e produção de gás natural.

A respeito da concentração encontrada nos fertilizantes, Senesi et al. (1983) relataram ter encontrado em diferentes formulações de nitrato de amônio, sulfato de magnésio, sulfato de potássio, superfosfato simples e superfosfato triplo concentrações entre 22 e 64 mg kg⁻¹ de Sr. Já segundo Avelar et al. (2011) em fertilizantes como o superfosfato simples e superfosfato triplo foram encontradas

concentrações entre 1010 e 24600 mg kg⁻¹ de Sr. Em estudo usando Apatita-Biotita-Carbonita foi observado que estas rochas apresentavam grandes quantidades de Sr e Ba em sua composição, sendo que estas rochas são frequentemente utilizadas para na fabricação de fertilizantes (HEIM et al., 2011). Portanto, o uso frequente de fertilizantes com quantidades significativas de Sr acarreta na modificação da concentração natural dos solos (SENESI et al., 1983).

No contexto mundial a concentração de Sr nos solos varia entre 130 e 370 mg kg⁻¹. No entanto, alguns autores relatam que nos solos Europeus essas concentrações de Sr chegam a estar em um intervalo entre 8 e 3120 mg kg⁻¹ na camada agricultável (SALMINEN et al., 2005; WATTS; HOWE, 2010). Já em solos minerais do norte da Noruega, Myrvang et al. (2016) encontraram concentrações em torno de 320 a 1300 mg de Sr kg⁻¹.

No entanto, no Brasil, encontram-se poucos dados referentes às concentrações de Sr presentes nos solos. Em levantamento realizado no estado do Paraná/BR a concentração de Sr encontrada foi de 36,95 ppm (LICHT, 2005). Já no Rio Grande do Sul, estudos apontaram concentrações entre 2,89 e 3,05 mg kg⁻¹ nos solos de São Francisco de Paula/RS (LICH, 2005) e 87,1 mg kg⁻¹ foi encontrado em líquens de Frederico Westphalen/RS (FIOREZE; SANTOS, 2013). Sendo assim, apesar dos solos brasileiros não apresentarem altas concentrações de Sr (FIOREZE; SANTOS, 2013; LICHT, 2001; PEREZ et al., 1996), deve-se levar em consideração que mais de 50% dos fertilizantes utilizados no Brasil são importados, o que pode causar a introdução de alguns contaminantes através dos subprodutos gerados da fabricação dos mesmos e isso pode vir a causar problemas futuros (LUZ et al., 2010).

3.4 EFEITOS DO ESTRÔNCIO SOBRE SAÚDE HUMANA

Os malefícios do Sr à saúde humana ocorrem em grande parte devido ao corpo humano não ser capaz de diferenciar isótopos estáveis de isótopos radioativos. Sendo a absorção do isótopo de Sr radioativo altamente tóxico, e devido a sua semelhança com o Ca, o Sr é absorvido pelo corpo e armazenado nos ossos no lugar do Ca. O organismo humano, assim como as plantas, não é capaz de identificá-lo com precisão, tornando-se tóxico na forma artificial e cancerígeno nas exposições prolongadas. A exposição pode resultar no enfraquecimento dos ossos e

ainda causar anemia, câncer, leucemia e impedir a coagulação adequada do sangue (ASTDR, 1999; LICHT, 2001, 2005).

Ainda dentre os efeitos danosos do Sr sobre o organismo humano a ATSDR (2004) relatou que Sr pode prejudicar o crescimento dos ossos em crianças, quando expostas a altos níveis. E quando presente na forma solúvel, o Sr pode ocasionar pressão alta, irritações no estômago, problemas respiratórios e diminuição no tônus muscular e também danos nos rins, fígado e coração (ATSDR, 1995).

3.5 EFEITOS DO ESTRÔNCIO NAS PLANTAS

Nos solos são encontrados uma grande diversidade de íons, aos quais alguns apresentam certa similaridade nas características físico-químicas. Tal similaridade proporciona que os sítios de absorção possam ser ocupados por outros íons (HOLZSCHUH et al., 2011; KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2011; SILVA et al., 2013). Sendo assim, apesar da capacidade seletiva da membrana plasmática, quando se trata de íons metálicos ou metais pesados essa habilidade torna-se um tanto limitada, e alguns elementos considerados não essenciais são absorvidos, e tornam-se tóxicos às plantas (BISSANI et al., 2008; EPSTEIN; BLOOM, 2006; MARSCHENER, 1995; TAIZ; ZEIGER, 2017). Segundo Kabata-Pendias; Pendias (2011) alguns elementos podem interagir com elementos essenciais, como o boro (B), bário (Ba), cádmio (Cd), cobalto (Co), cromo (Cr), céσιο (Cs), lítio (Li), manganês (Mn), níquel (Ni), chumbo (Pb), zinco (Zn) e o Sr.

A alta correspondência entre Sr/Ca ocorre em toda a cadeia alimentar, sendo mais pronunciada em plantas (BURTON, 1999). Essa interação é causa de diversas alterações nos tecidos vegetais, como foi relatado em plantas de mostarda indiana (*Brassica juncea*) cultivadas em solução nutritiva contendo altas concentrações de Sr. As plantas apresentaram grande eficiência na translocação e, conseqüentemente, maior acumulação de Sr nas folhas do que nas raízes, resultando em menor acúmulo de biomassa (SU et al., 2007). Em estudo desenvolvido por Kabata-Pendias; Pendias (2011) sobre a distribuição do Sr nos tecidos vegetais, foi observado que as regiões meristemáticas apresentavam maior concentração em comparação aos demais tecidos. As regiões meristemáticas apicais apresentaram concentrações entre 219–662 mg kg⁻¹ de Sr, seguida pelas

folhas com 45-74 mg kg⁻¹ de Sr, as raízes 1,5–131 mg kg⁻¹ de Sr e os grãos com apenas 1,5-2,5 mg kg⁻¹ de Sr. Apesar disso, as informações sobre a mobilidade do Sr nos tecidos vegetais são divergentes, como relataram Bukovac; Wittewer (1957), atribuindo a baixa concentração de Sr nas folhas de feijão à baixa mobilidade do Sr da raiz para os demais tecidos. Já Seregin; Kozhevnikova (2004) observaram alta mobilidade do Sr absorvido pelas raízes de milho, pois grande parte do conteúdo absorvido pelas raízes chegou até a parte aérea.

Nesse contexto, foi observado que plantas de milho cultivadas em concentrações crescentes de Sr sob exposição prolongada apresentaram menor crescimento radicular. O Sr foi encontrado principalmente no apoplasto das raízes, imobilizado no periciclo, paredes do xilema e folhas, sendo atribuído o menor crescimento radicular à inibição da divisão celular (SEREGIN; KOZHEVNIKOVA, 2004). O crescimento radicular de três cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) também foi inibido quando o tratamento apresentou concentração de 450 µM de Sr, mas quando acrescentado de Ca e Mg junto ao Sr, o efeito sobre as raízes foi amenizado (WATANABE; OKADA, 2005). Já em crista de galo (*Amaranthus caudatus* Linn.) foi observado redução nos parâmetros de crescimento, como área foliar, massa fresca, massa seca, comprimento de parte aérea e comprimento de raízes (KOZHEVNIKOVA et al., 2009). Esses parâmetros estiveram relacionados à diminuição na concentração de clorofilas, carotenoides, açúcar solúvel e proteínas. No entanto, a atividade das enzimas antioxidantes, aminoácidos livres, prolina e nitrato foliar aumentaram (VENKATACHALAM et al., 2016). Sowa et al. (2014) observaram que a soja (*Glycine max*) apresentou grande capacidade de absorver o Sr, e que em altas concentrações o crescimento, massa fresca de brotos e raízes foram menores. No entanto, baixas concentrações de Sr não apresentam efeito tóxicos às plantas, podendo até estimular o crescimento das mesmas.

Sobre a interações entre o Ca e Sr, Moyen; Roblin (2010, 2013) relataram que o excesso de Sr afetou a fisiologia das plantas de milho, onde houve substituição parcial do Ca e em menor proporção do Mg. Desse modo, sugere-se que as interações entre Sr e Ca são complexas e, embora eles possam competir entre si, ainda são encontradas informações divergentes sobre a capacidade do Sr em substituir Ca em funções bioquímicas. Segundo Licht (2001) e Kabata-Pendias; Pendias (2011) não é possível a substituição do Ca pelo Sr. No entanto, Cinco et al.

(1998) e Boussac et al. (2004) relataram que a substituição ocorre, e sua eficiência é comparada a desempenhada pelo Ca.

Entre outras alterações causadas pelo excesso de Sr, foi observado que em plantas de milho (*Zea mays L.*) houve aumento do teor de Sr intracelular e translocação para as folhas, o que acabou afetando o teor de clorofila *a* e o acúmulo de Ca e Mg nos tecidos vegetais (MOYEN; ROBLIN, 2010). Já em estudo desenvolvido por He et al. (2012), foi observado acúmulo de cristais de Mg, Sr e Ba precipitados em conjunto com o Ca em ramos primários de quatro espécies de acácia.

A capacidade de acumular o Sr está intimamente ligada à espécie estudada, como observaram Myrvang et al. (2016) com diferentes espécies de gramíneas, plantas herbáceas e arbustos. As maiores concentrações de Sr foram observadas nas espécies de ervas e as menores concentrações nas gramíneas, sendo que a variação encontrada nas plantas ficou em torno de 10 a 2300 mg de Sr kg⁻¹. Isso demonstra que essa grande variação de concentração de Sr entre espécies pode estar relacionada à capacidade de cada espécie em tolerar a presença de Sr (HEIM et al., 2011).

As alterações causadas pela presença do Sr são o aumento no comprimento de células diferenciadas e redução na divisão celular. Porém, esse comportamento não é observado na presença de Ca, diminuindo os efeitos causados pelo Sr (KOZHEVNIKOVA et al., 2009).

3.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR). **Public Health Statement for Strontium**. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. Atlanta, 1995.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR). Hazardous Substances Release. Health effect database. **Public Health Statement. 1999.**

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR). **Public Health Statement for Strontium**. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. Atlanta, 2004.

AMADO, S.; CHAVES-FILHO, J. T. Fitorremediação: uma alternativa sustentável para remediação de solos contaminados por metais pesados. **Natureza on-line**. v. 13, n. 4, p. 158-164, 2015.

AMARAL SOBRINHO, N. M. **Interação de metais pesados de resíduos siderúrgicos com um Podzólico Vermelho Amarelo. 1993.** Tese de Doutorado. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 1993.

ANDRADE, J. C. M. et al. Fitorremediação: o uso de plantas na melhoria da qualidade ambiental. São Paulo: Oficina de Textos, 2007.

ASSUNÇÃO, L. P. C.; ROHLFS, D. B. **Biorremediação em áreas contaminadas. Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC – Goiás).** 2012.

AVELAR, A. C.; FERREIRA, W. M.; BRITO, W. Elementos tóxicos presentes em fosfatos, calcários e farinha de ossos. **Rev. Bras. Saúde Produção Animal**, Salvador, v. 12, n. 3, p. 709-717, 2011.

BERNARDY, K. **Efeito do zinco em parâmetros bioquímicos e fisiológicos de Pfaffia glomerata (spreng.) pedersen.** 2015. Dissertação (mestrado em Agrobiologia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2015.

BERNARDY, K. et al. Changes in root morphology and dry matter production in *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen accessions in response to excessive zinc. **Rev. Bras. de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 2, p. 613-620, 2016.

BISSANI, C. A. et al. **Fertilidade dos solos e manejo da adubação de culturas.** 2º ed. Porto Alegre, 2008. 325p.

BOUSSAC, A. et al. Biosynthetic $\text{Ca}^{2+}/\text{Sr}^{2+}$ exchange in the photosystem II oxygen-evolving enzyme of *Thermosynechococcus elongatus*. **J. of Biological Chemistry**, v. 279, n. 22, p. 22809-22819, 2004.

BRAGATO, M. **Tratamento 'in-situ' de solo contaminado por derivado de petróleo e metais**. 2006. Tese (Doutorado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

BUKOVAC, M. J.; WITTEWER, S. H. Absorption and mobility of foliar applied nutrients. **Plant physiology**, v. 32, n. 5, p. 428, 1957.

BURTON, J. H. T.; PRICE, D.; MIDDLETON, W. D. Correlation of Bone Ba/Ca and Sr/Ca due to Biological Purification of Calcium. **J. of Archaeological Science**, v. 26, n. 6, p. 609–616, 1999.

CALGAROTO, N. S. **Efeitos fisiológicos do Mercúrio em plantas de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen**. 2009. Tese de Doutorado. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria, Rio grande do Sul, Brasil.

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

CINCO, R. M. et al. Strontium EXAFS Reveals the Proximity of Calcium to the Manganese Cluster of Oxygen-Evolving Photosystem II. **J. Phys. Chem. B.**, v. 102, n. 42, p. 8248-8256, 1998.

CHU, Q. et al. Interactions between Cs, Sr, and other nutrients and trace element accumulation in *Amaranthus* shoot in response to variety effect. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 63, n. 8, p. 2355-2363, 2015.

COLE, K. L. et al. Past atmospheric deposition of metals in northern Indiana measured in a peat core from Cowles Bog. **Environmental Science & Technology**, v. 24, n. 4, p. 543-549, 1990.

CORREA JR, C.; MING, L. C.; CORTEZ, D. A. G. Aspectos gerais da espécie *Páfia* (*Pfaffia glomerata* Pedersen) e recomendações técnicas para seu cultivo. **No prelo**. 2002.

CRUVINEL, D. F. C. **Avaliação Da Fitorremediação Em Solos Submetidos À Contaminação Com Metais**. 2009. 79f. 2009. Tese de Doutorado. Tese (Mestrado em Tecnologia Ambiental) - Universidade de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto.

CUNNINGHAM, S. D.; ANDERSON, T. A.; SCHWAB, A. P. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. **Adv. Agron.**, v. 56, p. 55-114, 1996.

DAN, W. et al. Phytoextraction Ability of *Amaranthus mangostanus* L. from Contaminated Soils with Cs or Sr. **J. of Bioremediation & Biodegradation**, v. 6, n. 2, p. 1, 2015.

DEBNATH, R; MUKHERJI, S. Barium in *Phaseolus aureus*, *Cephalandra indica*, *Canna indica*, *Beta vulgaris*, *Triticum aestivum* and *Lactuca sativa*. **Biologic Plantarum (PRAHA)**, v. 24, n. 6, p. 423-429, 1982.

DUFFUS, J.H. “**Heavy Metals**”- **A Meaningless Term?** IUPAC Technical Report. Pure and Applied Chemistry, v. 74, n. 5, p. 793-807, 2002.

EPA - ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Introduction to phytoremediation. 2005.

EPSTEIN, E.; BLOOM, AJ NUTRIÇÃO MINERAL DE PLANTAS. Princípios e perspectivas. **Londrina: Editora Planta**, 2006.

ESTATCAMP. **Portal Action**. Disponível em: <http://www.portalaction.com.br>.

FADIGAS, F. S. et al. **Concentrações naturais de metais pesados em algumas classes de solos brasileiros**. 2002.

FERIGOLO, L. F. **Interações entre ferro e zinco em acessos de *Pfaffia glomerata* (SPRENG.) PEDERSEN: parâmetros morfológicos, bioquímicos e fisiológicos**. 2017. Dissertação (mestrado em Agrobiologia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2017.

IOREZI, M.; SANTOS, E. P. Avaliação da qualidade do ar na área urbana de Frederico Westphalen, RS, através da determinação de Sr, Br, Zr, Cu e Zn em amostras de líquens. **TECNO-LÓGICA**, Santa Cruz do Sul, v. 17, n. 2, p. 129-135, 2013.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION - FAO. **Use of phosphate rocks for sustainable agriculture**. Roma, 2004. 144p.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GOSMANN, G. et al. Botanical (morphological, micrographic), chemical and pharmacological characteristics of *Pfaffia* species (Amaranthaceae) native to South Brazil. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, São Paulo, v. 39, n. 2, p. 141-147, 2003.

GUILHERME, L. R. G. et al. Elementos traço em solos e sistemas aquáticos. IN: **Tópicos em ciências do solo**. v. 4, Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2005. p. 345-390.

GUPTA, A. K.; SINHA, S. Chemical fractionation and heavy metal accumulation in the plant of *Sesamum indicum* (L.) var. T55 grown on soil amended with tannery sludge: Selection of single extractants. **Chemosphere**, v. 64, n. 1, p. 161-173, 2006.

HE, H. et al. Precipitation of Calcium, Magnesium, Strontium and Barium in Tissues of Four *Acacia* Species (Leguminosae: Mimosoideae), **PLoS ONE**, v.7, July. 2012.

HEIM, M. et al. Apatite–biotite–carbonatite (Stjernøy, N-Norway): potential and obstacles regarding a multinutrient rock-fertilizer. In: **Proceedings of the 10th International Congress for Applied Mineralogy (ICAM)**. Springer Berlin Heidelberg, 2012. p. 327-334.

HOLZSCHUH, M. J. et al. Absorção de nutrientes e crescimento do arroz com suprimento combinado de amônio e nitrato. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, n. 4, 2011.

IPPOLITO, J. A. & BARBARICK, K. A. Biosolids affect soil barium in a dryland wheat agroecosystem. **J. of Environ. Quality**, v. 35, n. 6, p. 2333–2341, 2006.

ISERMANN, K. **Uptake of stable strontium and effects on plant growth**, Handbook of Stable Strontium. S. C. Skoryna (ed.), Plenum, New York, 1981.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. 4rd. ed. Boca Raton, CRC Press, 2011. 505p.

KAMADA, Takeshi et al. Diversidade genética de populações naturais de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen estimada por marcadores RAPD. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 31, n. 3, 2009.

KAVAMURA, V. N.; ESPOSITO, E. Biotechnological strategies applied to the decontamination of soils polluted with heavy metals. **Biotechnology Advances**, v. 28, p. 61-69, 2010.

KEDE, M. L. F. M. et al. Estudo do comportamento do chumbo em latossolos brasileiros tratados com fosfatos: contribuições para a remediação de sítios contaminados. **Quim. Nova**, v. 31, n. 3, p. 579-584, 2008.

KOZHEVNIKOVA A. D. et al. The effects of lead, nickel, and strontium nitrates on cell division and elongation in maize roots. *Russ. J. Plant Physiol.* v. 56, p. 242–250, 2009.

LÁPIDO-LOUREIRO, F. E., Problemática da produção de ácido fosfórico seguindo as rotas clorídrica e nítrica, com recuperação de subprodutos: Estado de arte, **CETEM**, 2000.

LÁPIDO-LOUREIRO, F. E.; MONTE, M. B.; NASCIMENTO, M., Agrominerais–Fosfato. **Rochas & Minerais Industriais–Usos e especificações**. 2nd ed. Rio de Janeiro: **CETEM-MCT**, p. 141-180, 2008.

LÁPIDO-LOUREIRO, F. E. e NASCIMENTO. M. Importância e Função dos Fertilizantes numa Agricultura Sustentável e Competitiva. In: **Fertilizantes-Agroindústria e Sustentabilidade**, cap. 2, p.81-132, **CETEM/PETROBRAS**, 2009.

LAZO, R. A. **Nitrogênio, arsênio, bário e estado nutricional de plantas de milho cultivadas em Latossolo tratados com lodo de esgoto**. 2010. Tese (Doutorado

em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2010.

LI, J. X. et al. Fractionation of lead in paddy soils and its bioavailability to rice plants. **Geoderma**, v. 141, n. 3, p. 174-180, 2007.

LICHT, O. A. B. **Atlas geoquímico da Folha Curitiba**. Curitiba: MINEROPAR, 2001. 80p.

LICHT, O. A. B; PLAWIAK, RAB. **Geoquímica de Solo do Paraná-horizonte B**. Curitiba, Mineropar. 2 v. 740 p. 2005.

LIMA, A. L. **Amenizantes em solo contaminado com bário**. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2012.

LIMA, E. S. A. **Dinâmica do Bário em solos que receberam baritina**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2011.

LIMA, F. S. et al. Bioconcentração de chumbo e micronutrientes em hortaliças cultivadas em solo contaminado. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 2, p. 234-241, 2013.

LUZ, A. B. et al. Rochas, minerais e rotas tecnológicas para a produção de fertilizantes alternativos. **Agrominerais para o Brasil**, p. 61-88, 2010.

MAGALHÃES, P. M. **Agrotecnologia para o cultivo da Pfaffia**. In: Martinez, A.; Vicente, J.; Bernal, M.; Yesid, H.; Cáceres, A. (editores) Fundamentos de Agrotecnologia de Cultivo de Plantas Medicinales Iberoamericanas. Convenio Andrés Bello – CYTED, p. 323-332, 2000.

MALDANER, J. et al. Aluminum accumulation in two *Pfaffia glomerata* genotypes and its growth effects. **Ciência Rural**, v. 45, n. 6, p. 1013-1020, 2015.

MOUWERIK, V. M; STEVENS, L; SEESE, D. M; BASHAM, W. **Environmental Contaminants Encyclopedia Alkanes**. Entry July 1, 1997.

MARCHIORETTO, M. S.; MIOTTO, S. T. S.; SIQUEIRA, J. C. O gênero *Pfaffia* Mart. (Amaranthaceae) no Brasil. **Hoehnea**, São Paulo, v. 37, n. 3, p. 461-511, 2010.

MARCHIORETTO, M. S. **Os gêneros *Hebante* Mart. E *Pfaffia* Mart. (Amaranthaceae) no Brasil**. 2008. Tese (Doutorado em Botânica) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

MARSCHNER, H. **Mineral Nutrition of higher plants**. 2 ed. New York: Academic Press, 1995. 887p.

MARQUES, M.; CHAFIM AGUIAR, C. R.; SOARES DA SILVA, J. J. L. Desafios técnicos e barreiras sociais, econômicas e regulatórias na fitorremediação de solos contaminados. **Rev. Bras. de Ciência do solo**, v. 35, n. 1, 2011.

McDOWELL, L.R.; CONRAD, J.H.; HEMBRY, F. G. **Minerals for grazing ruminants in tropical regions**. 2nd. ed. Gainesville: University of Florida, 1993. 77p.

MENDES, A. et al. Acúmulo de metais pesados e alterações químicas em Cambissolo cultivado com meloeiro. **Rev. Bras. de Engenharia Agrícola e Ambiental-Agriambi**, v. 14, n. 8, 2010.

MYRVANG, M. H. H., et al. Uptake of macro nutrients, barium, and strontium by vegetation from mineral soils on carbonatite and pyroxenite bedrock at the Lillebukt Alkaline Complex on Stjernøy, Northern Norway. **J. of Plant Nutrition and Soil Science**. 2016.

MONTANARI JUNIOR, I. et al. Influence of plantation density and cultivation cycle on root productivity and tenors of β -ecdison in *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen. **Acta Horticulturae**, Leuven, v.3, n.502, p.125-128, 1999.

MONTANARI JÚNIOR, I. **Avaliação de genótipos de *Pfaffia glomerata*(Spreng.) Pedersen visando seu cultivo comercial**. 2005, 65p. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) - Instituto Agronômico, Campinas.

MONTEIRO, F. A. et al. Effect of Barium on Growth and Macronutrient Nutrition in *Tanzania Guineagrass* Grown in Nutrient Solution. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 42, p. 1510-1521, 2011.

MONTEIRO, A. G. C. C. et al. *Pfaffia paniculata* k.: Relato de experiência sobre o ensino de fitoterapia na graduação em enfermagem. **Revista de Enfermagem URI**, Frederico Westphalen, v. 8, n. 8, p. 245-264, 2012.

MOUDRAKOVSKI, I. L. Recent advances in solid-state nmr of alkaline earth elements. **An. Rep. on NMR Spectroscopy**. v. 79 p. 129-131, 2013.

MOUWERICK, M. V. et al. **Environmental contaminants encyclopedia strontium entry**. Fort Collins, Colorado, USA, 1997.

MOYEN, C.; ROBLIN, G. Uptake and translocation of strontium in hydroponically grown maize plants, and subsequent effects on tissue ion content, growth and chlorophyll a/b ratio: comparison with Ca effects. **Environ. and experimental botany**, v. 68, n. 3, p. 247-257, 2010.

MOYEN, C.; ROBLIN, G. Occurrence of interactions between individual Sr^{2+} and Ca^{2+} effects on maize root and shoot growth and Sr^{2+} , Ca^{2+} and Mg^{2+} contents, and membrane potential: Consequences on predicting Sr^{2+} impact. **J. of Hazardous Materials**, v. 260, p. 770–779, 2013.

MYRVANG, M. B. et al. Can liming reduce barium uptake by agricultural plants grown on sandy soil? **J. Plant Nutr. Soil Sci**. 27. v. 179, p. 557–565, 2016.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physio. Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.

NASCIMENTO, E. X. et al. Produção de biomassa de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen e *Plantago major* L. em cultivo solteiro e consorciado. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 3, p. 724-30, 2007.

NASCIMENTO, C. W. A. et al. Fitoextração de metais pesados em solos contaminados: avanços e perspectivas. **Tópicos em Ciência do Solo**. v. 6, p. 461-4495, 2009.

NEIS, F. A. **Interações de cobre e fósforo em acessos de *Pfaffia glomerata* (spreng.) pedersen: efeito no crescimento e rendimento de β -ecdisona**. 2013. Dissertação (mestrado em Agrobiologia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

NETO, A. G. et al. Analgesic and anti-inflammatory activity of a crude root extract of *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen. **J. of Ethnopharmacology**, v. 96, n. 1, p. 87-91, 2005.

NICOLOSO, F. T. et al. Micropropagação do Ginseng brasileiro [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen]. **Rev. Bras. de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 3, n. 2, p. 11-18, 2001.

NICOLOSO, F. T.; FORTUNATO, R. P.; FOGAÇA, M. A. F. Influência da posição da estaca no ramo sobre o enraizamento de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen em dois substratos. **Ciência Rural**. v. 29, n. 2, p. 277-283. 1999.

OLIVEIRA, D. L. et al. Plantas Nativas do Cerrado: uma alternativa para fitorremediação. **Estudos**, v. 36, n. 6, p. 1141-1158, 2009.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M. K. Contribuição para o estudo farmacognóstico do Ginseng brasileiro, *Pfaffia paniculata* (Martius) Kuntze. **An. Farm. Quim. S. Paulo**, v. 20, n. 1/2, p. 261-77, 1980.

OLIVEIRA, F. *Pfaffia paniculata* (Martius) Kuntze: o Ginseng-brasileiro. **Rev. Bras. Farmacognosia**, São Paulo, v. 1, n. 1, p.86-92, 1986.

OLIVEIRA, W. C. **Reação de genótipos de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen a *Meloidogyne javanica* e estudo morfo-anatômico da espécie hospedeira**. 2012. 95 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade de Brasília, 2012.

OLIVER, M. A. Soil and human health: a review. **European J. of Soil Science**, Oxford, v. 48, p. 573-592, 1997.

OTOFUJI, G. M. **Vias envolvidas no mecanismo de ação do efeito gastroprotetor das raízes da *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen**. 2005. 167 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Universidade Federal do Paraná, 2005.

PACHECO, A. C. et al. Efeito da aplicação de fosfato natural em plantas de fáfia cultivadas a campo. **Rev. Bras. de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, v. 5, n. 1, p. 175-186, 2012.

PEREIRA, A. S. **Selênio e silício como amenizadores da toxicidade do cádmio em plantas de *Pfaffia glomerata* (SPRENG.) PEDERSEN**. 2016. Dissertação (mestrado em Agrobiologia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2016.

PEREZ, D. V. et al. Avaliação dos teores totais de estrôncio, zircônio, bário e rubídio em alguns solos brasileiros. 1996. In: REUNIAO ESPECIAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIENCIA, 3., Florianopolis, SC. Resumos... Florianopolis: Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciencia, 1996. p.185-186.

PIRES, F. R. et al. Fitorremediação de solos contaminados com herbicidas. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 21, n. 2, p. 335-341, 2003.

POTT, A.; POTT, V. S. **Plantas do pantanal**. Corumbá: Embrapa-SPI, 1994. 320 p. IN: NASCIMENTO, E. X. et al. Produção de biomassa de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen e *Plantago major* L. em cultivo solteiro e consorciado. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 31, n. 3, p. 724-730, 2007

PROCÓPIO, S. O. et al. Efeito da densidade populacional de *Panicum maximum* (cultivar Tanzânia) na fitorremediação de solo contaminado com o herbicida picloram. **Semina: Ci. Agr.**, v. 30, n. 2, p. 295-304, 2009.

RATES, S. M. K.; GOSMANN, G. Gênero *Pfaffia*: aspectos químicos, farmacológicos e implicações para seu emprego terapêutico. **Rev. Bras. de Farmacognosia**, v. 12, n. 2, p. 85-93, jul-dez. 2002.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 5, p. 771-780, set-out. 2004.

RIBEIRO-FILHO, M. R. et al. Fracionamento e biodisponibilidade de metais pesados em solo contaminado, incubado com materiais orgânicos e inorgânicos. **Rev. Bras. de ciência do solo**, v. 25, n. 2, 2001.

RODRIGUES, S. T.; VAN DEN BERG, M. E; LARNEIRA, O. A. Plantas medicinais, aromáticas e tóxicas do horto da Embrapa Amazônia Oriental usadas por população caboclo-pesqueira de municípios do nordeste paraense: diversidade e uso. Amazônia Oriental Ministério da Agricultura e do Abastecimento, **Comunicado Técnico**, n. 26, p.1-4, Nov. 2000.

SALMINEN, R. et al. **Geochemical atlas of Europe, part 1, background information, methodology and maps**. Geological survey of Finland, 2005.

SCHWANZ, M., et al. Análise de metais pesados em amostras de *Peumus boldus* Mol. (Monimiaceae). **Rev. Bras. de farmacognosia**. São Paulo, SP. Vol. 18, n. 1, p. 98-101, 2008.

SENESI, N.; POLEMIO, M.; LORUSSO, L. Evaluation of barium, rubidium and strontium contents in commercial fertilizers. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 4, n. 2, p. 135-144, 1983.

SEREGIN, I. V.; KOZHEVNIKOVA, A. D. Strontium Transport, Distribution, and Toxic Effects on Maize Seedling Growth. **Russian J. of Plant Physiology**, v. 51, n. 2, p. 215–221, 2004.

SILVA, J. A. G., et al. Absorção de cálcio e magnésio por cultivares de aveia submetidas a níveis de toxidez por alumínio. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 6, s. 1, p. 3563-3576, 2013.

SILVA, T. J. **Fitorremediação em escala piloto: proposta para recuperação de solos contaminados com cobre e zinco**. 2016. 93 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade Estadual Paulista “Julio Mesquita Filho”. Sorocaba, 2016.

SINGH, O. V.; JAIN, R. K. Phytoremediation of toxic aromatic pollutants from soil. *Applied Microbiology and Biotechnology*, [s.l.], v. 63, n. 2, p.128-135, 2003.

SIQUEIRA, J. C. Considerações taxonômicas sobre as espécies brasileiras do gênero *Pfaffia*. **Acta Biologica Leopoldensia**, v. 10, n. 2, p. 269-278, 1988.

SMITH, L. B.; DOWNS R. J. Amaranthaceae. In: REITZ, P.R. (Ed.). **Flora ilustrada catarinense**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1998. 110p.

SMITH, L.B.; DOWNS, R.J. **Amaranthaceae de Santa Catarina**. Flora Ilustrada Catarinense. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1972. P.35-50. IN MONTANARI JÚNIOR, I. **Avaliação de genótipos de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen visando seu cultivo comercial**. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) - Instituto Agronômico, Campinas. p. 65, 2005.

SOUZA, D. J. F. S. et al. Free radical scavenging activity of *Pfaffia glomerata* (spreng.) Pedersen (Amaranthaceae). **Indian J. Pharmacology**, v. 37, n. 3, p. 174-178, 2005.

SOWA, Ireneusz et al. Biofortification of soy (*Glycine max* (L.) Merr.) with strontium ions. **J. of agricultural and food chemistry**, v. 62, n. 23, p. 5248-5252, 2014.

SU, Yi et al. Effect of bioaccumulation of Cs and Sr natural isotopes on foliar structure and plant spectral reflectance of Indian mustard (*Brassica juncea*). **Water, air, and soil pollution**, v. 180, n. 1-4, p. 65-74, 2007.

SUWA, R. et al. Barium Toxicity Effects in Soybean Plants. **Archives of Environ. Contamination and Toxicology**. New York. n. 55, p. 397–403, 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TATSCH, F. R. P. **Elementos-traço em sistema de integração soja-bovinos de corte sob plantio direto**. 2012. 59 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. **Herbarium compêdio de fitoterapia**. Herbarium Laboratório Botânico. 4. ed. rev. Curitiba, p. 130-131, 2001.

TOSHIHIRO, W.; KENSUKE, O. Interactive Effects of Al, Ca and Other Cations on Root Elongation of Rice Cultivars Under Low pH. **Annal of Botany**, n. 95, p. 379–385, 2005.

TSIALTAS, John T. et al. Strontium absorption by two *Trifolium* species as influenced by soil characteristics and liming. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 144, n. 1, p. 363-373, 2003.

TYLER, G.; OLSSON, T. Concentrations of 60 elements in the soil solution as related to the soil acidity. **European J. of Soil Science**, v. 52, n. 1, p. 151-165, 2001. (a)

TYLER, G.; OLSSON, T. Plant uptake of major and minor mineral elements as influenced by soil acidity and liming. **Plant and Soil**, v. 230, n. 2, p. 307-321, 2001. (b)

UNITED STATES GEOLOGICAL SURVEY (USGS). **Mineral commodity**: Summary 2015. Reston, Virginia, 2015.

VAN STRAATEN, P. **Agrogeology - The use of Rocks for Crops**. Univ. of Guelph, Guelph, Ontario - Canada, 440 p.

VASCONCELLOS, M. C. et al. Fitorremediação: Uma proposta de descontaminação do solo. **Estud. Biol., Ambiente Divers**, Curitiba, v. 83, n. 34, p.261-267, 2012.

VASCONCELOS, J. M. O. **Estudos taxonômico sobre Amaranthaceae no RS, Brasil**. 1982. 151 f. Dissertações (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1982.

VIGO, C. L. S. et al. Caracterização farmacognóstica comparativa da *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen e *Herbanthe paniculata* Martius-Amaranthaceae. **Rev. Bras. de Plantas Medicinai**s, v.6, n.2, p.7-19, 2004.

VENKATACHALAM, R.; KALINGAN, M.; RAJAGOPAL, S. Effect of Metal Stress due to Strontium and The Mechanisms of Tolerating it by *Amaranthus caudatus* L. **Biochem Physiol** v. 5, n. 207, 2016.

WALLACE, A. Effect of calcium levels on redistribution of Sr⁸⁵ in bush bean plants. **Plant and Soil**, n. 35, p.415-429, 1971.

WATANABE, T.; OKADA, K., Interactive effects of Al, Ca and other cations on root elongation of rice cultivars under low pH. **Annals of Botany**, v. 95, n. 2, p. 379-385, 2004.

WATTS, P.; HOWE, P. **Strontium and strontium compounds**. World Health Organization, 2010.

MANUSCRITO

Artigo I – Respostas fisiológicas de dois acessos de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen cultivadas em diferentes concentrações de estrôncio.

4. ARTIGO I – RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE DOIS ACESSOS DE *Pfaffia glomerata* (SPRENG.) PEDERSEN CULTIVADAS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ESTRÔNCIO.

Resumo: A *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen tem se mostrado moderadamente tolerante ao excesso de metais pesados como cádmio, chumbo, arsênio, mercúrio, cobre e zinco. Dessa forma, esse trabalho teve como objetivo caracterizar as respostas bioquímico-fisiológicas de dois acessos de *P. glomerata* (GD e JB) cultivados em cinco concentrações de estrôncio (Sr) (0, 1, 2,5, 5 e 10 mM) em solução nutritiva. As plantas foram multiplicadas *in vitro* e subsequentemente transferidas ao sistema hidropônico, onde foram aclimatadas durante sete dias. Após esse período, foram adicionadas as concentrações de Sr. Após 21 dias de cultivo foram avaliados os parâmetros de crescimento, bioquímicos e fotossintéticos. O aumento da concentração de Sr reduziu o comprimento da parte aérea, o número de folhas, acúmulo de massa seca de raízes e de hastes. Os parâmetros radiculares apresentaram diminuição no comprimento, área superficial e volume para ambos os acessos, porém o diâmetro médio de raízes aumentou em ambos os acessos. Nos parâmetros bioquímicos da parte aérea do acesso GD, o aumento da concentração de Sr causou maior atividade da SOD e concentrações de H₂O₂ e MDA, mas diminuiu as concentrações de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofilas totais e carotenoides. Já para o acesso JB, houve apenas aumento das concentrações de H₂O₂ e MDA na maior concentração de Sr, bem como de clorofila *b* em 2,5 mM de Sr em relação ao controle. Nas raízes do acesso GD o aumento da concentração de Sr causou aumento na atividade da SOD e concentração de MDA, enquanto H₂O₂ apresentou aumento seguido de uma diminuição na maior concentração de Sr. E o acesso JB apresentou maior atividade da SOD apenas em 2,5 mM de Sr, a concentração de H₂O₂ diminuiu e de MDA aumentou na maior concentração de Sr. O aumento da concentração de Sr causou distúrbios no processo fotossintético do acesso GD, principalmente na maior concentração de Sr, onde a taxa de assimilação líquida de CO₂, condutância estomática, concentração intercelular de CO₂, taxa transpiratória e eficiência de carboxilação da rubisco foram fortemente inibidas. Enquanto o JB praticamente não apresentou alteração nessas variáveis com o aumento do Sr. O acesso JB se mostrou mais tolerante às altas concentrações de Sr na solução nutritiva do que o acesso GD, que apresentou severa redução de crescimento na concentração de 10 mM.

Palavras-chave: Estrôncio, Crescimento, Fotossíntese, Estresse oxidativo.

4.1 INTRODUÇÃO

As plantas requerem diversos nutrientes minerais para crescer e se desenvolver, juntamente aos nutrientes presentes na solução do solo são encontrados também outros elementos químicos não essenciais, como é o caso do estrôncio (Sr). Esse elemento tem sua disponibilidade sujeita ao material de origem dos solos ou pela contaminação ambiental resultante da ação antropogênica (KABATA- PENDIAS, 2004; LIMA et al., 2013). O Sr é conhecido por ser um metal pesado, comumente encontrado nos solos e nas plantas (ISERMANN, 1981).

A maioria dos trabalhos relacionados com o Sr tem avaliado, principalmente, a concentração de Sr presente nos tecidos das plantas cultivadas durante diferentes períodos de tempo em solos contendo Sr isoladamente ou associado a outros metais. Muito pouco se sabe sobre os mecanismos de absorção do Sr, bem como sobre as alterações fisiológicas nas plantas induzidas pelo excesso de Sr (MOYEN; ROBLIN, 2010).

A absorção do Sr pelas plantas parece ocorrer por transportadores de cálcio (Ca) e magnésio (Mg), devido as suas características físico-químicas semelhantes a esses nutrientes (MARSCHNER, 2012). Desse modo, o Sr engana a seletividade das membranas e, assim, é absorvido pelo sistema radicular quando presente no solo (KABATA-PENDIAS, 2004). A absorção de elementos não essenciais (metais pesados) pelas plantas desencadeia uma série de desordens metabólicas, que resultam na degeneração de organelas, inibição da respiração e fotossíntese, conseqüentemente, redução do crescimento das plantas (JOHN et al., 2009; KOEPPE, 1981).

A *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen ou ginseng brasileiro é uma planta bastante conhecida pelos seus efeitos medicinais e uso como fitoterápico (NASCIMENTO et al., 2007). Além disso, tem sido estudada como uma possível alternativa para a fitorremediação de áreas contaminadas por metais pesados (SKREBSKY et al., 2008). A fáfia é uma espécie nativa amplamente difundida no território brasileiro e apresenta grande variabilidade genética (CORRÊA JR et al., 2002; MARCHIORETTO et al., 2010; SIQUEIRA, 1988). Este fato lhe confere também características adaptativas diversificadas e, com isso, diferentes níveis de tolerância a estresses abióticos, como o causado pelos metais pesados tais como

Cd, Zn, Hg, Pb, As e Cu (CALGAROTO et al., 2016; GOMES et al., 2013; GUPTA et al., 2013; BERNARDY et al., 2016; NEIS, 2013; MARQUES, 2007; PEREIRA, 2016; SILVA et al., 2013).

Estudos sobre as potencialidades tóxicas de metais pesados, bem como a identificação de novas espécies vegetais a serem usadas na recuperação de áreas degradadas tem ganhado cada vez mais espaço na pesquisa. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi caracterizar os efeitos de concentrações crescentes de Sr (0, 1, 2,5, 5, 10 mM) nos parâmetros bioquímico-fisiológicos de dois acessos de *Pfaffia glomerata*.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1 Material vegetal utilizado

Foram utilizados dois acessos de *Pfaffia glomerata* (GD e JB). O acesso GD é oriundo da coleção de plantas medicinais da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, MS, sendo que uma exsicata encontra-se no Herbário DDMS sob o nº 1951. O acesso JB faz parte do acervo de plantas do Jardim Botânico da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, o qual apresenta uma exsicata no Herbário do Departamento de Biologia da UFSM (SMDB 7606).

4.2.2 Condições de cultivo

Os dois acessos (GD e JB) foram propagados em cultivo *in vitro* através de segmentos nodais com aproximadamente 1 cm de comprimento, oriundos da região mediana de plantas matrizes. As plantas foram cultivadas em tubos de ensaio (25 x 150 mm) com 10 mL de meio de cultivo MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) acrescido com 0,6% de ágar, 30 g L⁻¹ de sacarose e 0,1 g L⁻¹ de mio-inositol, segundo a metodologia descrita por Nicoloso et al. (2001). Após a inoculação dos explantes, os tubos de ensaio foram mantidos em sala de crescimento, sob ambiente controlado, com fotoperíodo de 16 horas de luz, composto de luz artificial fornecida por lâmpadas fluorescentes branco-frias, e temperatura de 25 ± 1°C, durante 23 dias. Após esse período, as plantas foram submetidas a um período de

aclimatação por três dias sem a vedação do tubo de ensaio, na mesma sala de crescimento. Subsequentemente, as plantas foram transferidas para sistema hidropônico onde foram fixadas em placas de poliestireno e acondicionadas em baldes plásticos (5L) contendo solução nutritiva de Hogland modificada, a qual teve a seguinte composição (em mg L⁻¹): 85,31 de N; 7,54 de P; 11,54 de S; 97,64 de Ca; 23,68 de Mg; 104,75 de K; 176,76 de Cl; 0,27 de B; 0,05 de Mo; 0,01 de Ni; 0,13 de Zn; 0,03 de Cu; 0,11 de Mn e 2,68 de Fe (FeSO₄/Na-EDTA). Foram colocadas três plantas em cada pote de cultivo, constituindo assim uma unidade experimental. Após acondicionadas, as plantas passaram por um segundo período de aclimatação de sete dias, após isso, fez-se a troca da solução nutritiva e a adição dos tratamentos contendo 0, 1, 2,5, 5, e 10 mM de Sr, utilizando-se como fonte o cloreto de estrôncio (SrCl₂). O pH foi ajustado para 5,5 ± 0.1 a cada dois dias com uma solução de HCl ou NaOH (1 M). A solução nutritiva foi trocada a cada sete dias. As plantas foram mantidas em casa de vegetação semi-climatizada durante todo o experimento, ao qual foi conduzido por 21 dias.

4.2.3 Análise de crescimento e produção de biomassa

Utilizou-se uma planta por repetição para avaliação do comprimento da parte aérea, através de régua graduada, e contagem do número de folhas (NF). Após, estas plantas foram seccionadas em folhas, hastes e raízes e acondicionadas em sacos de papel pardo e levadas a estufa a 65° até atingir massa constante, para posterior pesagem para obtenção das massas secas de folhas (MSF), de hastes (MSH), de raízes (MSR) e do total da planta (MST).

A área foliar (AF), comprimento de raízes (CR), área superficial de raízes (ASR), diâmetro médio de raízes (DM) e volume de raízes (VR) foram obtidos através de imagens por scanner. As raízes e as folhas foram suspensas em 0,5 cm de água em uma bandeja acrílica transparente de 30 × 40 cm² no aparelho scanner EPSON Expression 11000 equipado com luz adicional TPU. As plantas foram digitalizadas com ajuste de definição de 600 dpi para raízes e 200 dpi para as folhas. O software WinRHIZO© Pro 2007 (Regent Instruments, Quebec, Canadá) foi utilizado para analisar as imagens digitalizadas. Cada amostra de raiz foi seca durante 72 h a 65 °C e pesada para a obtenção da massa seca (MS) de raiz.

4.2.4 Parâmetros bioquímicos

Para análise bioquímica fez-se a coleta de uma planta de cada repetição. As amostras foram seccionadas em parte aérea e raízes e foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas em ultrafreezer -80°C para posterior análises.

4.2.4.1 Concentração de clorofilas e carotenoides

As clorofilas e os carotenoides foram extraídos seguindo o método de Hiscox e Israelstam (1979) e calculados com a ajuda da fórmula de Lichtenthaler (LICHTENTHALER, 1987). Utilizou-se 0,05 g de material fresco para a determinação. As amostras frescas das folhas foram incubadas a 65°C em dimetilsulfóxido (DMSO) até os pigmentos serem completamente removidos. Para a determinação da clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides, a absorvância da solução foi medida em 663 e 645 nm e 470 nm, respectivamente, utilizando um espectrofotômetro. A concentração dos pigmentos foi expressa em mg g⁻¹ MF (massa fresca).

4.2.4.2 Determinação da atividade da superóxido dismutase (SOD), concentração de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e peroxidação lipídica (espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico - TBARS)

Para determinação da superóxido dismutase (SOD) foram utilizadas amostras congeladas contendo 0,5 g de parte aérea e raízes. As amostras de tecidos foram homogeneizadas utilizando 3 mL de solução tampão de fosfato de sódio 0,05 M (pH 7,8), contendo 1 mM EDTA e 0,5 % Triton X-100. O homogeneizado foi centrifugado a 13.000 g durante 20 min a 4°C. O sobrenadante foi utilizado para as avaliações de atividade enzimática e concentração de proteínas solúveis (BRADFORD, 1976; ZHU et al., 2004).

A atividade da SOD foi avaliada de acordo com o método espectrofotométrico descrito por Giannopolitis; Ries (1977). Para a reação, adicionaram-se em tubo de ensaio 3 mL do mix contendo solução tampão de fosfato de potássio 50 mM (pH

7.8), metionina 13 mM, EDTA 0,1 μ M, NBT 75 μ M e riboflavina (2 μ M). Em seguida os tubos foram incubados em lâmpada fluorescente de 15 Watts durante 15 minutos sendo então realizada a leitura da absorbância a 560 nm. Por esse método, foi determinada a inibição da redução do NBT (*p*-nitro blue tetrazolium) pelo extrato enzimático evitando assim a formação do cromóforo. Para efeito de cálculo, o branco da reação foi considerado como sendo os tubos que não continham extrato, exposto e não exposto à luz. Uma unidade de atividade enzimática (U) de SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para obter 50% de inibição da redução do NBT pela SOD contida no extrato enzimático. A atividade foi determinada pelo cálculo da quantidade de extrato que inibe 50% da reação de NBT e expressa em U mg^{-1} proteína.

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) foi determinado de acordo com Loreto; Velikova (2001), sendo que 0,1 g de raízes e parte aérea foram homogeneizadas em 2,0 mL de 0,1% de ácido tricloroacético (TCA) (p/v). Após, o homogeneizado foi centrifugado a 12.000 g por 15 min a 4°C e 0,5 mL do sobrenadante foi adicionado em 0,5 mL de tampão fosfato de potássio (10 mM) (pH 7,0) e 1 mL de KI (1M) e lida na absorbância a 390 nm. A concentração de H_2O_2 foi expressa como $\mu\text{mol g}^{-1}$ MF.

As espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (tbars) na parte aérea e raízes foram verificadas de acordo com a metodologia do El-moshaty et al. (1993), medindo os danos celulares através do acúmulo de malondialdeído (MDA) como produto final da peroxidação lipídica, pela reação com ácido tiobarbitúrico (TBA). Foi homogeneizado 0,5 g de amostra em 4,0 mL de tampão fosfato citrato TFK 0,2 M pH 6,5, após as amostras foram centrifugados em centrífuga refrigerada a 4°C durante 15 min, 20000 g. Para a determinação de tbars, alíquotas 1,5 mL da fração do sobrenadante foi adicionado a um volume igual de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,5% (p/v) e ácido tricloroacético (TCA) 20% (p/v) e incubadas em banho-maria a 95°C por 40 minutos. A reação foi paralisada em banho de gelo por 15 minutos. Após centrifugação a 10000 g durante 5 min, em seguida foi determinada a absorbância a 532 nm, descontando-se a absorbância inespecífica a 600 nm. A concentração de MDA foi calculada e os resultados expressos em nmol MDA mg^{-1} proteína.

4.2.5 Parâmetros fotossintéticos

As avaliações de trocas gasosas foram realizadas na primeira folha completamente expandida de cinco plantas por tratamento aos 21 dias de cultivo. Utilizou-se o medidor portátil Infra Red Gas Analyzer (IRGA), marca LI-COR, modelo LI-6400 XT, utilizando uma radiação fotossintética de $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e concentração de CO_2 de $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$. As leituras foram realizadas entre as 8 e 11 horas da manhã. Foram determinadas a taxa fotossintética ($A - \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática ($G_s - \text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), concentração interna de CO_2 ($C_i - \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$) e taxa transpiratória ($E - \text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). A eficiência do uso da água (EUA) foi obtida pela relação entre quantidade de CO_2 fixado pela fotossíntese e quantidade de água transpirada. A eficiência da carboxilação da rubisco (A/C_i) obtida pela relação entre quantidade de CO_2 fixado pela fotossíntese e a concentração interna de CO_2 .

4.2.6 Análise estatística

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, os tratamentos foram arranjados em esquema bifatorial 2×5 , com 4 repetições de 3 plantas cada. Verificou-se a normalidade da distribuição dos erros através do teste de Anderson-Darling e a homogeneidade das variâncias dos erros através do teste de Bartlett (ESTATCAMP, 2012). Após, atendido a estes pressupostos, fez-se a análise de variância e teste de tukey para os acessos e análise de regressão para as diferentes concentrações (SISVAR/ versão 5.6) (FERREIRA, 2011).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Crescimento e produção de biomassa

O acesso GD apresentou diminuição linear do comprimento da parte aérea (CPA) com diminuição de 56% na maior concentração de Sr, em relação ao tratamento controle (0 mM). Entretanto, o acesso JB não apresentou diferença no comprimento da parte aérea em função da variação das concentrações de Sr utilizadas (Figura 1A).

A área foliar (AF) e o número de folhas (NF) do acesso GD diminuíram, respectivamente, em 80% e 31% na presença da maior concentração de Sr, quando

comparado ao tratamento controle. Para o acesso JB, não houve efeito na variação das concentrações de Sr utilizadas (Figura 1C).

No acesso GD, o aumento da concentração de Sr causou diminuição das massas secas de folhas (MSF), de hastes (MSH), de raízes (MSR) e do total das plantas (MST), sendo que na maior concentração de Sr (10 mM) houve redução nesses parâmetros em 50%, 74%, 81% e 60%, respectivamente, em comparação ao tratamento controle (Figura 2A, 2B, 2C, 2D e 1B). Já para o acesso JB, em geral, o aumento da concentração de Sr não reduziu as variáveis MSF, MSH, MSR e MST (Figura 2A, 2B, 2C, 2D e 1B).

Os acessos diferiram significativamente entre si em vários parâmetros de crescimento. O GD, em geral, apresentou maior CPA, MSF, MSH, MSR, MST e AF, quando comparado ao acesso JB. No entanto, na maior concentração de Sr (10 mM) a MST, MSH, NF e AF foram significativamente menores no GD em relação ao JB (Figura 2D, 2C, 1B e 1C).

Figura 1 – Número de folhas, comprimento da parte aérea e área foliar das plantas de dois acessos de *Pffafia glomerata* (GD e JB) em resposta às concentrações de Sr (0, 1, 2,5, 5 e 10 mM L⁻¹) na solução nutritiva.

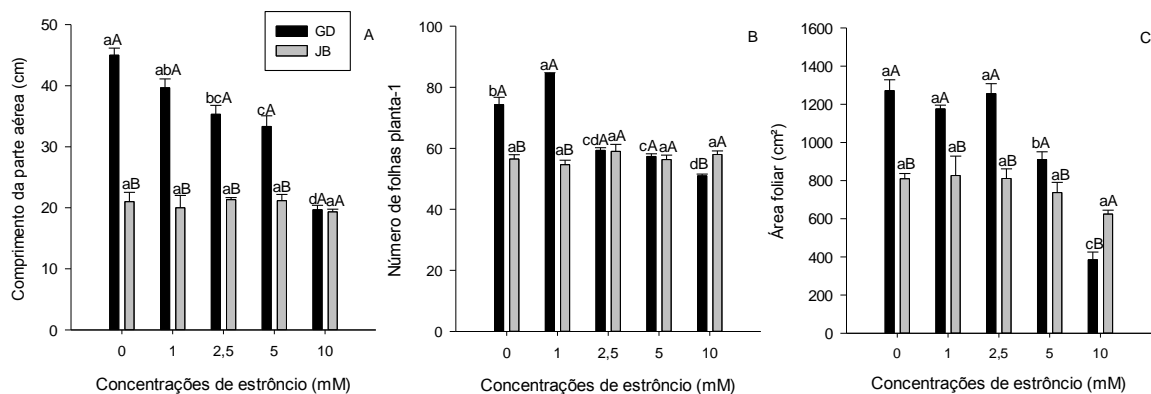
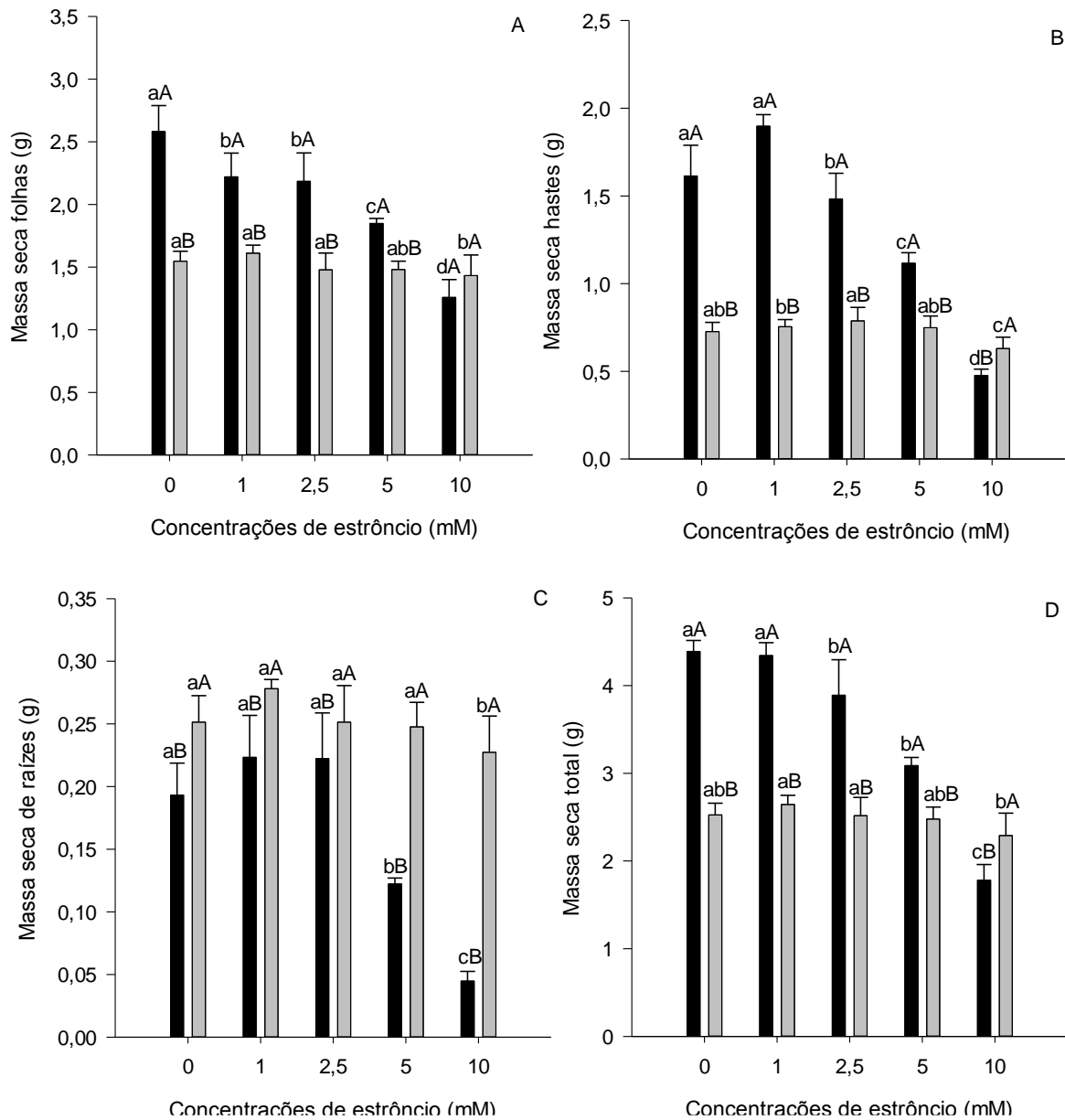


Figura 2 - Massa seca de folhas, massa seca de hastes, massa seca de raízes e massa seca total das plantas de dois acessos de *Pffafia glomerata* (GD e JB) em resposta às concentrações de Sr (0, 1, 2,5, 5 e 10 mM L⁻¹) na solução nutritiva



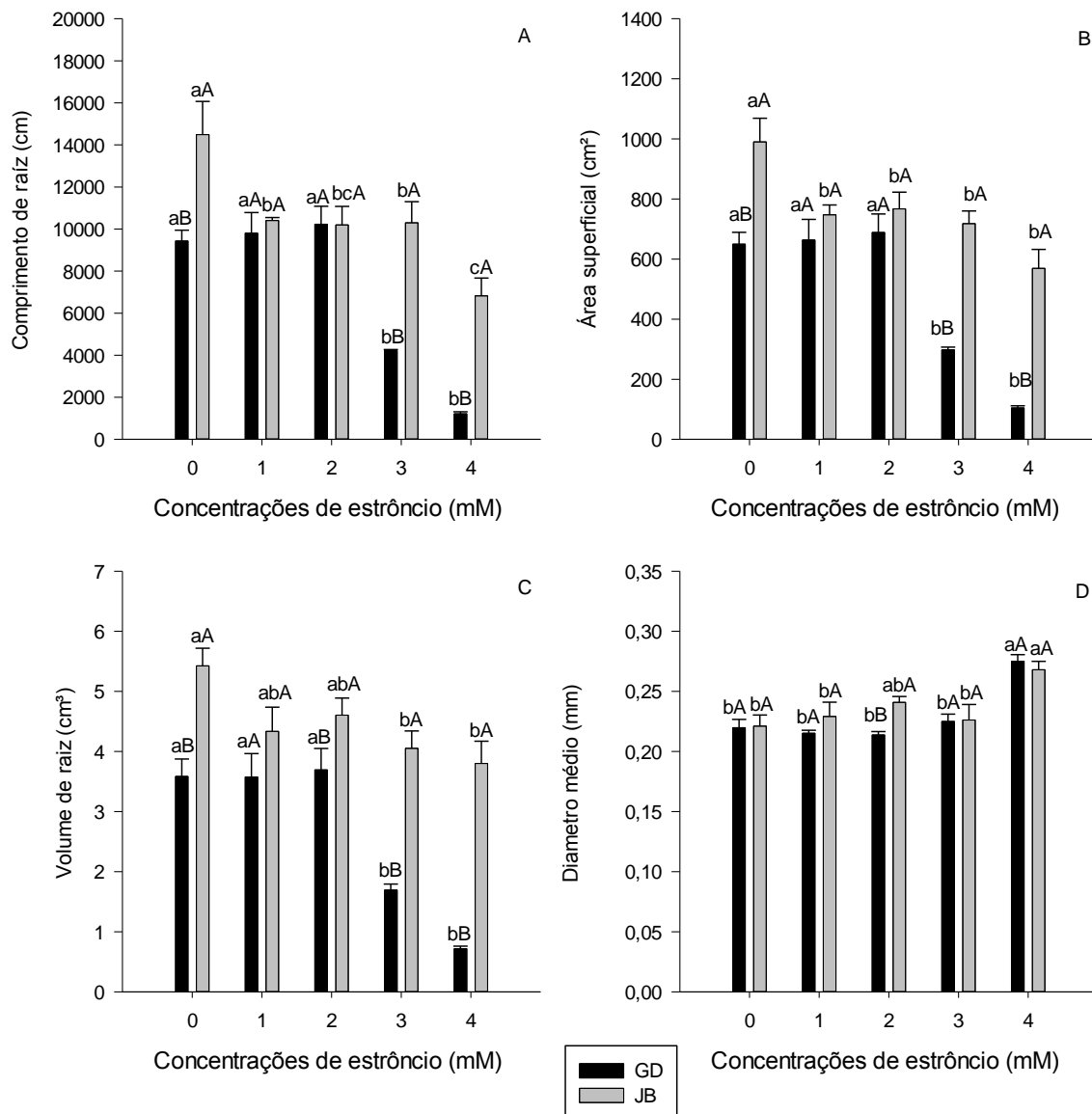
Assim como observado no presente estudo, o excesso de Sr causou efeitos negativos no crescimento de diferentes espécies vegetais, tais como mostarda indiana (*Brassica Juncea*), milho (*Zea mays*), soja (*Glycine max*) e crista de galo (*Amaranthus caudatus* L.) (JOHN et al., 2009; MOYEN; ROBLIN, 2010; CHEN et al., 2012; VENKATACHALAM et al., 2016). Entretanto, nessas espécies verificou-se que

em baixas concentrações de Sr as plantas apresentaram ganho nos parâmetros de crescimento, tais como em comprimento da parte aérea e MS. Esse aumento da biomassa tem sido atribuído ao efeito hormético (JUSSELINO-FILHO, 2002), o qual representa uma supercompensação do crescimento em razão de um desequilíbrio na homeostase dos tecidos (CALABRESE; BLAIN, 2005). Esse efeito também foi observado em batata (*Solanum tuberosum* L.) e espécies arbóreas, onde baixas concentrações de Cd e Cu proporcionaram maior crescimento das plantas (GONÇALVES et al., 2009; MARQUES, 2016). A redução da biomassa mostra-se comum quando ocorre fitotoxicidade por metais (BARCELÓ; POSCHENREIDER, 1990).

4.3.2 Parâmetros biométricos radiculares

Observou-se que os parâmetros radiculares, tais como comprimento, área superficial e volume foram afetados negativamente com o aumento da concentração de Sr para o acesso GD, apresentando reduções de 87%, 84% e 80% na maior concentração (10 mM) em relação ao tratamento controle, respectivamente (Figura 3A, 3B e 3C). O acesso JB também foi afetado negativamente à medida que aumentaram as concentrações de Sr, chegando a uma redução de 53%, 43% e 30% nestes parâmetros. Já no que se refere ao diâmetro médio de raízes, houve aumento dessa variável com o aumento da concentração de Sr (Figura 3D). Na comparação entre os acessos, em geral, o JB apresentou maior CR, ASR e VR que o acesso GD. Ainda cabe salientar que, apesar do acesso JB apresentar decréscimo nestes parâmetros, o efeito negativo foi mais pronunciado no acesso GD (Figura 3A, 3B e 3C).

Figura 3 - Comprimento de raízes (A), área superficial radicular (B), volume de raízes (C) e diâmetro médio de raízes (D) em dois acessos de *Pfaffia glomerata* (GD e JB) cultivadas em solução nutritiva contendo diferentes concentrações de Sr (0, 1, 2,5, 5, 10 mM L⁻¹).



A presença de concentrações elevadas de metais pesados nos solos está, principalmente, relacionada com a inibição do comprimento de raízes e ao aumento do diâmetro (ARDUINI et al., 1995; SILVA, et al., 2011 b; RUCINSKA et al., 1999). O Sr se liga fortemente as paredes celulares de plantas cultivadas em solos deficientes em Ca, sendo que isso pode diminuir a plasticidade da parede celular e, conseqüentemente, inibir o crescimento radicular (SEREGIN; KOZHEVNIKOVA, 2003). A inibição e redução do crescimento radicular é atribuída principalmente à perturbações na divisão celular (SEREGIN; KOZHEVNIKOVA, 2003; RUCINSKA et al., 1999), ocasionando diminuição no comprimento das raízes, em virtude, à

redução da divisão celular mitótica na zona meristemática (GODBOLD; KENTTNER, 1991). Esta redução está também associada às funcionalidades do Ca dentro dos tecidos vegetais. Portanto, um bom desenvolvimento do sistema radicular é dependente do suprimento de Ca (RITCHEY et al., 1982). O Ca é o principal mineral constituinte da lamela média das paredes celulares (TAIZ; ZEIGER, 2004), e os pectatos de Ca são responsáveis pela estabilidade da parede celular (MANFREDINI, 2008), bem como é um mensageiro secundário em vias de transdução de sinal em resposta a vários tipos de estresse (PRADO; NATALE, 2004; MARSCHNER, 2012), tendo papel estrutural crucial (BOSE et al., 2011). Assim, o desbalanceamento na homeostase do Ca compromete significativamente o alongamento celular e processos secretórios, que acabam cessando dentro de poucas horas, na ausência de um fornecimento exógeno de Ca (MARSCHNER, 2012).

Gomes et al. (2011) relataram que o excesso de metais pesados induz o espessamento da epiderme radicular, aumentando a capacidade de filtro do tecido e diminuindo a translocação de íons. A acumulação de metal nas paredes celulares é um dos mecanismos de detoxicação que ocorre nas plantas tolerantes (SEREGIN; IVANOV, 2001; WÓJCIK et al., 2005).

A expansão da área superficial de raízes está associada ao maior número de raízes finas, o que sugere maior capacidade de absorção de nutrientes e melhor estado nutricional (TENNANT, 1975). O excesso de Cu proporcionou menor área superficial radicular (SILVA, et al., 2011 b) e redução do crescimento de raízes absorventes (GRAZZIOTTI, 1999). Silva et al. (2010, 2011) relatam que, neste caso, o metal afeta primeiramente o crescimento radicular em espécies arbóreas, efeitos semelhantes também foram vistos com o Cd (ASLAM et al., 2014; CHAVES; SOUZA, 2014). Sendo assim, plantas que apresentam comprometimento no desenvolvimento radicular (área superficial e número de raízes), conseqüentemente, apresentaram sintomas em outros tecidos, devido ao comprometimento da principal via de acesso dos nutrientes à planta.

Segundo Seregin; Kozhevnikov (2004), em estudos de curta duração com a germinação de sementes de milho, o Sr apresentou efeito inibitório sobre a raiz primária, mas não afetou a ramificação das raízes e comprimento dos brotos. Já em *Brassica juncea L.*, as altas concentrações de Sr causaram desordens metabólicas nas regiões meristemáticas (raízes), o que proporcionou redução no alongamento celular e no crescimento das plantas (JOHN et al., 2009). Essa redução pode estar

associada à interação entre o Sr e alguns nutrientes, como sugerem Moyen; Roblin (2013), onde a presença de Sr causou a redução da absorção de Ca e Mg pelos tecidos vegetais. Tal redução vai afetar a estabilidade das membranas, composição da parede celular, pigmentos fotossintéticos (clorofilas) e a absorção de fósforo na planta (VITTI et al., 2006), tornando-se prejudicial aos tecidos vegetais.

Contudo, o acesso JB mostrou-se mais tolerante ao excesso de Sr que o acesso GD, indicando possuir mecanismos mais eficientes de tolerância ao excesso de Sr. A tolerância das plantas aos metais pesados pode envolver adaptações bioquímicas, fisiológicas e anatômicas (MACEDO; MORRIL, 2008). Essas adaptações podem ocorrer através da compartimentalização (ACCIOLY et al., 2004) e acúmulo dos metais nos vacúolos (TAIZ e ZIEIGER, 2009), controle de pH da rizosfera (BRACCINI et al., 2000; NAVA, 2005), exsudação de ácidos orgânicos (HALL, 2002; SOUZA et al., 2011), quelação intracelular (HALL, 2002) e exclusão iônica (SULTAN; BAZZAZ, 1991; HALL, 2002). Segundo Mazen; Magharaby (1997) e He et al. (2012) o Sr se acumulou em cristais de oxalato de Ca em todos os tecidos de *Eichhornia crassipes* e espécies de *Acácia*. A formação de cristais contendo Ca e Sr é responsável pela regulação de suas concentrações nos tecidos e destoxificação na planta (HE et al., 2012). Seregin; Kozhevnikov (2004) relataram que após 24 h de exposição o Sr, esse elemento foi encontrado em todos os tecidos vegetais de milho, mas principalmente nas raízes, nas paredes celulares e espaços intercelulares. A acumulação de metal nas paredes celulares é um dos mecanismos de destoxificação (SEREGIN; IVANOV, 2001).

4.3.3 Parâmetros fotossintéticos

No presente trabalho observou-se que o aumento da concentração de Sr ocasionou diminuição da taxa de assimilação líquida de CO₂ (A) para os acessos GD e JB (Figura 4A). A maior concentração de Sr utilizada (10 mM) reduziu em 36% e 12% a A, em relação ao controle para o GD e JB, respectivamente.

Em plantas de colza (*Brassica napus* L.) a taxa de evolução de O₂ fotossintética das folhas, a concentração de clorofila e atividade da rubisco (ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase oxigenase) diminuíram progressivamente com o aumento da concentração de Sr e também com o aumento do tempo de exposição (CHEN et al., 2012).

A G_s para o acesso GD também diminuiu com o aumento da concentração de Sr, sendo que a maior concentração de Sr reduziu em 64% a G_s , em comparação ao controle (Figura 4B). Enquanto para o JB, a G_s não foi alterada pela variação das concentrações de Sr. O aumento da concentração de Sr diminuiu a C_i no acesso GD, apresentando redução de 10% em relação ao controle. Já para o acesso JB, a C_i não foi alterada pela variação das concentrações de Sr (Figura 4C). As variáveis E e A/C_i do acesso GD diminuíram com o aumento da concentração do Sr, apresentando reduções de 32% e 30% em relação ao tratamento controle, respectivamente (Figura 4D e 4E).

A presença de Sr reduziu a EUA (Figura 5). Entretanto, a concentração intermediária 2,5 mM de Sr foi a que ocasionou menor EUA. Isso, provavelmente, ocorreu devido nesta concentração terem ocorrido as maiores taxas de A, G_s e E (PEREIRA-NETTO et al., 2002).

Figura 4 – Taxa de assimilação líquida de CO₂ (A), condutância estomática (Gs), concentração interna de CO₂, taxa transpiratória (E) e eficiência de carboxilação da rubisco (A/Ci) em dois acessos de *Pffafia glomerata* (GD e JB) cultivadas em solução nutritiva contendo diferentes concentrações de Sr (0, 1, 2,5, 5 e 10 mM L⁻¹).

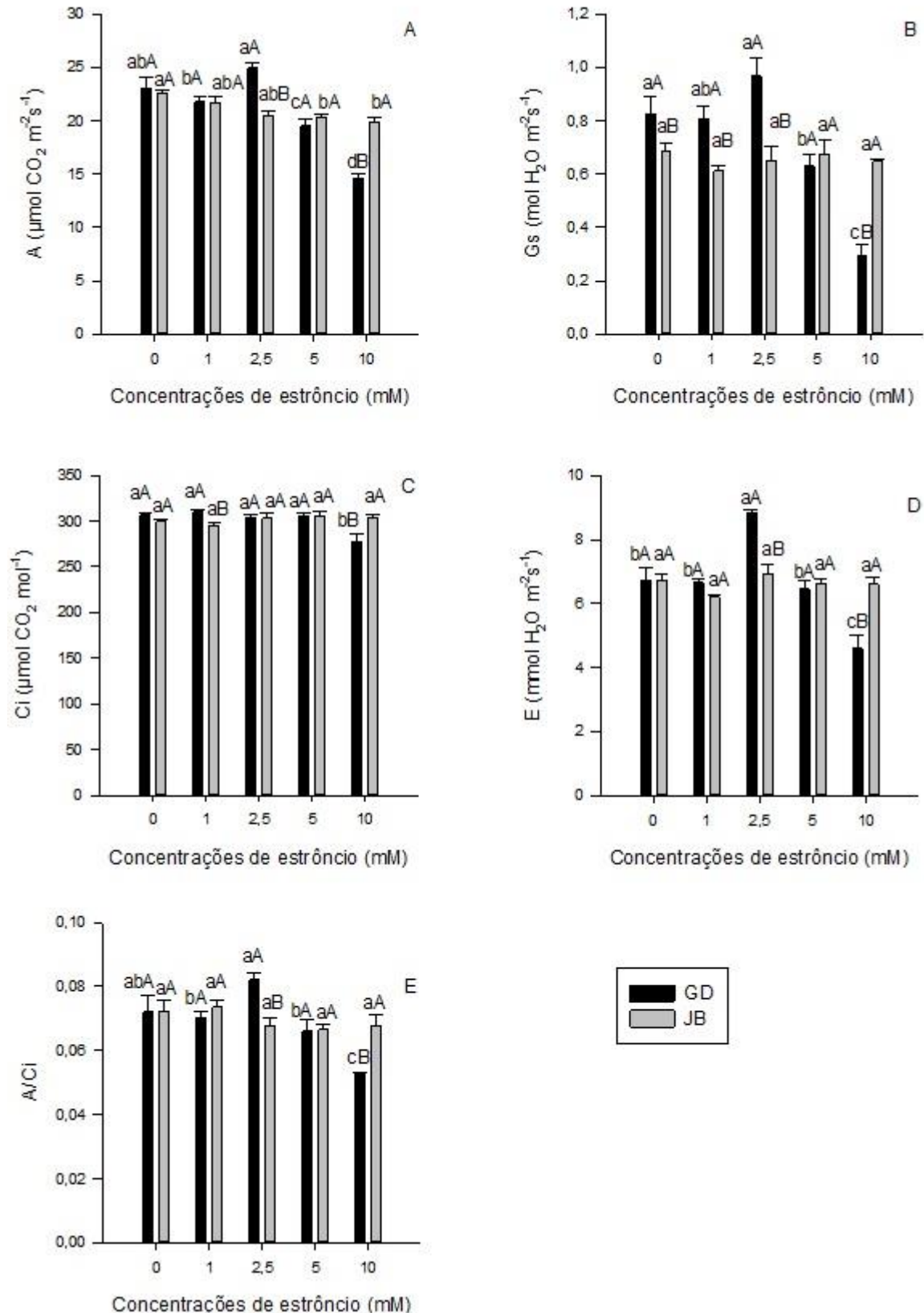
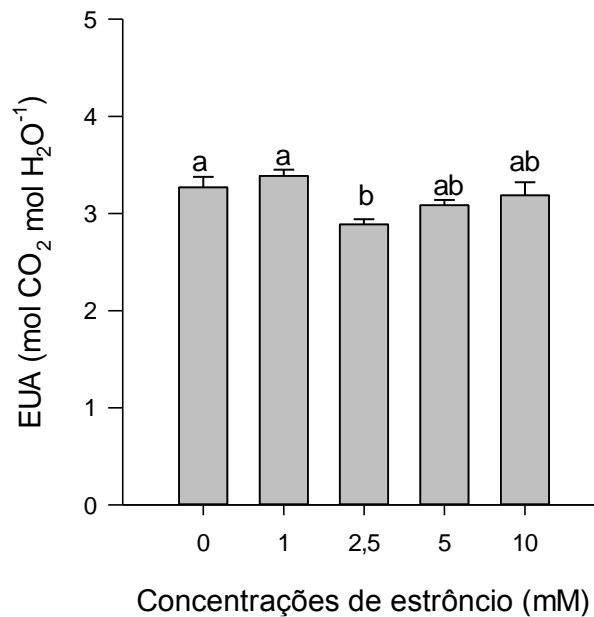


Figura 5 – Eficiência do uso da água (EUA) para ambos acessos de *Pffafia glomerata* (GD e JB) cultivadas em solução nutritiva contendo diferentes concentrações de Sr (0, 1, 2,5, 5 e 10 mM L⁻¹).



A A/Ci está relacionada à eficiência da atividade da rubisco, enzima que desempenha um papel determinante no processo da fotossíntese. Assim, a diminuição da A/Ci com o aumento da concentração de Sr pode ter ocorrido devido ao decréscimo da atividade da enzima, como também foi observado em plantas de colza, onde a atividade da rubisco diminuiu em 37, 62 e 72% em comparação com o controle nas concentrações de Sr de 10, 20 e 40 mM, respectivamente (CHEN et al., 2012).

A atividade fotossintética é uma das respostas altamente sensível de diversos tipos de estresses nas plantas. A maioria dos metais pesados é conhecida por inibir esse processo em níveis variáveis (SHEETAL et al., 2016). Os resultados do presente trabalho mostram que a baixa concentração de Sr promoveu aumento da A, Gs, Ci, E e A/Ci no acesso GD. Por outro lado, a alta concentração de Sr pode ter alterado a função do fotossistema II (PSII) e, com isso, reduziu as variáveis fotossintéticas. Isso se deve ao Sr compartilhar algumas características físico-químicas com o Ca, podendo substituí-lo, sendo que o Ca é um nutriente envolvido no complexo formador do O₂ durante a fase fotoquímica da fotossíntese (YOCUM, 1991).

A competição entre íons de mesma valência em uma proteína canal ou em uma proteína carregadora é comum, independentemente de esses íons serem ou

não transportados ou simplesmente inibirem o processo de transporte. Essa competição ocorre particularmente entre íons com propriedades físico-químicas similares (como valência, diâmetro do íon e raio de hidratação), por exemplo, como acontece entre os cátions Ca^{2+} , Sr^{2+} e Ba^{2+} (WHITE, 2012).

A troca entre o Sr e o Ca apresenta reação mais lenta no estado de excitação dos átomos e produz uma desaceleração significativa no transporte de elétrons (POLANDER; BARRY, 2013). Portanto, uma grande quantidade de Sr pode reduzir a quantidade de Ca absorvida pelas plantas e, conseqüentemente, afetar o aparato fotossintético.

Tem sido relatado que o Sr afeta vários eventos no processo de fotossíntese, como a absorção de energia (conteúdo de clorofilas), transporte de elétrons e assimilação de carbono (atividades Rubisco e PEPCase) (CHEN et al., 2012). Além disso, o Sr pode diminuir a concentração de Mg nos tecidos das plantas e, conseqüentemente, diminuir a concentração de clorofila. Além disso, a competição do Sr com o Ca dentro das células pode causar efeito inibitório na abertura dos estômatos e no teor de água no tecido (GILROY et al., 1990; BOUSSAC et al., 2004; MOYEN; ROBLIN, 2010).

A toxicidade por metais pesados é conhecida por danificar as membranas celulares, reduzir a transpiração, danificar o aparato fotossintético, inibir a taxa fotossintética e afetar a atividade de várias enzimas (JOHN et al., 2009). Em milho, a quantidade de Sr transferida do ambiente para as plantas foi suficiente para afetar alguns processos fisiológicos (MOYEN; ROBLIN, 2010).

O efeito do Sr no crescimento da planta depende da idade, do órgão e da concentração utilizada (MOYEN, ROBLIN, 2010). O fato do acesso JB ter sofrido pouca alteração nos parâmetros avaliados em função do aumento do Sr pode ser devido à sua maior tolerância. A distribuição de Sr nos tecidos e órgãos da planta tem sido pouco caracterizada. Sabe-se que o Sr é facilmente transportado pelo xilema. No entanto, o transporte do elemento pelo floema é bastante restrito (ZELLER; FELLER et al., 1998; 2000).

Alguns estudos sugeriram que o Sr pode se acumular na parede celular e no protoplasto e afetar o crescimento de raízes de milho (SEREGIN; KOZHEVNIKOVA, 2004, 2005; KOZHEVNIKOVA et al., 2007). Plantas em condições de estresse por Zn, Cd e Ni compartimentalizam os mesmos no vacúolo, onde são ligados por ácidos orgânicos (TAIZ; ZEIGER, 2009). A compartimentalização do Cd no vacúolo,

associada à complexação, é um importante mecanismo de tolerância (GUIMARÃES et al., 2008).

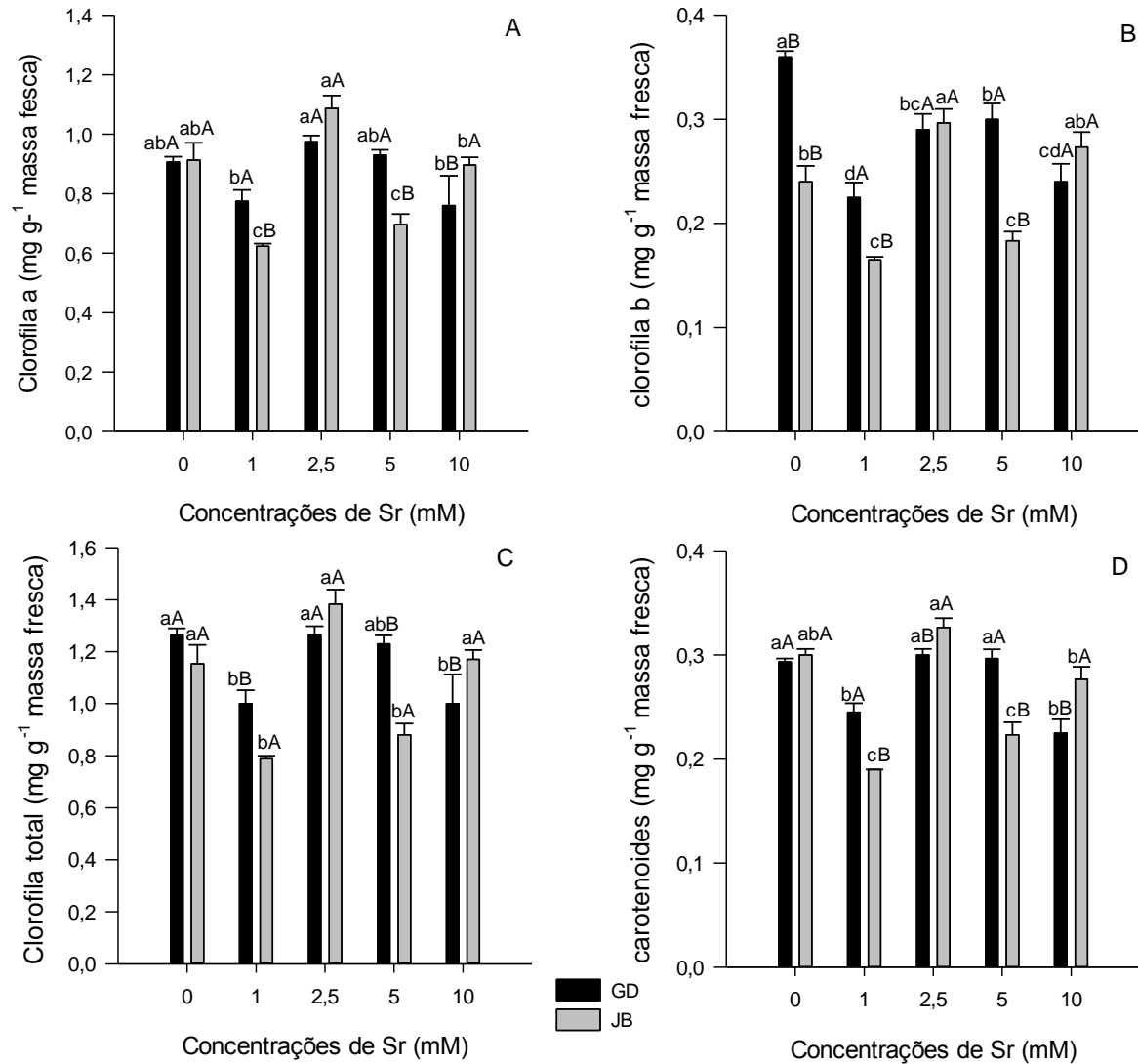
No presente trabalho, o efeito negativo do Sr tornou-se mais pronunciado quando as plantas foram submetidas às maiores concentrações do elemento, porém houve distinção entre os acessos. O acesso GD apresentou redução das variáveis nas maiores concentrações de Sr, enquanto o JB pouco alterou seus parâmetros fotossintéticos. Ainda assim, para o acesso GD, observou-se que a concentração intermediária de Sr é benéfica, aumentando as variáveis fotossintéticas das plantas. A variação na resposta dos acessos de *Pffafia glomerata* encontrados neste estudo, pode ser devido a presença de diferentes mecanismos de tolerância, os quais podem estar associados à fotossíntese e outros processos. O aumento da concentração de Sr pode ter causado danos ao aparelho fotossintético do acesso GD, principalmente na maior concentração do elemento (10 mM), onde a taxa de assimilação líquida de CO₂, condutância estomática, concentração interna de CO₂, taxa transpiratória e eficiência de carboxilação da rubisco foram fortemente inibidas, enquanto o JB praticamente não alterou as variáveis com o aumento do Sr.

4.3.4 Parâmetros bioquímicos

4.3.4.1 Concentração de pigmentos nos tecidos vegetais

As concentrações de clorofilas *a* e clorofilas *b*, clorofilas totais e carotenoides do acesso GD diminuíram significativamente na maior concentração de Sr (10 mM) em comparação ao tratamento controle (Figura 6A, 6B, 6C e 6D). O acesso JB apresentou maior acúmulo de clorofilas na concentração 2,5 mM quando comparado ao controle. Observou-se também que em 1 mM de Sr as concentrações de clorofilas *a* e *b*, clorofilas totais e carotenoides foram menores que no tratamento controle, para ambos os acessos. No geral, o acesso JB apresentou maior concentração de pigmentos quando submetido a 10 mM de Sr, já o acesso GD teve melhor desempenho em 1 e 5 mM de Sr.

Figura 6 - Concentração de Clorofila *a*, Clorofila *b*, Clorofila total e carotenoides em dois acessos de *Pffafia glomerata* (GD e JB) cultivadas em solução nutritiva contendo diferentes concentrações de Sr (0, 1, 2,5, 5 e 10 mM L⁻¹). Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem na comparação entre concentrações de Sr na comparação entre tratamentos; médias seguidas pela mesma letra maiúscula não diferem na comparação entre acessos em cada concentração de Sr, pelo teste de Tukey(p≤0,05)



Concentrações superiores a 2 mM de Sr em plantas de *Amaranthus caudatus* ocasionaram diminuição de mais 50% de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofilas totais e carotenoides, comparado ao tratamento controle (VENKATACHALAM et al., 2016). Chen et al. (2012) e Sowa et al. (2014) também observaram diminuição dos pigmentos em soja (*Glycine max* (L.) Merr) e colza (*Oilseed Rape*). Portanto, uma vez que, o Sr entra pela raiz, ele pode ser translocado das raízes até as folhas, o que acaba afetando a relação de concentração clorofila *a/b* e as concentrações de Mg e Ca nos tecidos vegetais (MOYEN; ROBLIN, 2010).

No geral, a diminuição das concentrações de clorofila *a*, clorofila *b* e clorofilas totais são comuns na presença de metais pesados, a qual é devido a fatores como diminuição na síntese de clorofilas, inibição direta de enzimas, exclusão competitiva de alguns nutrientes ou ainda a degradação da clorofila pela formação de radicais de oxigênio reativos (VAN ASSCHE; CLIJSTERS, 1990; PINTO et al., 2000; ADRESS et al., 2015; MORSCH et al., 2002).

A presença de alguns metais causa a diminuição da concentração de minerais importantes como o Ca e Mg nas folhas (PAIVA et al., 2001; SANDALIO et al., 2001). Este mesmo comportamento pode ser visto em relação ao Sr onde pode ser observado uma diminuição da concentração do Mg nas folhas, em virtude da competição ou antagonismo entre esses íons (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2001; HE et al., 2012; MARSCHNER, 2012). Sendo assim, uma vez que o Mg é parte integrante das moléculas de clorofilas, a sua baixa concentração nos tecidos vegetais poderá afetar a síntese de clorofila (STREIT et al., 2005; EPSTEIN; BLOOM, 2006), o que reflete em uma menor concentração de clorofilas (HE et al., 2012).

Por sua vez, a redução da concentração de Ca devido ao excesso de Sr pode interferir na evolução do oxigênio no fotossistema II (FSII) (CHARLES E YOCUM, 2013), pois o Ca é referido como cofator para transferência de elétrons (GHANOTAKIS et al., 1984; LOHMILLER et al., 2012). O sítio ativo para a oxidação da água no fotossistema II passa por cinco estados de oxidação (S_0 a S_4) sequenciais antes que o O_2 seja liberado (JOLIOT; KOK, 1975; ISHIDA et al., 2008). Uma vez que, o Ca é requerido durante a transição da S_1 para o S_2 (POLANDER; BARRY, 2013) a evolução do O_2 fica comprometida, ainda que como referido por Ghanotakis et al. (1984), o Sr consegue substituir em baixa proporção o Ca (cerca de 40% da taxa normal) (CINCO et al., 1998). No entanto, Boussac et al. (2004) observaram em *Thermosynechococcus elongatus* que o Ca podia ser completamente substituído por Sr. Sendo assim, há indícios que a substituição do Ca pelo Sr seja dependente da espécie e aos seus mecanismos de tolerância.

Ainda cabe mencionar que em espécies arbóreas tolerantes aos metais pesados como *Populus alba* e *Populus x canadenses*, as concentrações de clorofila *a*, clorofila *b* e clorofilas totais aumentaram na presença de Cu (BORGHI et al., 2008), assim como ocorreu no presente estudo na concentração de 2,5 mM de Sr para os carotenoides no acesso JB. O aumento das concentrações de carotenoides

em plantas sobre condições de estresse abiótico, normalmente ocorre como forma de defesa, buscando diminuir os danos causados pela peroxidação lipídica. Os carotenoides atuam como antioxidantes e amenizadores dos efeitos causados por estresse abióticos (CARDOSO, 1996; MATOS, 2001).

Em ambos os acessos de *Pfaffia glomerata* a concentração de 1 mM de Sr causou menor acúmulo de pigmentos. Isso pode ter ocorrido devido ao efeito de diluição, causado pela hormese (CALABRESE; BALDWIN, 2009).

4.3.4.2 Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) e concentrações de H₂O₂ e malondialdeído (MDA)

No geral, na presença de 5 e 10 mM de Sr, a parte aérea do acesso GD apresentou aumento na atividade da SOD e concentrações de H₂O₂ e MDA (Figura 7A, 7B e 7C). Já para o acesso JB, somente em 2,5 mM de Sr a concentração de H₂O₂ aumentou, mas esse comportamento não foi observado para a SOD e MDA.

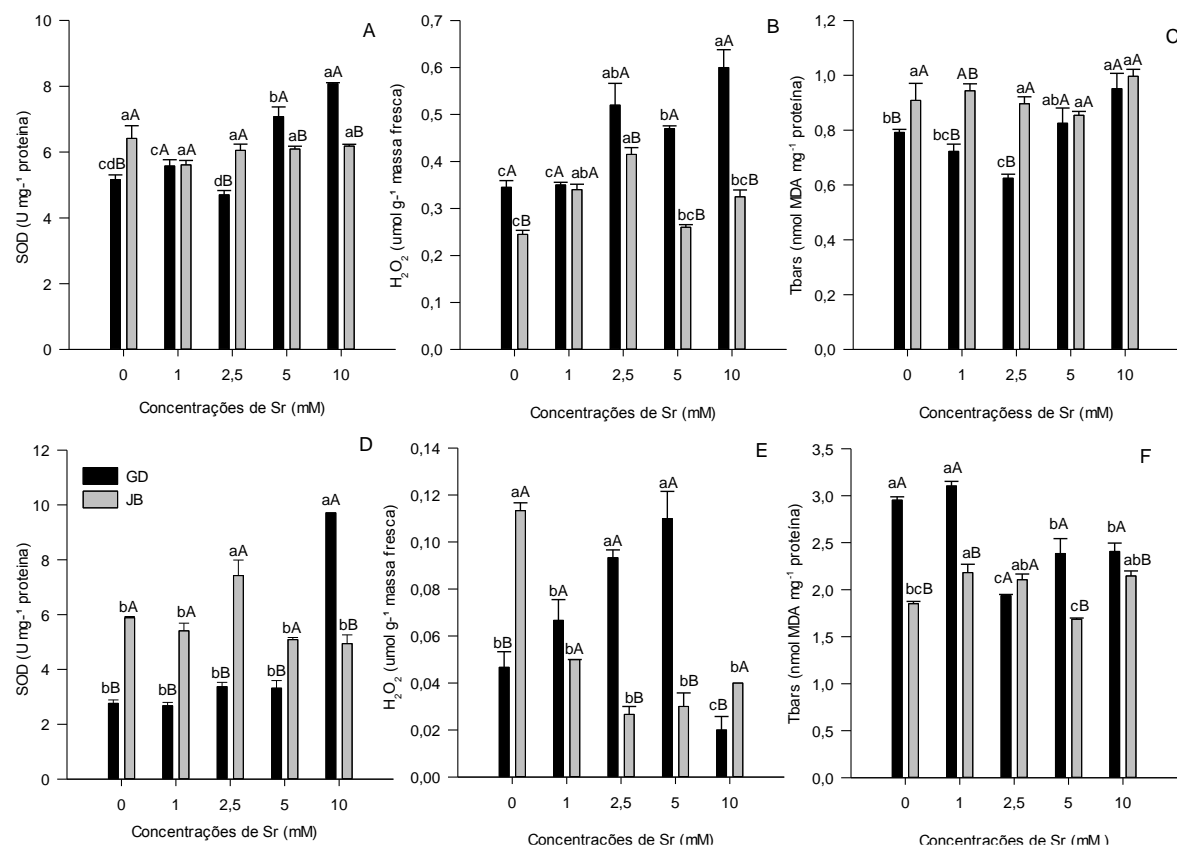
As raízes do acesso GD apresentaram aumento da atividade da SOD na maior concentração de Sr (Figura 7D). A concentração de H₂O₂ aumentou nas concentrações até 5 mM de Sr, seguida de uma redução na maior concentração de Sr (Figura 7E). Já a concentração de MDA do acesso GD apresentou diminuição, quando comparado ao controle (Figura 7F). No acesso JB, o tratamento de 2,5 mM de Sr apresentou maior atividade da SOD que nas demais concentrações de Sr (Figura 7D). A concentração de H₂O₂ diminuiu à medida que aumentaram as concentrações de Sr (Figura 7E) e a concentração de MDA aumentou nas concentrações de 1, 2,5 e 10 mM de Sr, quando comparada ao controle (Figura 7F).

A atividade da SOD e concentrações de H₂O₂ e MDA nas raízes (Figura 7D, 7E e 7F) foram maiores do que àquelas encontradas nas folhas (Figura 7A, 7B e 7C), chegando a ser três vezes no caso de MDA (Figura 7C e 7F).

Entre os acessos, observou-se que a parte aérea do acesso JB apresentou menor concentração de H₂O₂ do que o acesso GD (Figura 7B). Para a SOD, o acesso GD apresentou maior atividade do que o acesso JB nas maiores concentrações de Sr (Figura 7A) e a concentração de MDA diferiu apenas nas concentrações mais baixas de Sr (Figura 7C). Já para as raízes, observou-se que o acesso GD apresentou maior concentração de H₂O₂ do que o acesso JB. A atividade da SOD, no geral, apresentou diferença significativa entre os acessos onde, o

acesso JB apresentou as maiores atividades, exceto em 10 mM de Sr que o acesso GD apresentou a maior atividade. A concentração de MDA, no geral, apresentou os maiores valores no acesso GD do que o acesso JB.

Figura 7 - Atividade da Superóxido Dismutase (SOD), concentração de Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2) e MDA avaliados na parte aérea (A, B, e C) e raízes (D, E e F) em dois acessos de *Pffafia glomerata* (GD e JB) cultivadas em solução nutritiva contendo diferentes concentrações de Sr (0, 1, 2,5, 5 e 10 mM L⁻¹). Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem na comparação entre concentrações de Sr; médias seguidas pela mesma letra maiúscula não diferem na comparação entre acessos em cada concentração pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).



Diversos mecanismos são utilizados para impedir danos causados pela produção de espécies reativas de oxigênio (EROS). Esses mecanismos ocorrem através de enzimas capazes de detoxificar, como é o caso da dismutase do superóxido (SOD), peroxidase do ascorbato (APX), catalase (CAT) e peroxidase do guaiacol (GPX) (ADRESS et al., 2015).

A regulação da atividade da SOD parece ser muito sensível às mudanças ambientais, presumivelmente como consequência do aumento da formação de EROs, já que a SOD é a primeira enzima que atua no processo de detoxificação do radical superóxido (O_2^-) à peróxido de hidrogênio (GILL; TUTEJA 2010).

O nível de peroxidação das membranas ou peroxidação lipídica é utilizado como referência bioquímica para determinar a magnitude do estresse oxidativo. Esse parâmetro é mensurado através da concentração de malondialdeído (MDA) nos tecidos vegetais (ASLAM et al., 2014; CASSIMIRO et al., 2015). Portanto, o aumento da concentração de MDA nos tecidos indica estresse oxidativo em lipídios, proteínas e DNA (DEL RIO et al., 2005), resultando assim diminuição no crescimento das plantas. Dan et al. (2015) observaram aumento da concentração MDA em *Amaranthus mangostanus* L. submetido a tratamentos crescentes de Sr. Este mesmo comportamento foi observado por Yang et al. (2011) e Aslam et al. (2014), onde as concentrações de MDA e SOD também foram afetadas pela presença de metais pesados como o Cd e Zn.

O acesso GD na parte aérea apresentou concentração de MDA mais baixa, podendo isso estar relacionado a uma ação conjunta entre os carotenoides e SOD, diminuindo a peroxidação lipídica e atuando eficientemente na destoxificação. Observou-se que à medida que a atividade da SOD aumentou a concentração de MDA diminuiu. Esse resultado pode ser explicado pela ação antioxidante de outras peroxidases ou mecanismos antioxidantes não enzimáticos, pois as concentrações de MDA foram menores nos tratamentos onde as plantas apresentaram maior concentração de carotenoides (Figura 6D). O acesso JB, apesar da alta concentração de H₂O₂, demonstrou ser capaz de destoxificar eficientemente as ERO, justificando porque as concentrações de MDA não aumentaram, mesmo sobre concentrações elevadas de Sr.

A maior atividade da enzima SOD e das concentrações de H₂O₂ e MDA na raiz do que na parte aérea ocorreu, possivelmente, pela distribuição desigual do metal nos tecidos vegetais (TSUKADA et al., 2005). Tem sido relatado que cada espécie acumula distintamente os metais em seus tecidos. A acumulação de altas concentrações na parte aérea, ao invés das raízes, é característica de espécies bioacumuladoras (alto fator de translocação). Espécies acumuladoras de metal apresentam fator de translocação superior a 1, já espécies de exclusão de metal, esse fator são tipicamente inferiores a 1 (Zu et al., 2005). Sendo assim, algumas plantas apresentam maior concentração de Sr na parte aérea em relação às raízes (TYLER; OLSSON, 2001; SU et al., 2007; SINGH et al., 2008; SASMZ; SASMZ, 2009; LUKSIENE et al., 2013). Eapen et al. (2006), Chen et al. (2012) e Moyen; Roblin (2010) relatam em seus trabalhos que o maior acúmulo de Sr ocorreu nas

raízes. O maior acúmulo de Sr nas raízes em comparação à parte aérea está associado aos mecanismos de defesa de cada espécie, bem como, no controle rigoroso da entrada do elemento no xilema (EAPEN et al., 2006). A presença de atividade da SOD e a alta concentração de H_2O_2 e MDA nas raízes pode ser devido ao Sr estar em maior concentração nas raízes do que na parte aérea. Em plantas de *Lemna Minor* sob o efeito de Sr^{90} , observou-se baixa atividade da SOD, contrariando ser a primeira linha de defesa das plantas, e apresentou maior atividade na APX, CAT e POD (VAN HOECK et al., 2015). Contraditoriamente, em *Stipa capillata* com Sr^{85} a atividade da SOD foi aumentada e das demais enzimas como a APX, CAT e POD não apresentaram atividade (ZAKA et al., 2002). Já parte aérea de *Amaranthus mangostanus L.* observou-se que a atividade da SOD aumentou e depois diminuiu à medida que se aumentou a concentração de Sr. Comportamento semelhante foi observado em plantas de *Pfaffia glomerata* quanto ao aumento da peroxidação lipídica e da atividade da SOD em raízes e parte aérea na presença de Pb (GUPTA et al., 2013).

No geral, as plantas submetidas a concentrações crescentes do Sr tiveram o seu crescimento afetado negativamente, sugerindo a sensibilidade da espécie ao metal.

4.4 CONCLUSÕES

O excesso de Sr alterou os parâmetros de crescimento, fisiológicos e bioquímicos em plantas de *Pfaffia glomerata* em ambos os acessos estudados. Entretanto, o acesso JB é mais tolerante ao excesso de Sr do que o acesso GD, sugerindo a existência de diversidade genética entre os acessos de *P. glomerata*.

4.5 REFERÊNCIAS

- ACCIOLY, A. M. A. et al. Amenização do calcário na toxidez de zinco e cádmio para mudas de *Eucalyptus camaldulensis* cultivadas em solo contaminado. **Rev. Bras. de ciência do solo**, v.28, p.775-783, 2004.
- ADREES, M. et al., The effect of excess copper on growth and physiology of important food crops: a review. **Environ. Sci. and Pollution Research**. v. 22, n.11, p. 8148-8162, 2015.
- ANJUM, N. A. et al. Metal/metalloid stress tolerance in plants: role of ascorbate, its redox couple, and associated enzymes. **Protoplasma**, n. 251, v. 6, p. 61265-1283, 2015.
- ARDUINI, I.; GODBOLD, D.L.; ONNIS, A. Influence of copper on root growth and morphology of *Pinus pinea* L. and *Pinus pinaster* Ait. seedlings. **Tree Physiology**, n. 15, p. 411-415, 1995.
- ASLAM, R. et al. Genotoxic Effects of Heavy Metal Cadmium on Growth, Biochemical, Cyto-Physiological Parameters and Detection of DNA Polymorphism by RAPD in *Capsicum Annuum* L. – An Important Spice Crop of India. **Saudi J. of Biological Sciences** v. 21, n. 5, p. 465–472, 2014.
- BARBOSA, P. S. Influência do cádmio em parâmetros bioquímicos e de crescimento de nabiças (*Brassica rapa*) (**Dissertação de mestrado**) Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Alimentar. Lisboa, 2011
- BARCELÓ J.; POSCHENRIEDER C. Plant water relations as affected by heavy metal stress: A review. **J. Plant Nutr.**, v.13 p. 1–37, 1990.
- BERNARDY, K. et al. Changes in root morphology and dry matter production in *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen accessions in response to excessive zinc. **Rev. Bras. plantas med.**, Botucatu, v. 18, n. 2, supl. 1, p. 613-620, 2016.
- BORGHI, M. et al. Responses of two poplar species (*Populus alba* and *Populus canadensis*) to high copper concentrations. **Environ. and Experimental Botany**. v. 62, n. 3, p. 290-299, 2008.
- BOSE, J. et al. Calcium efflux systems in stress signaling and adaptation in plants. **Front. Plant. Sci.** v. 2, p. 85, 2011.
- BOUSSAC, A. et al. Biosynthetic $\text{Ca}^{2+}/\text{Sr}^{2+}$ exchange in the photosystem II oxygen-evolving enzyme of *Thermosynechococcus elongatus*. **J. of Biological Chemistry**, v. 279, n. 22, p. 22809-22819, 2004.
- BRACCINI, M. C. L.; MARTINEZ, H. E. P.; BRACCINI, A. L. et al. Avaliação do pH da rizosfera de genótipos de café em resposta à toxidez de alumínio no solo. **Bragantia**, Campinas, v. 59, n. 1, p. 83-88, 2000.

BRUNETTO, G. et al. Anatomia de raízes de videiras jovens submetidas a doses de cobre e de calcário. **Anais.. XXXV Congresso Brasileiro de Ciencia dos solos.**

CALABRESE, E. J.; BLAIN, R. The occurrence of hormetic dose responses in the toxicological literature, the hormesis database: An overview. **Toxicology and Applied Pharmacology.** v. 202, n. 3, p. 289–301, 2005.

CALGAROTO, N. S. et al. Nutritional disorder in *Pfaffia glomerata* by mercury excess in nutrient solution. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 46, n. 2, p. 279-285, 2016.

CARDOSO, S. L. Fotofísica de carotenoides e o papel antioxidante do β -caroteno. **Química nova**, v. 20, n. 5, 1997.

CASSIMIRO, J. C.; SOUZA, S. R.; MORAES, R. M. Trocas gasosas e injúrias foliares visíveis em plantas jovens de *Astronium graveolens Jacq.* fumigadas com ozônio. **Hoehnea**, São Paulo, v. 42, n. 4, p. 687-694, 2015.

CINCO, R. M. et al. Strontium EXAFS Reveals the Proximity of Calcium to the Manganese Cluster of Oxygen-Evolving Photosystem II. **J. Phys. Chem. B.**, v. 102, n. 42, p. 8248-8256, 1998.

CHEN, M. et al. Effects of Strontium on Photosynthetic Characteristics of *Oilseed Rape* Seedlings. **Russian J. of Plant Physiology**, v. 59, p. 772–780. 2012.

CHANCE. B.; MAEHLI, A.C, Assay of catalase and peroxidase. **Meth. Enzymol.** n. 2, p. 764-775, 1955.

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

CORREA JR, C.; MING, L. C.; CORTEZ, D. A. G. Aspectos gerais da espécie Fáfia (*Pfaffia glomerata Pedersen*) e recomendações técnicas para seu cultivo. **No prelo**, 2002.

DAN. W. et al. Phytoextraction Ability of *Amaranthus mangostanus* L. from Contaminated Soils with Cs or Sr. **J. Bioremed Biodeg.**, v. 6, n. 277, 2015.

DEL RIO, D.; STEWART, A.J.; PELLEGRINI, N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. **Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases** v. 15, p. 316–328, 2005.

EAPEN, S. et al. Phytoremediation of radiostrontium (90 Sr) and radiocesium (137 Cs) using giant milky weed (*Calotropis gigantea R. Br.*) plants. **Chemosphere.** v. 65, n. 11, p. 2071-2073, 2006.

ELLOUMI, N. et al. Cadmium induced growth inhibition and alteration of biochemical parameters in almond seedlings grown in solution culture. **Acta Physiol. Plant.** n. 29, p. 57–62, 2007.

EL-MOSHATY, F. I. B. et al. Lipid peroxidation and superoxide production in cowpea (*Vigna unguiculata*) leaves infected with tobacco ringspot virus or southern bean mosaic virus. **Physiol. Mol. Plant Pathol.** v. 43 p. 109-119, 1993.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A.J. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas.** Londrina: Editora Planta, 2006. 403p.

FERREIRA, Daniel Furtado. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

GHANOTAKIS, D. F., G. T. BABCOCK, AND C. F. YOCUM. Calcium reconstitutes high rates of oxygen evolution in polypeptide depleted photosystem II preparations. **FEBS Letters**, v. 167, n. 1, p.127–130, 1984.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K., Superoxidedismutase I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiol.** v. 59, p. 309–314, 1977.

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

GILROY, S., READ, N.D., AND TREWAVAS, A.J. Elevation of Cytoplasmic Calcium by Caged Calcium or Caged Inositol Triphosphate Initiates Stomatal Closure. **Nature**, v. 346, p. 769–771, 1990.

GODBOLD, D.L.; KENTTNER, C. Lead influences root growth and mineral nutrition of *picea abies* seedlings. **J. Plant Physiol.** v.139, p.95-99, 1991.

GOMES, M. P. et al. Efeitos dos rejeitos da indústria de zinco na anatomia e crescimento de plantas jovens de *Salix humboldtiana* Willd. (Salgueiro). **Hoehnea**. v. 38, n. 1, p. 135-142, 2011.

GOMES, M. P. et al., Cadmium effects on mineral nutrition of the Cd-hyperaccumulator *Pfaffia glomerata*. **Versita**. v. 68, n. 2, p. 223-230, 2013.

GONCALVES, J. F. et al. Crescimento *in vitro* de plântulas de batata em diferentes doses de cádmio. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 9, p. 2625-2628, 2009.

GRAZZIOTTI, P. H. **Comportamento de fungos ectomicorrízicos, Acacia mangium e espécies de Pinus e Eucalyptus em solo contaminado por metais pesados.** Lavras, Universidade Federal de Lavras, 1999. 177p. 1999. Tese de Doutorado. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

GUIMARÃES, M. A.; SANTANA, T. A.; SILVA, E. V. et al. Toxicidade e tolerância ao cádmio em plantas. **Rev. Tropica – Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadinha, v.1, p.56-66, 2008.

GUPTA, D. K., et al. Lead induced responses of *Pfaffia glomerata*, an economically important Brazilian medicinal plant, under in vitro culture conditions. **Bulletin of environ. contamination and toxicology**. v. 86.3, p. 272-277, 2011.

GUPTA, D. K., et al., Effect of Hg, As and Pb on biomass production, photosynthetic rate, nutrients uptake and phytochetin induction in *Pfaffia glomerata*. **Ecotoxicology**, v. 22, p. 1403–1412, 2013.

HALL, J. L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. **J. of Experimental Botany**, Oxford, v.56, n.366, p.1–11, 2002.

HE, H. et al. Precipitation of calcium, magnesium, strontium and barium in tissues of four *acácia* species (Leguminosae: Mimosoideae). Ed. Jerome Chave. **PLoS ONE**, v. 7, n. 7, 2012.

HISCOX, J.D.; ISRAELSTAM, G. F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian J. of Botany**, v.57, n. 12, p.1132-1334, 1979.

ISERMANN, K. Uptake of stable strontium by plants and effects on plant growth, in **Handbook of stable strontium**, (ed. S. C. Skoryna), 65-86, Plenum Press, New York, 1981.

ISHIDA, N. et al. Biosintética troca de brometo para cloreto e estrôncio para cálcio no fotosistema II enzimas que evoluem o oxigênio. **J. of Biological Chemistry**, v. 283, n. 19, p. 13330-13340, 2008.

JOHN, R. et al. Heavy metal toxicity: Effect on plant growth, biochemical parameters and metal accumulation by *Brassica juncea* L. **International J. of Plant Production**, v. 3, n. 3, p. 65-76, 2009.

JOLIOT, P.; KOK, B. Oxygen evolution in photosynthesis. In Bioenergetics of Photosynthesis. **Govindjee**, editor. Academic Press, New York. 388–412, 1975.

JUSSELINO-FILHO P. **Hormese: um pouco de algo perigoso pode ser bom!?**. (2002). 71p. Tese (Doutorado em Entomologia). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2002.

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

KABATA-PENDIAS, A. Soil-plant transfer of trace elements-an environmental issue. **Geoderma**, v. 122, p. 143-149, 2004.

KOEPPE D. E., Lead: understanding the minimal toxicity of lead in plants, in: Lepp N.W. (Ed.), **Effect of Heavy Metal Pollution on Plants**, vol. 1, Effects of Trace Metals on Plant Function, Appl. Sci. Publ. London and New Jersey, p. 55–76, 1981.

KOZHEVNIKOVA, A. D. et al. Effects of Heavy Metals and Strontium on Division of Root Cap Cells and Meristem Structural Organization. **Russ. J. Plant Physiol.** v.54, p. 257–266, 2007.

LICHTENTHALER, H.K. Chlorophylls and carotenoids–pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, v.148, p.350-382, 1987.

LIMA, F. S. et al. Bioconcentração de chumbo e micronutrientes em hortaliças cultivadas em solo contaminado. **Rev. Ciência Agronômica**, v. 44, n. 2, p. 234-241, 2013.

LOPES, C. **Acúmulo de cádmio e crescimento de plantas de agrião, chicória e rúcula cultivadas em Argissolo Vermelho-Amarelo.** 2015. 91 p. Tese (Doutorado em Manejo do Solo), Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC, 2015.

LORETO, F.; VELIKOVA, V. Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes. **Plant Physiology**, v. 127, n. 4, p. 1781-1787, 2001.

LUKSIENE, Z.; BUCHOVEC, I.; VISKELIS, P. Impact of high-power pulsed light on microbial contamination, health promoting components and shelf life of strawberries. **Food Technology and Biotechnology**, v. 51, n. 2, p. 284, 2013.

MACEDO, L.S.; MORRIL, W.B.B. Origem e comportamento dos metais fototóxicos: revisão da literatura. **Tecnol. & Ciên. Agropec.**, v. 2, p. 29-38, 2008.

MALDANER, J. et al. Aluminum accumulation in two *Pfaffia glomerata* genotypes and its growth effects. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 6, p. 1013-1020, 2015.

MANFREDINI, D. **Cálcio e boro para soja perene: características agronômicas e agronômicas e concentração de nutrientes.** 2008. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Solos e nutrição de plantas), Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, São Paulo, Piracicaba, SP, 2008.

MARQUES, T. C. L. L. S. M. **Respostas anatômicas e fisiológicas de *Pfaffia glomerata* e *Eucalyptus camaldulensis* ao cádmio.** 2007. 118 p. Tese (Doutorado em agronomia – fisiologia vegetal). Univesidade de Lavras, Lavras, MG, 2007.

MARQUES, D. M. **Morfofisiologia de espécies arbóreas expostas ao cobre.** 2016. 76 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais). Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2016.

MARCHIORETTO, M.S.; MIOTTO, S.T.S.; SIQUEIRA, J.C. **O gênero *Pfaffia* Mart. (Amaranthaceae) no Brasil.** Hoehnea, v. 37, n. 3, p. 461-511, 2010.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants.** 3.ed London: Elsevier, 2012. 643p.

MATOS, H. R. **Efeito protetor de carotenoides em peroxidação, danos oxidativos em DNA e lesões histológicas induzidas pelo ferro.** 2001. 151 p. Tese (Doutorado em Ciências – bioquímica). Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2001.

MAZEN, A. EL MAGHRABY, O. Accumulation of cadmium, lead and strontium, and a role of calcium oxalate in water hyacinth tolerance. **Biol. Plantarum.** v. 40, p. 411–417, 1997.

MISRA, Hara P.; FRIDOVICH, Irwin. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **J. of Biol. Chem.**, v. 247, n. 10, p. 3170-3175, 1972.

MORSCH, V.M. et al. Effects of cadmium, lead, mercury and zinc on 8-aminolevulinic acid dehydratase activity from radish leaves. **Biol. Plant.** v. 45, p. 85–89, 2002.

MOYEN, C.; ROBLIN, G. Uptake and translocation of strontium in hydroponically grown maize plants, and subsequent effects on tissue ion content, growth and chlorophyll a/b ratio: Comparison with Ca effects. **Environ. Exp. Bot.** 68, p. 247–257, 2010

MOYEN, C.; ROBLIN, G. Occurrence of interactions between individual Sr²⁺ and Ca²⁺ effects on maize root and shoot growth and Sr²⁺, Ca²⁺ and Mg²⁺ contents, and membrane potential: Consequences on predicting Sr²⁺ impact. **J. of Hazardous Materials**, v. 260, p. 770–779, 2013.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physio. Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.

NASCIMENTO, E. X. et al. Produção de biomassa de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen e *Plantago major* L. em cultivo solteiro e consorciado. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 31, n. 3, p. 724-730, 2007 .

NAVA, E. C. **Estratégias de avaliação e herança da tolerância ao alumínio em linhagens recombinantes de aveia (*Avena sativa* L.).** Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005. 102 p. (Tese de Mestrado em Fitotecnia).

NEIS, F. A. **Interações de cobre e fósforo em acessos de *Pfaffia glomerata* (SPRENG.) pedersen: efeito no crescimento e rendimento de β-ecdisona.** Dissertação (Mestrado em Agrobiologia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2013.

NICOLOSO F. T. et al. Micropropagação de ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen). **Rev. Bras. de Plantas Medicinai**s, Botucatu, v.3, n.2, p.11-18, 2001.

PAIVA, H. N.; CARVALHO, J. G.; SIQUEIRA, J. O. Efeito da aplicação de cádmio sobre o teor de nutrientes em mudas de cedro (*Cedrela fissilis* Vell.). **Ciência Florestal**, v. 11, p. 153-162, 2001.

PEREIRA, A. S. **Selênio e silício como amenizadores da toxicidade do cádmio em plantas de *Pfaffia glomerata* (SPRENG.) Pedersen**. 2016. 86 p. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2016.

PEREIRA-NETTO, A. B. Crescimento e desenvolvimento. In: WACHOWICZ, C. M.; CARVALHO, R. I. N. (Eds.) **Fisiologia vegetal - produção e pós-colheita**. Curitiba: Champagnat, 2002. p. 17-42.

PINTO, E. et al. Peridinin as the major biological carotenoid quencher of singlet oxygen in *Gonyaulax polyedra*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 268, p. 496–500, 2000.

POLANDER, B. C.; BARRY, B. A. Detection of an intermediary, protonated water cluster in 478 photosynthetic oxygen evolution, **Proc. Natl. Acad. Sci.** v. 4, p. 3356–3362 (2013).

PRADO, R. M.; NATALE, W. Calagem na nutrição de cálcio e no desenvolvimento do sistema radicular de goiabeira. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.39, n.10, p.1007-1012, out. 2004

RITCHEY, K. D.; SILVA, S. E.; COSTA, V. F. Calcium deficiency in clayey B horizons of savannah Oxisols. **Soil Science**, Baltimore, v. 133, p. 378-382, 1982.

RUCINSKA, R.; WAPLAK, S.; GWÓZDZ, E.A. Free radical formation and activity of antioxidant enzymes in lupin roots exposed to lead. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 37, p. 187-194, 1999.

SANDALIO, L. M. et al. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. **J. of Experimental Botany**, Oxford, v. 52, n. 364, p. 2115-2126, 2001.

SASMZ, A; SASMZ, M. The phytoremediation potential for strontium of indigenous plantas growing in a mining área. **Environ. Exp. Bot.** n. 67, p. 139-144, 2009.

SEREGIN, I. V.; IVANOV, V. B. Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 48, n. 4, p. 523-544, 2001.

SEREGIN, V.; KOZHEVNIKOV, A. D. Strontium Transport, Distribution, and Toxic Effects on Maize Seedling Growth. **Russian J. of Plant Physiology**, v.51, p 215–221, 2004.

SEREGIN, V.; KOZHEVNIKOV, A. D. Distribution of Cadmium, Lead, Nickel, and Strontium in Imbibing Maize Caryopses. **Russian J. of Plant Physiology**, v.52, p. 565–569, 2005.

SHEETAL, KR, SINGH, SD, ANAND, A. et al. **Ind. J. Plant Physiol.** v. 21, n. 2, p. 219-223, 2016.

SIEDLECKA, A.; Z. KRUPA. Interaction between cadmium and iron and its effects on photosynthetic capacity of primary leaves of *Phaseolus vulgaris*. **Plant Physiology and Biochemistry.** n. 34, v. 6, p. 833-841, 1996.

SILVA, J. A. G., et al. Absorção de cálcio e magnésio por cultivares de aveia submetidas a níveis de toxidez por alumínio. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 6, s. 1, p. 3563-3576, 2013.

SILVA, R. F. et al. Tolerância de mudas de Canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.) inoculada com *Pisolithus microcarpus* a solo com excesso de cobre. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 20, n. 1, p. 147-156, 2010.

SILVA, R. C. B; SCARAMUZZA, W. L. M. P.; SCARAMUZZA, J. F. Sintomas de deficiências nutricionais e matéria seca em plantas de Nim, cultivadas em solução nutritiva. **Cerne**, Lavras, v. 17, n. 1, p. 17-22, 2011. a

SILVA, R. F. et al. influência da contaminação do solo por cobre no crescimento e qualidade de mudas de Açoita-cavalo (*Luehea divaricata* Mart. & Zucc.) E Aroeira-Vermelha (*Schinus therebinthifolius* Raddi). **Ciência Florestal**. Santa Maria, v. 21, n. 1, p. 111-118, 2011. b

SINGH, S. et al. Phytoremediation of 137 cesium and 90 strontium from solutions and low-level nuclear waste by *Vetiveria zizanoides*. **Ecotoxicology and environ. safety.** v. 69, n. 2, p. 306-311, (2008).

SIQUEIRA, J. C. Considerações taxonômicas sobre as espécies brasileiras do gênero *Pfaffia*. **Acta Biologica Leopoldensia.** v. 10, n. 2, p. 269-278, 1988.

SKREBSKY, E. C. et al. Effect of cadmium on growth, micronutrient concentration, and δ-aminolevulinic acid dehydratase and acid phosphatase activities in plants of *Pfaffia glomerata*. **Braz. J. Plant Physiol.** Londrina, v. 20, n. 4, p. 285-294, 2008.

STREIT, N. M. et al. As clorofilas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 3, p. 748-755, 2005.

SULTAN, S. E.; BAZZAZ, F. A. Phenotypic Plasticity in *Polygonum persicaria*. III The Evolution of Ecological Breadth For Nutrient Environment. **Evolution.** n. 47, v. 4 p. 1050-71, 1993.

SOUZA, E. P. et al. Mecanismos de tolerância a estresses por metais pesados em plantas. **Rev. Bras. de agrocência**, Pelotas, v.17, n.2-4, p.167-173, 2011.

SOWA, I. et al. Analysis of compounds with phytoestrogenic activity in dietary supplements with use of HPTLC-densitometry method. **Acta Pol. Pharm.** v. 71, p. 265–269, 2014.

SU, Yi et al. Effect of bioaccumulation of Cs and Sr natural isotopes on foliar structure and plant spectral reflectance of Indian mustard (*Brassica juncea*). **Water, air, and soil pollution**, v. 180, n. 1-4, p. 65-74, 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.

TENNANT, D. Atest of a modified line intersect method of estimating root length. **J. of Ecology**, v.63, p.995-1001, 1975.

TIECHER, T. L. et al. Physiological and nutritional status of black oat (*Avena strigosa Schreb.*) grown in soil with interaction of high doses of copper and zinc. **Plant Physiology and Biochemistr**. v. 106, p. 253-263, 2016.

TYLER, G.; OLSSON. T. Concentrations of 60 elements in the soil solution as related to the soil acidity. **European J. of Soil Science**. v. 52, p. 151–165, 2001.

TSUKADA, H. et al., Uptake and distribution of Sr and stable Sr in rice plants. **J. of Environ. Radioactivity**. v. 81, n. 2, p. 221-231, 2005.

VAN ASSCHE, F., & CLIJSTERS, H. Effects of metals on enzyme activity in plants. **Plant, Cell and Environ**. n. 13, p. 195–206, 1990.

VAN HOECK, A. et al. β -Radiation Stress Responses on Growth and Antioxidative Defense System in Plants: A Study with Strontium-90 in *Lemna minor*. Cuypers A, ed. **International J. of Molecular Sciences**. v. 16, n.7, p. 15309-15327, 2015.

VENKATACHALAM, R.; KALINGAN, M.; RAJAGOPAL, S. Effect of Metal Stress due to Strontium and The Mechanisms of Tolerating it by *Amaranthus caudatus L.* **Biochem Physiol** v. 5, n. 207, 2016.

WHITE, J. P. Ion Uptake Mechanisms of Individual Cells and Roots: Short-distance Transport. PETRA MARCHER in: **Mineral Nutrition of Higher Plants**. 2012. Third Edition 649 p.

VITTI, G. C.; LIMA, E.; CICARONE, F. Cálcio, Magnésio e Enxofre. In: FERNANDES, M. S., ed. **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 355-374, 2006.

WÓJCIK, M. et al. Cadmium tolerance in *Thlaspi caerulescens*. **Environ. and Experimental Botany**. v. 53, n. 2, p. 163-171, 2005.

YANG, Y. et al. Growth and physiological responses of grape (*Vitis vinífera*). **Acta Physiol. Plantarum**. v. 33, n. 4, p. 1483-1491, 2011.

YOCUM, C. F., Calcium Activation of Photosynthetic Water Oxidation. **Biochim. Biophys. Acta**, v.1059, p. 1–15, 1991.

ZAKA, R.; VANDECASTEELE, C. M.; MISSET, M. T. Effects of low chronic doses of ionizing radiation on antioxidant enzymes and g(6)pdh activities in *stipa capillata* (poaceae). **J. Exp. Bot.** v. 53, p. 1979–1987, 2002.

ZELLER, S.; FELLER, U. Redistribution of Cobalt and Nickel in Detached Wheat Shoots: Effects of Steam-Girdling and of Cobalt and Nickel Supply. **Biol. Plant.**, v. 41, p. 427–434, 1998.

ZELLER, S.; FELLER, U. Long-Distance Transport of Alkali Metals in Maturing Wheat. **Biol. Plant.**, v.43, p. 523–528, 2000.

ZHU, Z. et al. Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt stressed cucumber (*Cucumis sativus L.*). **Plant Science.** v. 167, p. 527–533, 2004.

ZU, Y. Q. et al. Hyperaccumulation of Pb, Zn, and Cd in hervaceous grown on lead-zinc mining area in Yunnan, China. **Environ. International.** v. 31, n. 5, p. 755–762, 2005.

ANEXO A – FOTOS

Acesso GD



Acesso JB

