

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

Ruziele de Quadros Sandri Strauss

**ELEMENTOS BENÉFICOS SOBRE VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS E
BIOQUÍMICAS EM PLANTAS DE *Pfaffia glomerata* (Spreng.)
EXPOSTAS AO ALUMÍNIO**

Santa Maria, RS, Brasil.
2019

Ruziele de Quadros Sandri Strauss

**ELEMENTOS BENÉFICOS SOBRE VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS E
BIOQUÍMICAS EM PLANTAS DE *Pfaffia glomerata* (Spreng.) EXPOSTAS AO
ALUMÍNIO**

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

Orientadora: Prof.^a Dr.^a. Luciane Almeri Tabaldi

Santa Maria, RS, Brasil.
2019

Ruziele de Quadros Sandri Strauss

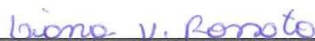
**ELEMENTOS BENÉFICOS SOBRE VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS E
BIOQUÍMICAS EM PLANTAS DE *Pfaffia glomerata* (SPRENG.) EXPOSTAS AO
ALUMÍNIO**

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

Aprovado em 12 de março de 2019:



Prof.^a. Dr.^a. Luciane Almeri Tabaldi (UFSM)
Presidente/Orientadora



Dr.^a. Liana Veronica Rossato (UFSM)
Co-orientadora



Camila Peligrinotti Tarouco, Dr.^a. (UFSM)



Joseila Maldaner, Dr.^a. (DDPA)

Santa Maria, RS
2019

DEDICATÓRIA

Ao meu pai, Romeo Thomáz (*in memoriam*)
por toda dedicação e ensinamentos.
Dedico também a minha mãe Maria Sueli,
meu esposo, meu filho e meus amigos,
as razões por eu nunca querer desistir.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por me conceder força e determinação, para seguir em frente diante dos obstáculos da vida.

À minha família, em especial meus pais, Romeo Thomáz (*in memoriam*) e Maria Sueli, que sempre deram todo suporte para que eu pudesse alcançar meus objetivos. Obrigado por todo apoio, amor, compreensão e por não me deixarem desistir.

Ao meu esposo, Leopoldo que sempre me incentivou e ajudou em todos os momentos necessários.

À minha grande amiga Aniélen, por ter me mostrado o caminho nos momentos difíceis, pela parceria e disponibilidade para o trabalho, sem importar o dia e a hora. E, também pelos bons momentos que passamos juntas.

Agradeço à Prof.^a Luciane Almeri Tabaldi pela orientação, disponibilidade, atenção, ensinamentos durante a realização deste trabalho, e pela compreensão nos momentos difíceis, não medindo esforços para me auxiliar. Agradeço também a Liana Verônica Rossato pela colaboração para a execução dos trabalhos realizados.

Aos amigos e colegas de laboratório Alex, Antônio, Camila C., Camila T., Letícia, Mirian, Mariane, Nassif e Raíssa agradeço o auxílio nos experimentos e análises, agradeço a amizade e todos bons momentos que passamos juntos e que tornaram esse período muito especial.

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

Agradeço também a CAPES por me conceder uma bolsa para realização da presente pesquisa.

EPÍGRAFE

“As nuvens mudam sempre de posição, mas são sempre nuvens no céu. Assim devemos ser todo dia, mutantes, porém leais com o que pensamos e sonhamos; lembre-se, tudo se desmancha no ar, menos os pensamentos”.

(Paulo Beleki)

RESUMO

ELEMENTOS BENÉFICOS SOBRE VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM PLANTAS DE *Pfaffia glomerata* (Spreng.) EXPOSTAS AO ALUMÍNIO

AUTORA: Ruziele de Quadros Sandri Strauss

ORIENTADORA: Luciane Almeri Tabaldi

A associação entre solos ácidos e metais é uma das principais restrições químicas relacionadas ao crescimento das plantas. Entre esses metais está o alumínio (Al), o qual é limitante do crescimento e desenvolvimento das plantas. Nesse sentido, existem elementos que quando utilizados em concentrações baixas podem amenizar os danos causados pelo Al, como o selênio (Se) e o silício (Si). Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a interferência do Se ou do Si sobre os parâmetros fisiológicos e bioquímicos em plantas de *Pfaffia glomerata* cultivadas sob toxicidade do Al. As plantas de *P. glomerata* foram propagadas *in vitro* e em seguida transferidas para o cultivo em vasos com areia e solução nutritiva. Após a aclimação foram adicionadas diferentes concentrações de Al (AlCl_3), Se (Na_2SeO_4) e Si (NaSiO_3), formando os seguintes tratamentos: T1: controle (solução nutritiva completa); T2: 1,85 mM Al; T3: 1,5 mM Si; T4: 1,85 mM Al + 1,5 mM Si; T5: 0,002 mM Se; T6: 1,85 mM Al + 0,002 mM Se. Depois da exposição das plantas aos diferentes tratamentos, foram realizadas coletas em dois períodos, aos 30 e 60 dias, e posteriormente análise das variáveis de crescimento (biomassa seca, altura de plantas, comprimento e densidade de raízes, área foliar, número de folhas) e bioquímicas (peroxidação de lipídios, enzimas antioxidantes, conteúdo de peróxido de hidrogênio e fotossíntese). A toxidez do Al reduziu o comprimento e diâmetro da raiz, porém dos elementos testados apenas o Si conseguiu reverter à ação de toxicidade do Al. Os efeitos do Al foram amenizados pelo Si na parte aérea, de forma significativa aos 30 dias. Da mesma forma, para as variáveis bioquímicas o Si mostrou-se mais eficiente na mitigação do efeito do metal, sendo capaz de estimular a atividade das enzimas antioxidantes e diminuindo a produção de peróxido de hidrogênio. Por outro lado, o Se apresentou efeito de mitigação da ação do Al principalmente nas raízes da *P. glomerata* que é a parte utilizada para a extração de fitomedicamentos. Assim, observou-se que o Si possui efeito benéfico para as plantas, minimizando a toxicidade do Al de forma mais eficaz, podendo ser utilizado para aumentar a qualidade do cultivo desta planta medicinal.

Palavras-chave: Ginseng Brasileiro. Toxicidade. Elementos Benéficos. Crescimento.

ABSTRACT

BENEFICIAL ELEMENTS ON PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL VARIABLES IN *Pfaffia glomerata* (Spreng.) PLANTS EXPOSED TO ALUMINUM

AUTHOR: Ruziele de Quadros Sandri Strauss

ADVISER: Luciane Almeri Tabaldi

The association between acid soils and metal is one of the main chemical constraints related to plant growth. Among these metals is aluminum (Al), which is limiting the growth and development of plants. In this sense, there are elements that when used in low concentrations can alleviate the damages caused by Al, such as selenium (Se) and silicon (Si). This work aimed to evaluate interference of Se or Si on the physiological and biochemical variables in plants of *Pfaffia glomerata* grown under Al toxicity. The plants of *P. glomerata* were propagated *in vitro* and then moved to culture in pots with sand and nutrient solution. After acclimation, different concentrations of Al (AlCl_3), Se (Na_2SeO_4) and Si (NaSiO_3) were added, forming the following treatments: T1: control (complete nutritional solution); T2: 1.85 mM Al, T3: 1.5 mM Si; T4: 1.85 mM Al + 1.5 mM Si; T5: 0.002 mM Se; T6: 1.85 mM Al + 0.002 mM Se. Afterwards plants to different treatments, samples were collected in two periods at 30 and 60 days, after which the growth variables (dry biomass, plant height, root length and density, leaf area, number of leaves) and biochemical variables (lipid peroxidation, antioxidant enzymes, hydrogen peroxide content and photosynthesis) were analyzed. The toxicity of Al reduced root length and diameter, but of the elements tested only Si was able to revert to the action of Al toxicity. Al effects were alleviated by Si in the shoot, significantly at 30 days. As for the biochemical variables, Si was more efficient in the mitigation of the metal effect, being able to stimulate the activity of the antioxidant enzymes and reducing the production of hydrogen peroxide. Already the Se presented mitigation effect of Al mainly in the roots of *P. glomerata* that is the part used for the extraction of phytomedicines. Thus, it has been observed that Si has a beneficial effect on plants, minimizing Al toxicity more effectively, and can be used to increase the quality of cultivation of this medicinal plant.

Keywords: Brazilian Ginseng. Toxicity. Beneficent Elements. Growth.

LISTA DE FIGURAS

MANUSCRITO I - EFEITOS DOS ELEMENTOS BENÉFICOS SILÍCIO E SELÊNIO NO CRESCIMENTO DE PLANTAS DE *Pfaffia glomerata* SUBMETIDAS AO ESTRESSE CAUSADO POR ALUMÍNIO

Figura 1 – Efeito dos diferentes tratamentos sobre o comprimento total de raízes (cm) (A), diâmetro radicular (mm) (B), volume radicular (cm³) (C) e massa seca do sistema radicular (gramas) (D) em plantas de *Pfaffia glomerata* aos 30 e 60 dias de exposição.....28

Figura 2 – Efeito dos diferentes tratamentos sobre a altura (cm) (A), área foliar (cm²) (B), número de folhas (unidade) (C) e massa seca foliar (gramas) (D) em plantas de *Pfaffia glomerata* aos 30 e 60 dias de exposição.....30

LISTA DE FIGURAS

MANUSCRITO II - INFLUÊNCIA DE ELEMENTOS BENÉFICOS NO ESTRESSE OXIDATIVO CAUSADO POR ALUMÍNIO EM PLANTAS DE *Pfaffia glomerata*

Figura 1 - Efeito dos diferentes tratamentos sobre a atividade da superóxido dismutase na parte aérea (A) e nas raízes (B), e da guaiacol peroxidase na parte aérea (C) e nas raízes (D) em plantas de *Pfaffia glomerata* aos 30 e 60 dias de exposição.....45

Figura 2 – Efeito dos diferentes tratamentos sobre o conteúdo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) na parte aérea (A) e na região radicular (B), e da peroxidação lipídica (TBARS) na parte aérea (C) e nas raízes (D) em plantas de *Pfaffia glomerata* aos 30 e 60 dias de exposição.....47

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo Geral.....	13
2.2 Objetivos Específicos.....	14
3. REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1 <i>Pfaffia glomerata</i> (Spreng.).....	14
3.2 Alumínio	15
3.3 Silício	17
3.4 Selênio.....	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
MANUSCRITO I - EFEITOS DOS ELEMENTOS BENÉFICOS SILÍCIO E SELÊNIO NOS PARÂMETROS DE CRESCIMENTO EM PLANTAS DE <i>Pfaffia glomerata</i> SUBMETIDAS AO ESTRESSE CAUSADO POR ALUMÍNIO	21
RESUMO	22
ABSTRACT	23
INTRODUÇÃO.....	24
MATERIAL E MÉTODOS.....	25
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
CONCLUSÃO	32
REFERÊNCIAS	33
MANUSCRITO II - A INFLUÊNCIA DE ELEMENTOS BENÉFICOS NO ESTRESSE OXIDATIVO CAUSADO POR ALUMÍNIO EM PLANTAS DE <i>Pfaffia glomerata</i>	36
RESUMO	37
ABSTRACT	38
INTRODUÇÃO.....	39
MATERIAL E MÉTODOS.....	41
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
CONCLUSÃO	48
REFERÊNCIAS.....	49
CONSIDERAÇÕES FINAIS	52
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
APÊNDICE	59

1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas pelo homem é uma atividade tão antiga quanto sua própria existência. Porém, o uso indiscriminado de plantas medicinais pela população é um fator que deve se ter atenção, devido a falta de conhecimento sobre o princípio ativo do vegetal, o uso excessivo e ainda o meio onde estão inseridas, o qual pode ser uma área contaminada por metais.

Os vegetais sofrem influência do ambiente onde estão inseridos, sendo que os mesmos podem ser afetados de diferentes maneiras. O solo é um agente direto, pois fornece para as plantas água e nutrientes, podendo também fornecer elementos não essenciais para o desenvolvimento do vegetal. Mesmo sendo afirmada que a toxidez por metais em plantas medicinais é uma realidade, esse problema não é levado em consideração, já que os níveis e a fonte de contaminação variam conforme o vegetal e a disponibilidade do contaminante.

O solo é considerado contaminado quando apresenta concentrações de determinado elemento químico acima das consideradas permitidas. A concentração dos elementos está sendo alterada pela atividade antrópica e esta poluição do ambiente por metais tem se tornado um problema ambiental em escala global (ALI et al., 2013), sendo as principais fontes de contaminantes ao solo a deposição de resíduos industriais e urbanos, fertilizantes e pesticidas (KAVAMURA; ESPOSITO, 2010). Estes descartes no solo sofrem transformações químicas podendo liberar metais tóxicos para a solução do solo causando assim, toxidez às plantas.

Entre estes elementos tóxicos, se encontra o alumínio (Al), que é considerado um dos principais fatores abióticos limitantes na agricultura, pois afeta o crescimento e desenvolvimento das plantas, estando disponível para as plantas na forma tóxica Al^{+3} em solos ácidos. Na parte aérea das plantas, o sintoma da toxidez deste elemento não é facilmente identificável, por assemelha-se à deficiência de outros nutrientes, e também por haver variações de sintomas entre espécies. Porém, o sintoma de toxicidade visível mais rapidamente identificável é a inibição do crescimento da raiz (DELHAIZE; RYAN, 1995), tornando-a mais curta e engrossada, resultando desta forma na redução

na absorção de água e de nutrientes.

Entre as alternativas para solucionar os problemas com este metal tóxico no crescimento de plantas está o uso de elementos tidos até então como benéficos. São definidos desta maneira por não serem essenciais para que as plantas completem seu ciclo de vida. Entre esses elementos estão o selênio (Se) e o silício (Si), que podem atuar na redução de estresses bióticos e abióticos do vegetal.

Tanto o Se quanto o Si possuem um papel importante nas relações planta-ambiente, pois podem dar às culturas condições para suportar diferentes situações, podendo ter os efeitos de estresse mitigados com o uso destes elementos. Em trabalhos descritos na literatura foram demonstrados os efeitos benéficos de tais elementos sobre o crescimento das plantas sob condições de estresse (EPSTEIN, 2001).

Deste modo, é de grande importância o desenvolvimento de estratégias que resultem em menor absorção e acúmulo pelas plantas de elementos tóxicos presentes no solo, principalmente quando se trata de plantas medicinais como a *Pfaffia glomerata*, a qual é uma planta de interesse comercial na forma de fitomedicamentos e suplementos alimentares, em razão de suas propriedades (MENDES; CARLINI, 2007).

Desta maneira, o objetivo deste estudo foi avaliar se o Si ou o Se amenizam a toxicidade do Al em plantas de *P. glomerata*, através da menor absorção deste elemento tóxico pelas raízes e redução do estresse oxidativos e atividade enzimática, para desta maneira evitar a ingestão de alimentos contaminados. Assim, o presente trabalho está dividido em dois capítulos: Capítulo I - Efeitos dos elementos benéficos silício e selênio no crescimento de plantas de *Pffafia glomerata* submetidas ao estresse causado por alumínio, e Capítulo II- Influência de elementos benéficos no estresse oxidativo causado por alumínio em plantas de *Pffafia glomerata*.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito do uso do selênio e do silício sobre parâmetros morfofisiológicos e bioquímicos em plantas de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen cultivados sob toxicidade do alumínio.

2.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar as respostas morfológicas e bioquímicas em plantas de *P. glomerata* expostas a concentrações de Al, Se e Si;
- Verificar a possibilidade de utilização do Se e do Si como amenizantes dos efeitos tóxicos do Al em plantas de *P. glomerata*.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 *Pfaffia glomerata* (Spreng.)

A *Pfaffia glomerata* é uma planta medicinal pertencente à família Amaranthaceae, que possui 169 gêneros e cerca de 2.360 espécies (JUDD et al., 2002; IPNI, 2009). A *P. glomerata* é também conhecida como ginseng brasileiro, “batata-do-mato”, “corando”, “corrente”, “sempre-viva” e “paratudo” (SOUZA et al., 1997), sendo uma planta bastante conhecida pelos seus efeitos medicinais e uso como fitoterápico (NASCIMENTO et al., 2007). Além de ter propriedades medicinais contra estresses físico e mental e ao uso afrodisíaco atribuído à planta (LORENZI; MATOS, 2002), a fáfia é utilizada para melhorar o processo de cicatrização e contra distúrbios gástricos e reumatismo (OLIVEIRA, 1986; VIGO et al., 2003; MENDES; CARLINI, 2007).

A fáfia é uma espécie nativa, ocorrendo principalmente no estado do Paraná e Mato Grosso do Sul, mas é amplamente difundida no território brasileiro, e apresenta grande variabilidade genética, podendo ser encontrada naturalmente em ambientes de mata ciliar, campos inundáveis à beira de rios e em orlas de matas de galeria (PACHECO et al., 2012).

As plantas do gênero *Pfaffia* apresentam grande capacidade de acúmulo de metais (CARNEIRO et al., 2002). Maldaner et al. (2015) verificaram que dois acessos de *P. glomerata* (BRA e JB) acumularam quantidades de Al em suas raízes, quando cultivados em solução nutritiva contendo este metal. Além disso, Skrebsky et al. (2008) verificaram que plântulas de *P. glomerata* cultivadas em sistema hidropônico parecem ter grau razoável de tolerância ao cádmio. Por outro lado, Calgaroto et al. (2010; 2016) observaram que o crescimento e mecanismos antioxidantes de plantas de *P. glomerata* foram significativamente afetados por altos níveis de mercúrio (Hg) (25 e 50 μM) no substrato.

3.2 Alumínio

As intervenções humanas, as quais resultam na acidificação do solo, como o uso de aditivos alimentares e farmacêuticos, cosméticos, produtos industriais, entre outras, têm aumentado a disponibilidade de alumínio (Al) reativo biologicamente e sua presença tem sido associada a várias doenças humanas, como Alzheimer e outras doenças neurológicas (YU et al., 2011; TOMLJENOVIC, 2011).

O alumínio é um dos elementos mais abundantes da superfície terrestre devido aos processos naturais, e sua abundância só é menor do que a de oxigênio e de silício, que é geralmente combinado em argila e outros minerais comuns (COLEMAN et al., 2018). Os metais, entre eles o Al, são ambientalmente estáveis, não são biodegradáveis e têm a capacidade de se acumular nos tecidos de organismos vivos, provocando toxicidade (FARAHMAND et al., 2011). A disponibilidade de tal metal depende de sua forma química, do pH e da formação de complexos, os quais são de limitada solubilidade e, portanto, indisponíveis (PRABAGAR et al., 2011).

Em solos brasileiros, caracteristicamente ácidos, o elemento é considerado prejudicial às plantas (MALAVOLTA, 1980). Mesmo em baixas concentrações, o Al pode inibir o crescimento da raiz (FORTUNATO; NICOLOSO, 2004; TABALDI et al., 2007), interferindo na divisão celular que ocorre nos pontos de crescimento das raízes, tornando a parede celular rígida pela deposição de pectina. Alguns trabalhos na literatura têm também demonstrado que a exposição da planta ao Al aumenta a

peroxidação lipídica (RIBEIRO et al., 2012; SILVA, 2012) e altera a atividade de enzimas antioxidantes (GUO et al., 2007; GIANNAKOULA et al., 2010).

De acordo com o pH da solução do solo, há uma forma predominante de espécie química de Al (CARVALHO, 2003), podendo apresentar-se na forma trivalente em pH ácido (Al^{3+}), com ligantes orgânicos (Al-orgânico), na forma de polímeros (polinúcleos de Al) (BLOOM; ERICH, 1996) e complexado com hidróxidos (AlOH^{2+} , Al(OH)_2^+ , Al(OH)_3^0 e Al(OH)_4^-). A forma trivalente é considerada a mais tóxica, enquanto que complexos Al-hidróxidos são relativamente insolúveis e não são absorvidos pelas plantas (DELHAIZE; RYAN, 1995). A acidificação do solo tem, como consequência, o aumento da solubilidade dos compostos de Al, o que ocasiona o aumento da concentração de Al livre na solução do solo, provocando toxidez às plantas, causando efeitos deletérios nos tecidos das plantas não adaptadas, como é o caso da maioria das espécies cultivadas.

Segundo Schlindwein et al. (2003), com o aumento do pH, o Al passa a não prejudicar tanto o crescimento vegetal, uma vez que se complexa com outros elementos. A inibição do crescimento ocorre pois as raízes tornam-se atrofiadas em função da morte ou injúria do meristema radicular e aumento da rigidez da parede celular (SCHLINDWEIN et al., 2003; GUIMARÃES et al., 2006). Os efeitos causados nas raízes são visíveis com pouco tempo de indução do estresse, que são seguidos por efeitos secundários em longo prazo, não causados diretamente pelo Al, mas como consequência a esse estresse.

Tal elemento ainda pode ocasionar um incremento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), aumentando a oxidação dos componentes celulares, podendo causar danos ao organismo (SCANDALIOS, 2002). O Al é um metal não redox-ativo, mas que possui uma significativa atividade pró-oxidante (MUJIKÁ et al., 2011), resultando em oxidações biológicas tanto *in vivo* quanto *in vitro* (KHAN et al., 2006), podendo catalisar a formação de H_2O_2 e reduzir Fe(III) à Fe(II). Estes eventos combinados podem levar ao estresse oxidativo (EXLEY, 2012). Vários trabalhos têm mostrado que íons de Al aumentam a produção de EROs e a peroxidação de lipídios de membrana (DIPIERRO et al., 2005; HOSSAIN et al., 2005; JONES et al., 2006).

Para controlar tal produção, as células vegetais possuem agentes antioxidantes

enzimáticos e não enzimáticos (MA et al., 2012). O sistema de defesa antioxidante enzimático nas células vegetais inclui a superóxido dismutase (SOD; EC 1.15.1.1), a catalase (CAT; EC 1.11.1.6), e a ascorbato peroxidase (APX; EC 1.11.1.11) entre outras, e os antioxidantes não enzimáticos ascorbato (AsA), glutathiona (GSH), carotenóides e compostos fenólicos (GUNES et al., 2007).

3.3 Silício

O silício (Si) é o segundo elemento químico mais abundante da crosta terrestre e no solo (EPSTEIN; BLOOM, 2005), atuando na redução de estresses bióticos e abióticos em plantas (WANG et al., 2017). Desta forma, é considerado um elemento benéfico (KORNDÖRFER, 2006), variando entre 28 e 32% em massa de todo material do solo (MALAVOLTA, 2006).

Quando absorvido pelas plantas, o Si é facilmente translocado no xilema, e tem tendência natural a se polimerizar, associando-se a compostos orgânicos como proteínas, polissacarídeos e lignina (EPSTEIN, 1994; KOLESNIKOV; GINS, 2001). De acordo com Wallace (1992), quando a absorção de cátions pelas raízes das plantas excede a absorção de ânions, a solubilidade de Si é reduzida pelo aumento de acidificação do solo. Quando a absorção de ânions excede a absorção de cátions, a solubilidade de Si aumenta devido à elevação do pH do solo.

Em plantas superiores, o Si pode diminuir o efeito deletério de estresses abióticos causados por metais pesados ou tóxicos (LIANG et al., 2007). Os efeitos benéficos do Si têm sido demonstrados em várias espécies vegetais, especialmente quando estas plantas são submetidas a algum tipo de estresse, seja ele de caráter biótico ou abiótico (PULZ et al., 2008; CRUSCIOL et al., 2009).

A maior disponibilidade de Si tem resultado em incrementos no crescimento e na produtividade, já que o elemento pode atuar de forma indireta sobre alguns aspectos fotossintéticos e bioquímicos, e especialmente quando estas plantas estão submetidas a algum tipo de estresse, seja de natureza biótica ou abiótica (MA; YAMAJI, 2006; ABDALLA, 2011).

A aplicação de silicatos, por exemplo, pode aumentar a resistência das plantas

ao excesso de Al (WIESE et al., 2007). Em algumas espécies estudadas, o Si apresentou significativo efeito de amenizar a toxicidade do Al, no entanto, em outras, o Si apresentou pouco ou nenhum efeito (HODSON; EVANS, 1995). Foi estabelecido que a interação entre Si e Al, reduzindo a atividade de metais tóxicos no meio, é um possível mecanismo externo para a detoxificação de Al por Si (HIRADATE et al., 1998).

O papel do Si e do Ca na formação de ligações entre carboidratos e lignina, a partir da sua associação com ácidos fenólicos e anéis aromáticos, nas paredes celulares de plantas de arroz, confere maior resistência aos tecidos vegetais (INANAGA; OKASAKA, 1995; INANAGA et al., 1995). Ainda, pode-se citar o papel do Si na substituição de fenólicos em funções como proteção contra raios UV e defesa contra herbivoria, a partir de depósitos na parede celular formados a um menor custo energético para a planta (GOTO et al., 2003).

3.4 Selênio

O selênio (Se) também está entre os elementos mais abundantes na terra (EMSLEY, 2011). É considerado um elemento essencial para animais e humanos (MARSCHNER, 2012). Suas fontes são naturais e vem de fontes de carvão, sendo classificado como um metalóide (MANAHAN, 2006).

Para as plantas, a essencialidade desse elemento ainda é motivo de controvérsia (ZHU et al., 2009; PILON-SMITS; QUINN, 2010), sendo para a maioria não essencial. No entanto, para um pequeno grupo de plantas consideradas acumuladores do elemento, o Se está envolvido em atividades de proteção de plantas contra o estresse oxidativo (PILON-SMITS, 2015).

Nos solos, o Se é encontrado sobre duas formas, sendo que em solos ácidos com alto conteúdo de matéria orgânica dominam os selenetos (Se^{2-}) de boa mobilidade, e em solos minerais e bem drenados com pH neutro há ocorrência de selenitos (SeO_3^{-2}) que podem ser tanto solúveis como insolúveis e que são amplamente fixados por óxidos e hidróxidos de ferro tornando-se indisponíveis as plantas. Já em solos alcalinos e bem oxidados, ocorrem os selenatos (SeO_4^{-2}), característicos por sua alta solubilidade, podendo ser muito móveis e facilmente absorvidos pelas plantas

(MACEDO; MORRIL, 2008)

Sendo assim, o Se é considerado um elemento benéfico (EPSTEIN, 2003; MARSCHNER, 2012), aumentando a tolerância das plantas a estresses ambientais (YAO et al., 2013). Assim como com o Si, há estudos mostrando que o Se em concentrações baixas pode proteger as plantas de vários tipos de estresses abióticos (NEUHIERL; BOCK, 1996; ZHANG et al., 2006). Há também evidência de que o Se reduz o estresse oxidativo causado por cádmio (Cd) em plantas de brócolis (PEDRERO et al., 2008), e tem sido sugerido que o papel protetor do Se no estresse por Cd pode estar relacionado principalmente a uma redução de EROs (FILEK et al., 2008; PEREIRA, 2016).

A capacidade das plantas para tolerar o estresse causado por metais tóxicos, como o Al é bastante diversificada. Desta maneira podemos citar os efeitos benéficos do Se no crescimento das plantas, que é frequentemente relacionada com a melhoria da capacidade antioxidante do vegetal (HARTIKAINEN, 2005; MORA et al., 2008).

Em trabalhos realizados por Cartes et al. (2010), foi concluído que ocorre maior absorção de Se pelas plantas quando aplicado o tratamento de Al e Se juntos, comparando com a absorção em plantas cultivadas apenas com tratamento de Se, sendo assim sugerido que houve uma maior demanda de Se para neutralizar os efeitos tóxicos induzidos pelo Al.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e discussão deste trabalho serão apresentados em dois manuscritos, como segue:

MANUSCRITO I: EFEITOS DOS ELEMENTOS BENÉFICOS SILÍCIO E SELÊNIO NO CRESCIMENTO DE PLANTAS DE *Pffafia glomerata* SUBMETIDAS AO ESTRESSE CAUSADO POR ALUMÍNIO

MANUSCRITO II: INFLUÊNCIA DE ELEMENTOS BENÉFICOS NO ESTRESSE OXIDATIVO CAUSADO POR ALUMÍNIO EM PLANTAS DE *Pffafia glomerata*

MANUSCRITO I

EFEITOS DOS ELEMENTOS BENÉFICOS SILÍCIO E SELÊNIO NO CRESCIMENTO DE PLANTAS DE *Pffafia glomerata* SUBMETIDAS AO ESTRESSE CAUSADO POR ALUMÍNIO

EFEITOS DOS ELEMENTOS BENÉFICOS SILÍCIO E SELÊNIO NO CRESCIMENTO DE PLANTAS DE *Pffafia glomerata* SUBMETIDAS AO ESTRESSE CAUSADO POR ALUMÍNIO

RESUMO

O cultivo de vegetais para consumo é uma alternativa milenar, porém a maneira de como o solo é manejado pode afetar na qualidade da planta. Entre as plantas comumente utilizadas na medicina popular está o gengeng brasileiro (*Pffafia glomerata*), cujas plantas podem absorver elementos contaminantes do solo, como é o caso do alumínio (Al), resultando na contaminação do chá, podendo causar efeitos secundários nas pessoas que o consomem. Para inibir a absorção e efeitos tóxicos do Al há elementos que podem ser utilizados, como o selênio (Se) e o silício (Si). Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar o efeito amenizador do Se e do Si sobre as variáveis fisiológicas em plantas de *P. glomerada* cultivadas sob toxicidade do Al. As plantas de *P. glomerata* foram propagadas *in vitro* e após transferidas para o cultivo em vasos com areia. Após a aclimatação foram adicionadas diferentes concentrações de Al (AlCl_3), Se (Na_2SeO_4) e Si (NaSiO_3), formando os seguintes tratamentos com solução nutritiva diária: T1: Controle (solução nutritiva completa); T2: 1,85 mM Al; Si; T3: 1,5 mM Si; T4: 1,85 mM Al + 1,5 mM Si; T5: 0,002 mM Se; T6: 1,85 mM Al + 0,002 mM Se. Depois da exposição aos diferentes tratamentos por 30 e 60 dias, foi feita a coleta e análise das variáveis de crescimento biomassa seca, altura de plantas, comprimento e densidade de raízes, área foliar e número de folhas. A toxidez do Al se mostrou significativa em relação ao comprimento e ao diâmetro da raiz, porém dos elementos testados apenas o Si conseguiu reverter à ação de toxicidade do Al. Em relação à parte aérea, os efeitos do Al se mostraram reduzidos pelo Si, de forma mais significativa aos 30 dias. Assim, podemos afirmar que o Si é capaz de amenizar os danos causados pelo Al em plantas de *P. glomerata*.

Palavras-chave: Ginseng Brasileiro. Contaminação. Elementos Benéficos. Crescimento.

EFFECTS OF SILICON AND SELENIUM BENEFICIAL ELEMENTS ON GROWTH OF *Pfaffia glomerata* PLANTS SUBMITTED TO ALUMINUM STRESS

ABSTRACT

The cultivation of vegetables for consumption is a millenary alternative, but the way of soil management can affect the plant quality. Among the plants commonly used in folk medicine, there are Brazilian gingeng (*Pfaffia glomerata*), whose plants can absorb soil contaminants, such as aluminum (Al), resulting in contamination of tea and may cause side effects in people who consume it. To inhibit absorption and toxic effects of Al there are elements that can be used, such as selenium (Se) and silicon (Si). Thus, the objective of this work was to verify the softening effect of Se and Si on physiological variables of *P. glomerata* plants cultivated under Al toxicity. The plants of *P. glomerata* were propagated in vitro and then transferred to culture in pots with sand. After acclimation, different concentrations of Al (AlCl_3), Se (Na_2SeO_4) and Si (NaSiO_3) were added, forming the following treatments: T1: Control (complete nutritional solution); T2: 1.85 mM Al; T3: 1.5 mM Si; T4: 1.85 mM Al + 1.5 mM Si; T5: 0.002 mM Se; T6: 1.85 mM + 0.002 mM Se. After the exposure to the different treatments for 30 and 60 days the samples were collected, and the variables of dry biomass, growth, plant height, root length and density, leaf area and number of leaves were analyzed. The toxicity of Al was significant in relation to root length and root diameter, but of the elements tested only Si was able to revert to the toxicity of Al. In relation to the shoot, the effects of Al were reduced by the Si, more significantly at 30 days. Thus, we can affirm that Si is capable of alleviating damage caused by Al in plants of *P. glomerata*.

Keywords: Brazilian Ginseng. Contamination. Beneficent Elements. Growth.

INTRODUÇÃO

Historicamente, os vegetais são utilizados como uma alternativa para a cura de doenças, sendo o uso de plantas medicinais uma alternativa bastante utilizada. Entre esses recursos está a *Pfaffia glomerata*, conhecida popularmente como gengeng brasileiro. As plantas de *P. glomerata* ocorrem em vários estados do Brasil e países limítrofes da região Sul (SMITH; DOWNS, 1972).

No entanto, nos últimos anos, devido às atividades antrópicas, tem ocorrido contaminações em solos onde essas plantas medicinais podem ser cultivadas. Entre estes agentes contaminantes está o alumínio (Al), que mesmo sendo um dos elementos existentes mais abundante, não possui papel essencial no crescimento e desenvolvimento das plantas (BEARDMORE; EXLEY, 2009).

A toxicidade do Al pode limitar o crescimento e a produtividade de culturas em solos ácidos (MA et al., 2012), e ainda pode ter um impacto potencial sobre a saúde humana (CRISPONI et al., 2012). Segundo Raposeiras et al. (2005), a inibição do crescimento das plantas causado pelo Al está localizada no ápice radicular, pois as altas concentrações de Al na solução do solo afetam o desenvolvimento normal das raízes, bloqueando os mecanismos de absorção e transporte de água e nutrientes essenciais.

Uma solução para tal efeito residual do Al pode ser o uso de inibidores/amenizadores que não permitam sua ação ou sua absorção. Entre esses estão o selênio (Se) e o silício (Si), ambos considerados elementos benéficos para as plantas.

O Si tem sido utilizado para promover o crescimento e a produção de biomassa (EPSTEIN, 1994), e ainda considerado por ter um papel importante na atividade metabólica e fisiológica, melhorando a sobrevivência de plantas expostas a diferentes estresses bióticos e abióticos (LIANG et al., 2015). Além de reduzir a absorção de Al pelo sistema radicular, o Si se complexa com o Al, contribuindo para a desintoxicação (HODSON; SANGSTER, 1993).

Já quanto aos benefícios do Se, estudos demonstram aumento da biomassa (JIANG et al., 2015; FENG et al., 2016), e este aumento no crescimento das plantas

têm sido frequentemente relacionado com uma melhoria da capacidade antioxidante da planta (DJANAGUIRAMAN et al., 2005; HARTIKAINEN, 2005; MORA et al., 2008). Hartikainen et al. (2000) mostraram que em baixas concentrações, o Se pode neutralizar o estresse oxidativo em plantas. O efeito benéfico do Se sobre a toxicidade de cádmio, o qual é definido como metal pesado, foi verificado por Pedrero et al. (2008).

Portanto, assim como o Si, o Se pode ajudar as plantas a se manterem por mais tempo fisiologicamente ativas na presença de metais tóxicos, aumentando a produção vegetal (LYONS et al., 2009; RAMOS et al., 2011). Assim, o objetivo deste trabalho foi analisar o efeito do Si e do Se como atenuadores dos efeitos tóxicos ocasionados pelo Al em plantas de *P. glomerata*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram desenvolvidos no Laboratório de Biotecnologia Vegetal e nas casas de vegetação pertencentes ao Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria. Foram utilizadas plantas de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen, acesso GD.

Material vegetal e condições de crescimento

As plantas de *P. glomerata* foram cultivadas *in vitro* durante 21 dias e após um período de aclimatação de 7 dias, as mesmas foram transferidas para vasos plásticos (5 L) contendo 5 kg de areia grossa como substrato. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, e cada unidade experimental consistiu de cinco plantas, sendo quatro repetições por tratamento, totalizando 120 vasos.

Durante o cultivo, a areia foi mantida em 70% da capacidade de retenção, determinada com a amostra alterada em uma tabela de tensão. A irrigação foi realizada diariamente substituindo a água transpirada e a evaporada, calculada pela pesagem dos vasos. A água evaporada e transpirada foi substituída diariamente com solução nutritiva, a qual teve a seguinte composição (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, sendo que os tratamentos de

Al, Si e Se foram adicionados a esta solução nutritiva. O pH da solução foi ajustado para $4,5 \pm 0,1$ com uma solução de HCl ou NaOH (1 M).

Após sete dias de aclimatação das plantas nos vasos, os tratamentos foram aplicados, os quais consistiram das seguintes combinações: 1) Controle (solução nutritiva completa); 2) 1,85 mM de Al; 3) 1,5 mM de Si; 4) 1,85 mM de Al + 1,5 mM de Si; 5) 0,002 mM de Se; 6) 1,85 mM de Al + 0,002 mM de Se. O Si foi aplicado na forma de silicato de sódio (NaSiO_3), o Se na forma de selenato de sódio (Na_2SeO_4) e o Al na forma de AlCl_3 . Os tratamentos foram aplicados diariamente por 60 dias, sendo o pH regulado diariamente. Durante o experimento, foram determinadas as variáveis de crescimento e fisiológicas sendo a primeira análise aos 30 dias e a segunda no término do experimento (60 dias).

Determinação das variáveis de crescimento

Aos 30 e aos 60 dias após o transplante, seis plantas foram analisadas em cada coleta, para determinar as variáveis de crescimento. As plantas foram coletadas e divididas em folhas, caule e raízes, para determinação das seguintes variáveis:

- Número de folhas;
- Altura da planta;
- Área foliar, onde as plantas foram escaneadas em um scanner EPSON Expression 11000 equipado com luz adicional, com definição de 200 dpi para a determinação da área foliar e analisadas com o software WinRHIZO© Pro 2007 (Regent Instruments, Quebec, Canadá);
- Comprimento total, volume total e diâmetro médio das raízes: as raízes foram suspensas em 0,5 cm de água cuidando-se para não sobrepor raízes, em uma bandeja acrílica transparente de $30 \times 40 \text{ cm}^2$ e depois escaneadas a 600 dpi em um scanner (EPSON Expression 11000 equipado com luz adicional TPU). Em seguida as raízes foram analisadas com o software WinRHIZO© Pro 2007 (Regent Instruments, Quebec, Canadá).
- Biomassa seca das raízes e folhas: para obtenção da biomassa seca, as plantas foram acondicionadas em embalagens de papel e levadas para estufa a 65°C até peso constante.

Análise estatística

Os dados foram analisados por meio do programa estatístico ASSISTAT versão 7.7, 2014 (SILVA; AZEVEDO, 2016) e do SigmaPlot, submetidos à comparação entre as médias pelo teste de Tukey a 5% probabilidade de erro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Variáveis de crescimento do sistema radicular: comprimento total, diâmetro médio e volume total

Aos 30 dias de exposição aos tratamentos, o Al reduziu o comprimento e o volume radicular das raízes de plantas de *P. glomerata* nos tratamentos onde as plantas foram expostas ao Al e ao Al + Se comparadas com o tratamento controle (Figura 1A e 1B). Vários trabalhos na literatura mostram reduções no comprimento radicular com o aumento dos níveis de Al na solução (MENDONÇA et al., 2005). Como consequência da redução do comprimento radicular total, a presença de Al pode afetar negativamente a absorção de água e de nutrientes pelas raízes das plantas (GIANNAKAULA et al., 2008; GUO et al., 2007).

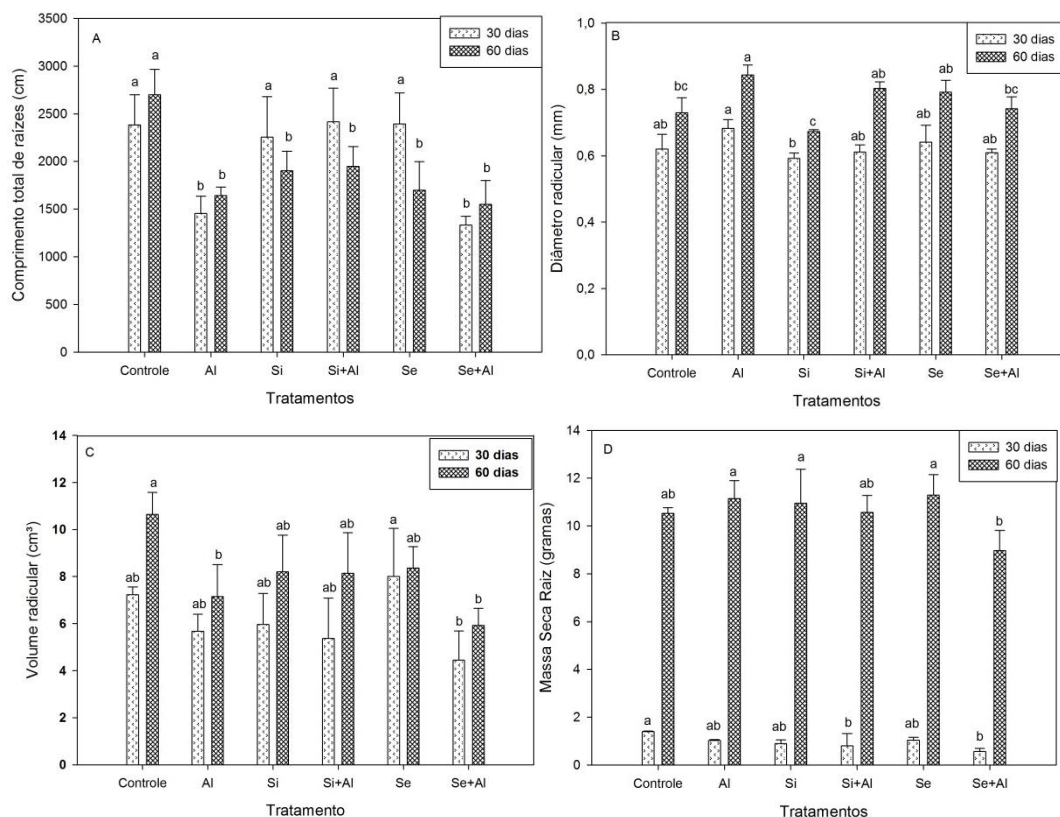
O Si amenizou os efeitos tóxicos do Al sobre o comprimento total de raízes aos 30 dias de exposição, enquanto o Se não apresentou esse efeito amenizador (Figura 1A). Os elementos benéficos podem influenciar o crescimento dos vegetais e em algumas ocasiões até podem amenizar o efeito de elementos tóxicos, como mencionado por Sangster et al. (2001), os quais afirmam que há influência do Si no crescimento das plantas sob condições de toxidez de Al devido à formação de complexos na solução do solo e/ou por reduzir a toxidez interna de Al.

Na avaliação aos 60 dias observou-se que tanto o Se quanto o Si não apresentaram efeito mitigador do Al, onde em todos os tratamentos as plantas apresentaram menor comprimento total de raízes, comparado com o controle. Esse resultado sugere que com o aumento do tempo de exposição ao Al, o Si não mantém esse efeito amenizador (Figura 1A).

Para a variável diâmetro de raiz, aos 30 dias de exposição ao Al, Se e Si, não

houve diferença significativa entre os tratamentos (Figura 1B). Por outro lado, com o aumento do período em resposta a exposição ao Al (60 dias) houve um aumento desta variável (Figura 1B). Além disso, o Se amenizou o efeito do Al sobre o diâmetro de raízes, uma vez que o diâmetro médio no tratamento Se + Al foi menor do que o tratamento onde o Al estava presente de forma isolada, sendo estatisticamente igual ao diâmetro médio das raízes das plantas no tratamento controle. O aumento do diâmetro radicular é um sintoma típico da toxicidade do Al, pois quando presente em altas concentrações no solo, o Al paralisa o crescimento em comprimento da raiz, provocando aumento no diâmetro radicular (VILELA; ANGLINONI, 1984). Assim, na presença de Al, as raízes de plantas de *P. glomerata* são mais curtas e com maior diâmetro (Figuras 1A e 1B). Esse efeito do Al no crescimento de raízes pode afetar negativamente a absorção de água e nutrientes.

Figura 1 –Efeito dos diferentes tratamentos sobre o comprimento total de raízes (cm) (A), diâmetro radicular (mm) (B), volume radicular (cm³) (C) e massa seca do sistema radicular (gramas) (D) em plantas de *Pfaffia glomerata* aos 30 e 60 dias de exposição.



*Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo Teste de Tukey a 5% probabilidade, em relação ao tempo de análise, ou seja, 30 e 60 dias.

Para Liang et al. (2007), é amplamente aceito que o Si pode diminuir a toxidez de Al. Esse mesmo efeito foi observado para outras culturas como cevada (LIANG et al., 2001), trigo (PIÑEROS et al., 2002) e café (RAMÍREZ-BENÍTEZ et al., 2009). A ação do Si provavelmente diminui a atividade dos íons Al^{3+} na solução do solo, fazendo com que haja um melhor desenvolvimento das raízes, aumentando a velocidade de difusão dos nutrientes da solução do solo e, conseqüentemente, provocando uma maior absorção de nutrientes pelas raízes (MALAVOLTA et al., 1997). O Se também diminuiu o diâmetro radicular aos 60 dias, em comparação com o tratamento que foi adicionado o Al (Figura 1B), podendo este fator estar ligado com a semelhança estrutural existente entre átomos de enxofre (S) e Se (ZHU et al., 2009), os quais podem competir pelos mesmos sítios de absorção (MALAVOLTA, 1980), resultado assim na inibição dos processos biológicos, como o crescimento das plantas.

Para a variável volume de raízes (Figura 1C), não houve diferença significativa entre os tratamentos aos 30 dias de exposição, quando comparado com o tratamento controle. Já aos 60 dias de exposição, plantas de *P. glomerata* expostas aos tratamentos Al e Al+Se apresentaram menor volume de raízes. Os danos causados pelo Al também podem estar associados à modificação do volume radicular, já que os tratamentos que possuíam tal elemento obtiveram um valor menor (Figura 1C).

Mesmo ocorrendo redução no comprimento e volume de raízes, o Al não promoveu redução na massa seca de raízes (Figura 1D), podendo isso ser atribuído ao maior diâmetro radicular das plantas expostas ao Al. Aos 30 dias de exposição ao Al, somente os tratamentos Si + Al e Se + Al apresentaram menor biomassa seca. Por outro lado, aos 60 dias não houve diferenças significativas entre os tratamentos, comparado com o tratamento controle. Através destes resultados podemos concluir que o ginseng brasileiro é uma planta moderadamente afetada pela toxicidade do Al.

Crescimento da parte aérea: altura, área foliar e número de folhas

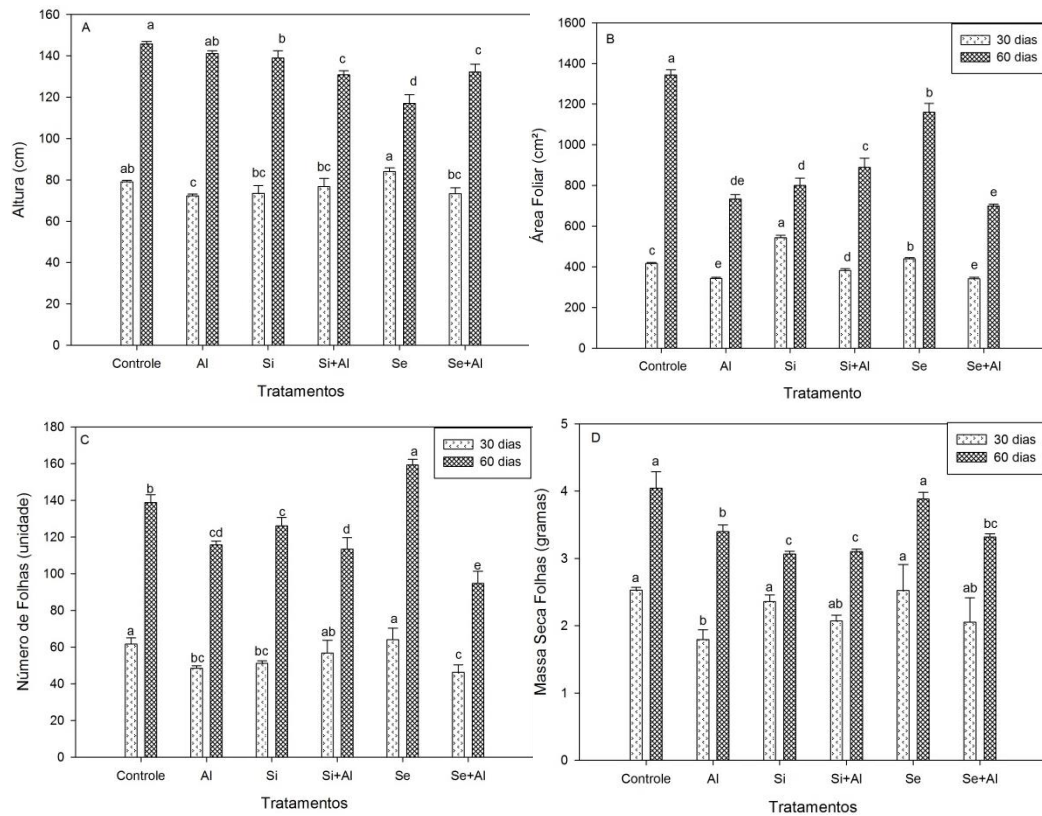
As plantas de *P. glomerata* expostas ao Al no meio de crescimento apresentaram

menor altura na presença de Al (Figura 2A) aos 30 dias de exposição. Cabe salientar que em estudos realizados com a toxidez de Al^{3+} , já foram descritas reduções na altura de plantas (VICENTE et al., 1998; VASCONCELOS et al., 2002; HORST et al., 2010). Porém aos 60 dias de exposição, somente os tratamentos Si, Si+Al, Se e Se+Al promoveram uma pequena redução na altura de plantas, quando comparado com o tratamento controle, e também se comparado com o tratamento que apresenta Al podemos concluir que mesmo não tendo diferença significativa ambos elementos considerados benéficos aumentaram o crescimento das plantas, evidenciando o efeito benéfico do Si no crescimento das plantas já relatado por outros estudos na literatura (GU et al., 2012; PEREIRA et al., 2018).

Para área foliar (Figura 2B), aos 30 dias de exposição, o Si e o Se promoveram um aumento nesse parâmetro, comparado com o controle, enquanto a presença de Al de forma isolada no meio de crescimento causou uma redução. Quando o Al foi adicionado no meio de crescimento juntamente com o Si, ocorreu um aumento em área foliar, comparado com o tratamento contendo somente Al, mostrando neste ponto que o Si conseguiu reverter à ação do metal, já que o Si pode imobilizar metais tóxicos no solo ou na planta, podendo complexar com elementos tóxicos, conforme o pH do solo, alterando a especiação de metais (ADREES et al., 2015).

Aos 60 dias de exposição, houve uma redução significativa em área foliar em todos os tratamentos, comparado com o controle. No entanto, o tratamento Si + Al apresentou maior área foliar, comparado com o tratamento onde o Al estava presente de forma isolada, mostrando o potencial do Si de amenizar esse efeito tóxico do Al. Um aumento ou manutenção da área foliar é de extrema importância para as plantas em situações de estresse, uma vez que uma maior área foliar proporciona uma maior absorção de radiação luminosa, podendo ocasionar maiores taxas de crescimento e produção de biomassa.

Figura 2 – Efeito dos diferentes tratamentos sobre a altura (cm) (A), área foliar (cm^2) (B), número de folhas (unidade) (C) e massa seca foliar (gramas) (D) em plantas de *Pfaffia glomerata* aos 30 e 60 dias de exposição.



*Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo Teste de Tukey a 5% probabilidade, em relação ao tempo de análise, ou seja, 30 e 60 dias.

Em relação ao número de folhas (Figura 2C), os tratamentos Al, Si, Si+Al e Se + Al promoveram uma redução nesse parâmetro aos 30 dias. Neste estudo, a altura das plantas em relação à ação do Si foi significativa apenas aos 30 dias, quando aplicado Si+Al, já aos 60 dias não houve influência do Si na solução nutritiva (Figura 2A). Como observado em outros trabalhos o fornecimento de Si aumentou a área foliar, número de folhas por planta, comprimento total de raiz, e volume radicular sob estresse de metais pesados (ANWAAR et al., 2015; BOKOR et al., 2014; DORNELES et al., 2016). Esse aumento no crescimento das plantas pode estar relacionado ao efeito Si na absorção mineral, aumentando assim a disponibilidade de nutrientes para as plantas

A exposição das plantas ao Al reduziu a produção de massa seca nas folhas em ambos os períodos de avaliação, e o Si e o Se não amenizaram de forma significativa os efeitos tóxicos do Al sobre a produção de biomassa seca de folhas (Figura 2D). A

exposição ao Al, aos 30 dias, pode ter causado uma desintegração dos tecidos da epiderme e de porções externas do córtex nos ápices das raízes, promovendo uma redução da absorção de água e nutrientes (MIGUEL et al., 2010). Por consequência da inibição do crescimento das raízes, a parte aérea acaba tendo seu crescimento afetado, havendo também redução em sua biomassa.

A redução na biomassa seca da parte aérea possivelmente pode estar relacionada com a limitação da absorção de nutrientes como Ca e Mg causada pelo Al, como sugerido por Merino-Gergichevich et al. (2010). A toxidez de Al tem sido identificada como um dos mais importantes fatores limitantes do crescimento e desenvolvimento das plantas (GIONGO; BOHNEM, 2011), promovendo assim reduções na massa seca (MENDONÇA et al., 2005). Na parte aérea, já foram descritas reduções na massa seca (VASCONCELOS et al., 2002; VICENTE et al., 1998) em várias espécies.

CONCLUSÃO

A toxidez do Al se mostrou significativa em relação ao crescimento das plantas de *Pffafia glomerata*, porém dos elementos testados apenas o Si conseguiu reverter à ação de toxicidade do Al, principalmente em períodos mais curtos de exposição. Estes resultados servem de incentivo para mais investigações a respeito dos efeitos do Si em experimentos de maior duração.

REFERÊNCIAS

ADREES, M.; ALI, S. et. al. Mechanisms of silicon-mediated alleviation of heavy metal toxicity in plants: a review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.119, p.186–197, 2015.

ANWAAR, S.A. et. al. Silicon (Si) alleviates cotton (*Gossypium hirsutum* L.) from zinc (Zn) toxicity stress by limiting Zn uptake and oxidative damage. **Environmental Science Pollution Research**, v.22, p.3441–3450, 2015.

BEARDMORE, J.; EXLEY, C. Towards a model of non-equilibrium binding of metal ions in biological systems. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v.103, p.205-209, 2009.

BOKOR, B. et al. Silicon does not always mitigate zinc toxicity in maize. **Acta Physiology Plant**, v.36, p.733–743, 2014.

CRISPONI, G. et al. Chelating agents for human diseases related to aluminium overload. **Coordination Chemistry Reviews**, v.256, p.89–104, 2012.

DJANAGUIRAMAN, M. et al. Selenium – an antioxidative protectant in soybean during senescence. **Plant and Soil**, v.272, p.77–86, 2005.

DORNELES, A.O.S. et al. Silicon reduces aluminum content in tissues and ameliorates its toxic effects on potato plant growth. **Ciência rural**, v.46(3), p.506-512, 2016.

EPSTEIN, E. The anomaly of silicon in plant biology. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.91, p.11-17, 1994.

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

GIANNAKOULA, A. et al. Aluminum tolerance in maize is correlated with increased levels of mineral nutrients, carbohydrates and proline, and decreased levels of lipid peroxidation and Al accumulation. **Jornal of Plant Physiology**, v.165, p.385-396, 2008.

GIONGO, V.; BOHNEN, H. Relação entre alumínio e silício em genótipos de milho resistente e sensível a toxidez de alumínio. **Bioscience Journal**, v.27, p.348-356, 2011.

GU, H.-H. et al. Melhora da toxicidade de zinco mediada por silício em mudas de arroz (*Oryza sativa* L.). **Plant Soil**, v.189, p.193-204, 2012.

GUO, T.R. et al. Influence of aluminum and cadmium stresses on mineral nutrition and root exudates in two barley cultivars. **Pedosphere**, v.17, p.505-512, 2007.

HARTIKAINEN, H.; XUE, T.L.; PIIRONEN, V. Selenium as an anti-oxidant and pro-oxidant in ryegrass. **Plant and Soil**, v.225, p.193-200, 2000.

HARTIKAINEN, H. Biogeochemistry of selenium and its impact on food chain quality and human health. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v.18, p.309–318, 2005.

HODSON, M.J.; SANGSTER, A.G. The interaction between silicon and aluminium in *Sorghum bicolor* (L.) Moench: growth analysis and X-ray microanalysis. **Annals of Botany**, v.72, p. 389–400, 1993.

HORST, WJ et al. O papel do apoplasto radicular na inibição da elongação radicular induzida pelo alumínio e na resistência das plantas a alumínio: uma revisão. **Anais de Botânica**, v.106, p.185-197, 2010.

JIANG, H. X. et al. Root iTRAQ protein profile analysis of two citrus species differing in aluminum-tolerance in response to long-term aluminum-toxicity. **BMC Genomics**, v.16, p.949-966, 2015.

LIANG, Y.C. et al. Mechanisms of silicon-mediated alleviation of abiotic stresses in higher plants: a review. **Environmental Pollution**, v.147, p.422–428, 2007.

LIANG, Y.C.; YANG, C.G.; SHI, H.H. Effects of silicon on growth and mineral composition of barley grown under toxic levels of aluminum. **Journal of Plant Nutrition**, v.24, p.229-243, 2001.

LIANG, Y. et al. **Silicon in Agriculture: From Theory to Practice**, 2015.

MA, B. et al. Aluminum-induced oxidative stress and changes in antioxidant defenses in the roots of rice varieties differing in Al tolerance. **Plant Cell Reports**, v.31, n.11, p.687-696, 2012.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Ceres, 251 p., 1980.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas**. Princípios e aplicações. 2ª ed. Piracicaba: POTAFOS, p. 319, 1997.

MENDONÇA, J.R. et. al. Capacidade de cultivares de arroz de modificar o pH de soluções nutritivas na presença de alumínio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, n.5, p.447-452, 2005.

MERINO-GERGICHEVICH, C. et al. Al³⁺-Ca²⁺ interaction in plants growing in acid soils: Al-phytotoxicity response to calcareous amendments. **Journal of Soil Science Plant Nutrition**, v.10 n.3, p. 217-243, 2010.

MIGUEL, P.S.B. et al. Efeitos tóxicos do alumínio no crescimento das plantas mecanismos de tolerância, sintomas, efeitos fisiológicos, bioquímicos e controles genéticos. **Revista Centro de Ensino Superior**, v.24, n.1, p.200-210, 2010.

MORA, M.L. et al. Selenium uptake and its influence on the antioxidative system of white clover as affected by lime and phosphorus fertilization. **Plant and Soil**, v.303, p. 139–149, 2008.

PEDRERO, et al. Protective Effect of Selenium in Broccoli (*Brassica oleracea*) Plants Subjected to Cadmium Exposure. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v.56, p.266–271, 2008.

PEREIRA, T.S.; PEREIRA, T.S.; SOUZA, C.L.F.C.; LIMA, E.J.A.; BATISTA, B.L.; LOBATO, A.K.S. A deposição de silício nas raízes minimiza o acúmulo de cádmio e o

estresse oxidativo nas folhas das plantas de feijão-caupi. **Fisiologia e Biologia Molecular de Plantas**, v.24, p.99-114, 2018.

PIÑEROS, M.A. et al. The physiology and biophysics of aluminum tolerance mechanism based on root citrate exudation in maize. **Plant Physiology**, v.129, n.3, p.1194-1206, 2002.

RAMÍREZ-BENÍTEZ, J.E.; HERNANDÉZ-SOTOMAYOR, T.; MUÑOZ-SANCHÉZ, A. The location of aluminum in protoplasts and suspension cells taken from *Coffea arabica* L. with different tolerance of Al. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v.103, n.11, p.1491-1496, 2009.

RAMOS, S.J. et al. Selenium accumulation in lettuce germplasm. **Planta**, v.233, p.649-660, 2011.

RAPOSEIRAS, R. et al. Teores de fenólicos em raiz de milho sob toxidez de alumínio. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.4, n.3, p.374-380, 2005.

SANGSTER, A.G.; HODSON, J.; TUBB, H.J. Silicon deposition in higher plants. In: DATNOFF, L.E.; KORNDÖRFER, G.H.; SNYDER, G. H. (Ed.). **Silicon in agriculture**. Amsterdam: Elsevier, p. 85-113, 2001.

SMITH, L.B.; DOWNS, R.J. **Flora ilustrada catarinense: Amarantáceas**. Itajaí, p. 110, 1972.

SILVA, F.A.S.; AZEVEDO, C.A.V. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. **African Journal Agricultural Research**, v.11, n.39, p.3733-3740, 2016.

VASCONCELOS, S.S.; ROSSIELLO, R.O.P.; JACOBINE NETO, J. Parâmetros morfológicos para estabelecer tolerância diferencial a toxicidade de alumínio em cultivares de arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n.3, p.357-363, 2002.

VICENTE, F.M.P.; ROSSIELLO, R.O.P.; PEREIRA, M.B. Características indicativas de sensibilidade ao alumínio em arroz. I. Crescimento em solução nutritiva. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.33, n.1, p.09-15, 1998.

VILELA, L.; ANGHINONI, I. Morfologia do sistema radicular e cinética da absorção de fósforo em cultivares de soja afetados pela interação alumínio-fósforo. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa, v.8, p.91-96, 1984.

ZHU, Y. G., et al. Selenium in higher plants: understanding mechanisms for biofortification and phytoremediation. **Trends in Plant Science**, v. 14, p. 436-442, 2009.

MANUSCRITO II

**INFLUÊNCIA DE ELEMENTOS BENÉFICOS NO ESTRESSE OXIDATIVO CAUSADO
POR ALUMÍNIO EM PLANTAS DE *Pfaffia glomerata***

INFLUÊNCIA DE ELEMENTOS BENÉFICOS NO ESTRESSE OXIDATIVO CAUSADO POR ALUMÍNIO EM PLANTAS DE *Pfaffia glomerata*

RESUMO

O uso de plantas medicinais é uma alternativa bastante utilizada pela população. Porém, muitas dessas plantas crescem em solos contaminados com metais tóxicos, os quais são acumulados nos tecidos e podem entrar na cadeia alimentar de animais e humanos. Desta forma, é necessário descobrir maneiras para que os vegetais cultivados não sejam um vetor de contaminação para as pessoas que os consomem. Nesse sentido, uma das alternativas é o uso de elementos que amenizem a absorção ou ação desses metais tóxicos, como o selênio (Se) e o silício (Si). Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar se o Se e o Si reduzem os efeitos tóxicos do alumínio (Al) sobre as variáveis bioquímicas em plantas de *Pfaffia glomerata* cultivadas sob toxicidade do Al. As plantas de *P. glomerata* foram propagadas *in vitro* e em seguida transferidas para o cultivo em vasos com areia. Após a aclimatação foram adicionadas diferentes concentrações de Al (AlCl_3), Se (Na_2SeO_4) e Si (NaSiO_3), formando os seguintes tratamentos: T1: Controle (solução nutritiva completa); T2: 1,85 mM Al; T3: 1,5 mM Si; T4: 1,85 mM Al + 1,5 mM Si; T5: 0,002 mM Se e T6: 1,85 mM Al + 0,002 mM Se. Depois da exposição das plantas aos diferentes tratamentos por 30 e 60 dias em vasos, foram analisadas as variáveis bioquímicas peroxidação de lipídios, enzimas antioxidantes e conteúdo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O Al estimulou a atividade das enzimas antioxidantes, além de aumentar a produção de H_2O_2 . Na atividade da enzima superóxido dismutase (SOD), ambos elementos amenizaram o efeito do Al, aos 30 dias na parte aérea, enquanto aos 60 dias apenas o Si teve ação significativa, porém na raiz os elementos não reverteram a atividade do metal. Na análise da atividade da enzima guaiacol peroxidase (POD), apenas o Si teve resultados significativos. O Al aumentou a produção de H_2O_2 , mas teve sua ação inibida quando aplicado em conjunto com os elementos considerados benéficos. Quando analisada a produção de malondialdeído, um dos produtos da peroxidação lipídica, podemos relacionar com a atividade das enzimas antioxidantes, sendo que o aumento da atividade pode ter reduzido a peroxidação lipídica. Desta maneira, podemos considerar que o Si pode estar relacionado ao efeito de mitigação da ação do elemento tóxico nas plantas, pois conseguiu reverter os efeitos tóxicos do Al, enquanto o Se não apresentou potencial de inibir de forma significativa os efeitos tóxicos do Al.

Palavras-chave: *Pfaffia glomerata*. Estresse. Elementos Benéficos. Variáveis Bioquímicas.

INFLUENCE OF BENEFICIAL ELEMENTS ON THE OXIDATIVE STRESS CAUSED BY ALUMINUM IN *Pfaffia glomerata* PLANTS

ABSTRACT

The use of medicinal plants is an alternative widely used by the population. However, many of these plants grow in toxic metals contaminated soils, which could be accumulated in tissues and can enter in animals and humans food chain. In this way, it is necessary to find some ways for cultivated vegetables not to be a contamination vector for people who consume them. In this sense, one of alternatives is using elements that inhibit toxic metals absorption or action, such as selenium (Se) and silicon (Si). Thus, the objective of this work was to verify if Se and Si reduce aluminum (Al) toxic effects on biochemical variables in *Pfaffia glomerata* plants growth under Al toxicity. Plants of *P. glomerata* were propagated in vitro and then transferred to culture in pots with sand. After acclimation, different concentrations of Al (AlCl_3), Se (Na_2SeO_4) and Si (NaSiO_3) were added, forming the following treatments: T1: Control (complete nutritional solution); T2: 1.85 mM Al; T3: 1.5 mM Si; T4: 1.85 mM Al + 1.5 mM Si; T5: 0.002 mM Se e T6: 1.85 mM Al + 0.002 mM Se. After exposing plants to different treatments for 30 and 60 days, were analyzed the biochemical variables lipid peroxidation, antioxidant enzymes and hydrogen peroxide (H_2O_2). Al stimulated antioxidant enzymes activity and promotes a H_2O_2 production increase. In the activity of the superoxide dismutase (SOD) enzyme, both elements attenuated the effect of Al, at 30 days in the shoot, already at 60 days only Si had significant action, but in the roots the elements did not revert the metal activity. In the analysis of guaiacol peroxidase (POD) enzyme activity, only Si had significant results. Aluminum increased H_2O_2 production, but its action was inhibited when applied in conjunction with elements considered beneficial. When analyzed the production of malondialdehyde, one of the products of lipid peroxidation, we can relate to the activity of antioxidant enzymes, since the increased activity may have reduced lipid peroxidation. In this way, we can consider that the Si can be related to mitigating effect of element's action in plants, because it was able to reverse the results, while Se had no potential to significantly inhibit the toxic effects of Al.

Keywords: *Pfaffia glomerata*. Stress. Beneficent Elements. Biochemical variables.

INTRODUÇÃO

O uso de vegetais como chá é uma prática muito comum utilizada pela população. No entanto, o consumo de plantas como chás sem acompanhamento da sua procedência pode ser danoso ao organismo humano. Entre essas plantas medicinais utilizadas pela população está a *Pfaffia glomerata*, conhecida como ginseng brasileiro. A *P. glomerata* desperta grande interesse comercial na produção de fitomedicamentos e suplementos alimentares em razão de suas propriedades antitumorais, antidiabéticas, tônicas e estimulantes, e contra distúrbios gástricos e reumatismo (MENDES; CARLINI, 2007; FERNANDES et al., 2015).

Essas plantas medicinais podem ser cultivadas em diferentes tipos de solos e locais, e o cultivo em áreas contaminadas pode fazer com que os vegetais acumulem metais, como é o caso do ginseng brasileiro, que está entre os vegetais que apresenta grau razoável de tolerância a metais (MALDANER et al., 2015). A poluição do ambiente por metais tem se tornado um problema em escala global (ALI et al., 2013), devido aos avanços da agricultura e indústrias.

Plantas crescendo em ambientes contaminados podem sofrer estresse oxidativo quando são expostas ao estresse por metais pesados (KIM et al., 2017), podendo causar assim lesões da membrana plasmática e afetar a atividade das aquaporinas (LIU et al., 2015). Como também demonstrado em outros estudos, a exposição das plantas a metais resulta no aumento da peroxidação lipídica (CAKMAK; HORST, 1991; YAMAMOTO et al., 1997, 2001) e na alteração da atividade de enzimas antioxidantes (SIMONOVICOVA et al., 2004; DIPIERRO et al., 2005; GUO et al., 2007).

O alumínio (Al) está entre estes metais tóxicos, pois as plantas ao serem afetadas pelo Al apresentam com frequência sintomas de déficit nutricional, uma vez que ele interfere no processo de absorção, translocação e transporte de nutrientes (SIVAGURU; HORST, 1998; FREITAS et al., 2006). Para que a atividade do Al não seja deletéria para a planta não prejudicando seu desenvolvimento e posteriormente seu consumo, é necessário encontrar maneiras que consigam impedir tal ação, como o uso de outros elementos químicos que são definidos como benéficos, entre eles o selênio (Se) e o silício (Si).

O Si está entre os elementos com maior concentração, podendo variar entre 28 e 32% em massa de todo material do solo (MALAVOLTA, 2006). Na agricultura é uma estratégia sustentável para o alívio de estresses bióticos e abióticos em várias plantas (ADREES et al., 2015; RIZWAN et al., 2015; WANG et al., 2017).

Sua presença no interior das células pode amenizar a toxidez de ferro, manganês, Al e sódio (EPSTEIN, 1994). Embora não seja considerado nutriente essencial para as plantas, o Si é classificado por muitos autores como benéfico ou útil, pois pode ter um papel importante na atividade metabólica, fisiológica e/ou estrutural, e melhora na sobrevivência das plantas expostas a diferentes estresses abióticos e bióticos (LIANG et al., 2015). Vários efeitos benéficos no crescimento e metabolismo das plantas, particularmente sob diferentes condições de estresse, foram observados com a aplicação de Si (ETESAMI; JEONG, 2018).

Outro elemento, assim como o Si, não considerado essencial para o desenvolvimento das plantas é o Se. O Se apresenta, como efeitos benéficos, a melhoria da capacidade antioxidante da planta (WANG et al., 2016). Outros estudos demonstraram diferentes ações do Se nas plantas, tais como tolerância a danos oxidativos (FENG et al., 2013; QING et al., 2015; TANG et al., 2015) e amenização dos efeitos de estresses abióticos e bióticos (HASANUZZAMAN; FUJIT, 2011; HAN et al., 2015).

Os estresses sofridos pelas plantas ativam as enzimas antioxidantes, e entre as principais estão às enzimas superóxido dismutase (E.C.1.15.1.1; SOD) e guaiacol peroxidase (E.C.1.11.1.7; POD). A enzima guaiacol peroxidase é especializada na eliminação de peróxido de hidrogênio (MOLLER et al., 2007) e age nos vacúolos, citosol e parede celular (FOYER; NOCTOR, 1998). Já a enzima superóxido dismutase protege as plantas de radicais superóxidos (ELSTNER; OSSWALD, 1994).

As peroxidases em plantas se apresentam como glicoproteínas e estão envolvidas em muitos processos como crescimento e desenvolvimento da planta (RIQUELME; CARDEMIL, 1993), lignificação (BRUCE; WEST, 1989), enrijecimento da parede (FRY, 1980), resistência a doenças, proteção contra H₂O₂ e outros oxidantes, degradação da clorofila e senescência (HIRAGA et al., 2001). Portanto, o objetivo deste trabalho foi verificar se o Se e o Si reduzem os efeitos tóxicos do Al sobre as variáveis

bioquímicas em plantas de *Pfaffia glomerata* cultivadas sob toxicidade do Al.

MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram desenvolvidos no Laboratório de Biotecnologia Vegetal e nas casas de vegetação pertencentes ao Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria. Foram utilizadas plantas de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen, acesso GD.

Material vegetal e condições de crescimento

As plantas de *P. glomerata* foram cultivadas *in vitro* durante 21 dias e posteriormente foram transferidas para vasos plásticos (5 L) contendo 5 kg de areia grossa como substrato. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, e cada unidade experimental consistiu de cinco plantas, sendo quatro repetições por tratamento, totalizando 120 vasos.

Durante o cultivo, a areia foi mantida em 70% da capacidade de retenção, determinada com a amostra alterada em uma tabela de tensão. A irrigação foi realizada diariamente substituindo a água transpirada e a evaporada, calculada pela pesagem dos vasos. A água evaporada e transpirada foi substituída diariamente com solução nutritiva, a qual teve a seguinte composição (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. O Si foi aplicado na forma de NaSiO_3 , o Se na forma de Na_2SeO_4 e o Al na forma AlCl_3 . O pH da solução foi ajustado para $4,5 \pm 0,1$ com uma solução de HCl ou NaOH (1 M).

Após sete dias de aclimação das plantas nos vasos, os tratamentos foram aplicados, os quais consistiram das seguintes combinações: 1) Controle (solução nutritiva completa); 2) 1,85 mM de Al; 3) 1,5 mM de Si; 4) 1,85 mM de Al + 1,5 mM de Si; 5) 0,002 mM de Se; 6) 1,85 mM de Al + 0,002 mM de Se.

Os tratamentos foram aplicados diariamente por 60 dias, sendo o pH regulado diariamente. As plantas foram coletadas aos 30 e aos 60 dias de exposição aos tratamentos, para a determinação das variáveis bioquímicas especificados abaixo.

Determinação de variáveis bioquímicas

No momento da coleta (30 e 60 dias de exposição), as amostras (raízes e parte aérea) foram separadas e lavadas com água deionizada por duas vezes e congeladas imediatamente em nitrogênio líquido. Essas amostras foram então transferidas para ultrafreezer -80°C até o momento das análises.

Peroxidação lipídica

A peroxidação lipídica foi determinada segundo o método de El-Moshaty et al. (1993). Amostras de folhas (0,5 g) e raízes (1,5 g) maceradas em nitrogênio líquido foram homogeneizadas em 4 mL de tampão citrato de sódio (pH 6,5) contendo 0,5% de Triton X-100. O homogeneizado foi centrifugado a $20.000 \times g$ por 15 min a 4°C . Em seguida, um mL do sobrenadante foi adicionado a 1 mL de ácido tricloroacético (TCA) 20% (w/v) contendo 0,5% (w/v) de ácido tiobarbitúrico (TBA). A mistura foi aquecida a 95°C por 40 min e então resfriada em banho de gelo por 15 min, sendo centrifugada a $10.000 \times g$ por 15 minutos. A absorbância do sobrenadante foi lida a 532 e 600 nm (para corrigir a turbidez não específica). A peroxidação lipídica foi expressa como nmol de malondialdeído (MDA) mg^{-1} de proteína.

Peróxido de hidrogênio

O conteúdo de peróxido de hidrogênio foi determinado de acordo com Loreto; Velikova (2001), onde 0,3 g de raízes e parte aérea foram homogeneizadas com 3 mL de 0,1% de ácido tricloroacético (TCA) (w/v). Posteriormente, o homogeneizado foi centrifugado a $12.000 \times g$ 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). A concentração de H_2O_2 do sobrenadante foi analisada comparando suas absorbâncias a 390 nm com uma curva padrão de calibração. A concentração de H_2O_2 foi expressa como $\mu\text{mol g}^{-1}$ peso fresco.

Atividade de enzimas antioxidantes

Para a determinação da atividade de enzimas antioxidantes, foram utilizadas amostras de folhas e raízes maceradas em nitrogênio líquido. Após a maceração,

amostras de 0,5 g foram homogeneizadas em 3,0 mL de tampão fosfato de sódio (pH 7,8) 0,05 M, contendo 1 mM de EDTA e 2% (w/v) de polivinilpirrolidona (PVP) (ZHU et al., 2004). Após o homogeneizado foi centrifugado a 13.000 x g durante 20 minutos a 4°C e o sobrenadante foi utilizado para a determinação da atividade das enzimas.

A atividade da enzima guaiacol peroxidase (POD) foi determinada segundo Zeraik et al. (2008), utilizando-se o guaiacol como substrato. A mistura de reação continha 1,0 mL de tampão fosfato de potássio (100 mM, pH 6,5), 1,0 mL de guaiacol (15 mM) e 1,0 mL de H₂O₂ (3,0 mM). Após a homogeneização e centrifugação, foi adicionado 50 µL do sobrenadante à solução. A atividade da enzima foi medida através da oxidação do guaiacol a tetraguaiacol através da leitura da sua absorvância a 470nm. Os resultados foram expressos em nmol de tetraguaiacol min⁻¹ mg de proteína. Para o cálculo, foi utilizado o coeficiente de extinção molar de 26,6 mM⁻¹ cm⁻¹.

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 µM, NBT 75 µM e riboflavina (2 µM). Em seguida os tubos foram incubados em lâmpada fluorescente de 15 Watts durante 15 minutos sendo então realizada a leitura da absorvância 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.

Análise estatística

Os dados foram analisados por meio do programa estatístico ASSISTAT versão 7.7, 2014 (SILVA, AZEVEDO, 2016) e do SigmaPlot, submetidos à comparação entre as médias pelo teste de Tukey a 5% probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo, na parte aérea, a atividade da enzima SOD foi maior nas plantas expostas somente ao Al aos 30 dias (Figura 1A), indicando que o Al promoveu estresse oxidativo, tendo menor valor quando o metal foi aplicado junto com os elementos considerados benéficos (Si e Se), onde a SOD apresentou atividade igual a das plantas controle. Essa resposta pode estar relacionada à ocorrência de menor absorção de Al na presença de elementos como o Si e o Se e também devido a redução do dano oxidativo nas plantas através da modulação dos sistemas de defesa antioxidante por esses elementos (ZHU; GONG, 2014; KIM et al., 2017).

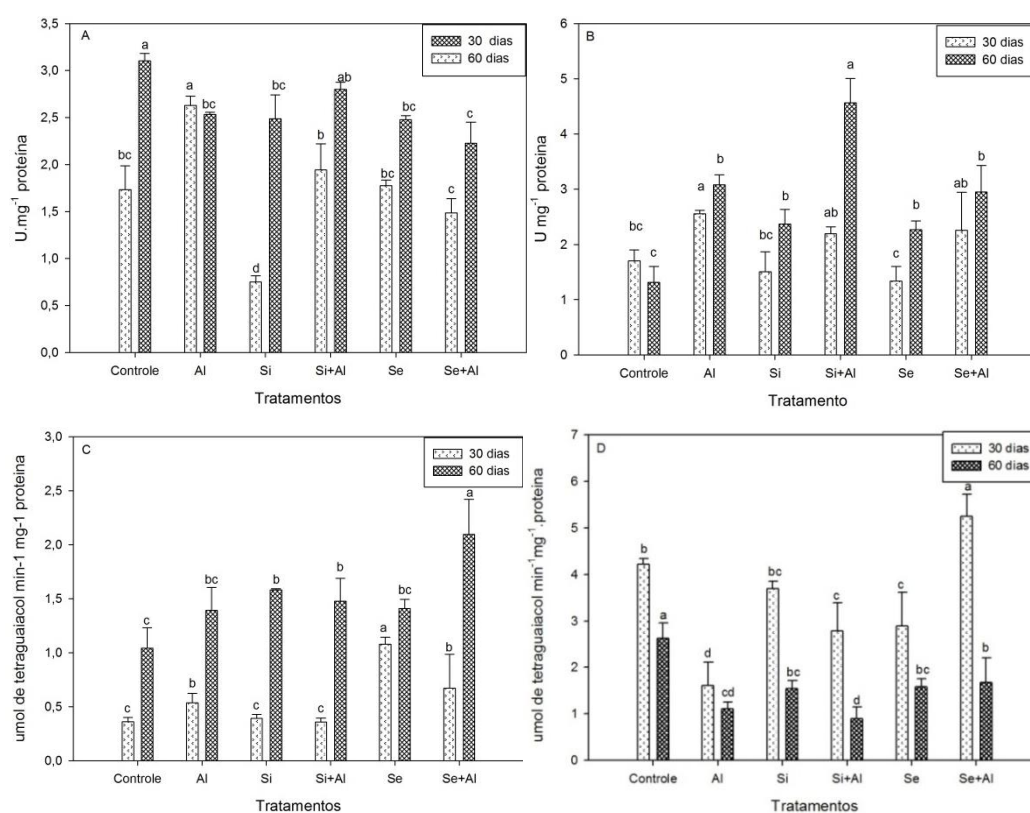
Já aos 60 dias, a enzima apresentou menor atividade nos tratamentos Al, Si, Se e Se+Al, comparado com o tratamento controle. No tratamento Si+Al, a atividade da enzima foi estatisticamente igual às plantas controle, e maior que o tratamento onde o Al estava presente de forma isolada no meio de crescimento, podendo ser considerada a capacidade do elemento em ativar genes envolvidos na produção de compostos secundários do metabolismo, como polifenóis e enzimas relacionadas aos mecanismos de defesa das plantas, como as enzimas antioxidantes (GRATÃO; et al, 2005), ou seja, o Si amenizou o efeito tóxico do Al sobre a atividade da enzima SOD na parte aérea.

Ainda, conforme trabalho de Dorneles et al. (2019), pode-se afirmar que conforme a concentração do Si, ocorre diferença na amenização da atividade enzimática, justificando assim que o elemento teve ação sobre o metal aos 30 dias e aos 60 não houve diminuição na atividade enzimática. Como mostrado em diversos estudos, o uso de Si na agricultura é uma estratégia sustentável para o alívio de estresses bióticos e abióticos em várias plantas, como arroz, cevada, milho e cana de açúcar (COOKE; LEISHMAN, 2011; BALAKHNINA et al., 2012; GUNTZER et al., 2012; HERNANDEZ-APAOLAZA, 2014; MEENA et al., 2014; ADREES et al., 2015; RIZWAN et al., 2015; WANG et al., 2017).

Da mesma forma que para a parte aérea, o Al promoveu um aumento na atividade da SOD nas raízes aos 30 e 60 dias de exposição (Figura 1B) e os elementos benéficos somente foram eficientes em amenizar esse efeito do Al sobre a atividade da

SOD aos 30 dias de exposição. Portanto o Si no meio não interferiu de forma significativa no efeito tóxico do Al sobre a atividade da SOD aos 60 dias, podendo estar vinculado a quantidade de tempo de exposição ao tratamento.

Figura 1 - Efeito dos diferentes tratamentos sobre a atividade da superóxido dismutase na parte aérea (A); e nas raízes (B) e da guaiacol peroxidase na parte aérea (C) e nas raízes (D) em plantas de *Pfaffia glomerata* aos 30 e 60 dias



*Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo Teste de Tukey a 5% probabilidade, em relação ao tempo de análise.

Na parte aérea das plantas de *P. glomerata*, a atividade da enzima POD, aos 30 dias, foi maior na presença de Al, Se e Se+Al (Figura 1C). No tratamento Si+Al, a atividade da enzima foi estatisticamente igual às plantas controle, e maior que o tratamento onde o Al estava presente de forma isolada no meio de crescimento, ou seja, o Si amenizou o efeito tóxico do Al sobre a atividade da enzima POD na parte

aérea, indicando desta maneira que o Si tem o potencial de ativar o sistema antioxidante.

Quando analisados aos 60 dias, nas folhas (Figura 1C), o Al não afetou de forma significativa a atividade da POD, comparado com o tratamento controle. Ainda, podemos constatar que quando o Al foi aplicado junto com os elementos benéficos, ambos mostraram atividade de amenizar a ação do metal. Cabe salientar que por ser uma planta considerada com grau razoável de tolerância a metais, pode ter ocorrido uma maior concentração de Al na parte aérea das plantas, justificando a maior atividade de ambas as enzimas nesta região.

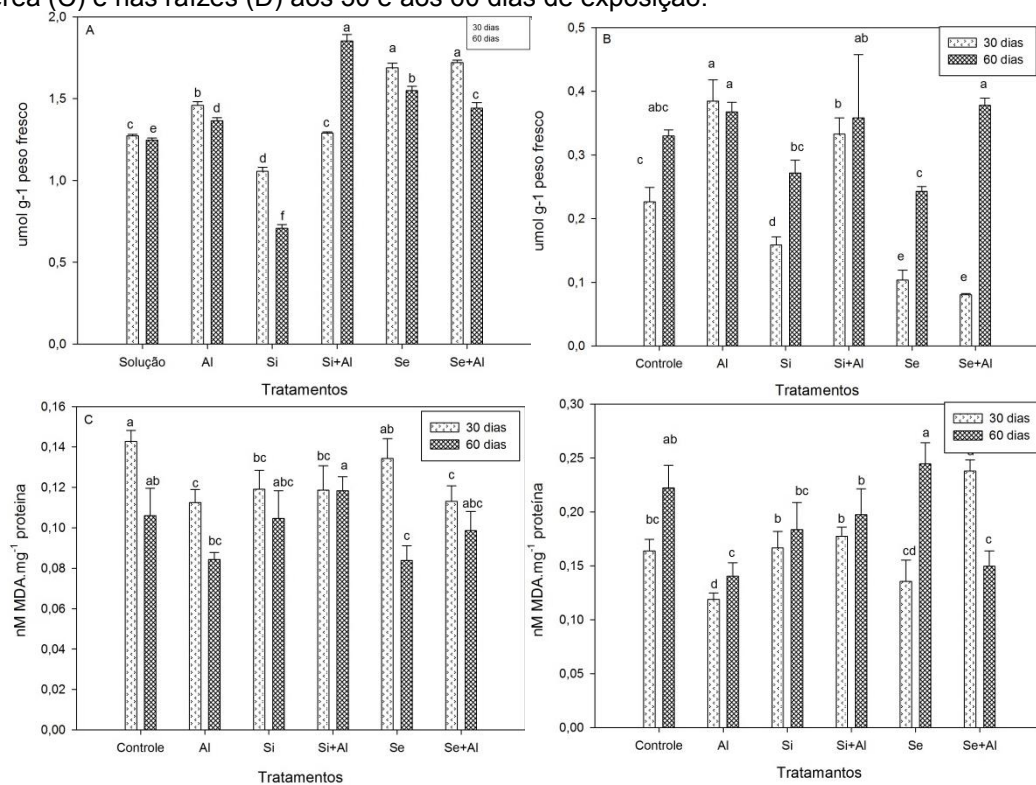
Nas raízes, aos 30 dias, o Al promoveu uma redução na atividade da POD, enquanto houve maior atividade da POD no tratamento Al+Se, em relação ao tratamento com Al. Além disso, podemos verificar que o tratamento Al+Si também alterou a ação do Al nas raízes das plantas. Já, aos 60 dias houve redução da atividade da POD para todos os tratamentos comparados ao controle, podendo isso estar vinculado ao efeito do Si no sistema antioxidante enzimático da planta, mostrando potencial para ser utilizado no alívio de estresse causado por metais tóxicos (PEREIRA et al., 2018).

O estresse oxidativo também foi avaliado em termos de aumento em níveis de malondialdeído (MDA) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Em trabalhos relatados na literatura, a exposição da planta ao Al aumenta a peroxidação lipídica (CAKMAK; HORST, 1991; YAMAMOTO et al., 1997, 2001) e altera a atividade de enzimas antioxidantes (SIMONOVICOVA et al., 2004; DIPIERRO et al., 2005; GUO et al., 2007). Os resultados mostraram que o Al causou um estresse, o qual aumentou a produção de H_2O_2 , tanto na folha quanto na raiz em ambos os períodos de avaliação (Figuras 2A e 2B). Cabe salientar que a ação dos elementos benéficos foi distinta conforme o elemento e período analisados. Aos 30 dias houve redução do conteúdo de H_2O_2 nos tratamentos Si+Al na parte aérea (Figura 2A), comparado com o tratamento onde o Al estava de forma isolada. Por outro lado, nos tratamentos de Se+Al e Al houve uma elevação na produção de H_2O_2 , assim como da enzima POD, que aumenta a atividade para detoxificar o H_2O_2 . Nas raízes não houve redução da variável nos tratamentos de Al e Se+Al aos 30 dias (Figura 2B) em relação ao tratamento contendo somente Al.

Para a peroxidação lipídica, conforme as figuras 2C e 2D, podemos verificar que a produção de MDA, quando a planta foi exposta aos tratamentos com Al e com Si e Se isolados foi menor em relação ao controle aos 30 dias na parte aérea e 30 e 60 dias na raiz. Possivelmente, o aumento na atividade das enzimas antioxidantes tenha evitado dano pelo Al em lipídios de membrana. As enzimas antioxidantes são ativadas na presença de Se reduzindo a taxa de peroxidação lipídica e formação de peróxido de hidrogênio, reduzindo assim a produção de MDA (DJANAGUIRAMAN et al., 2005). Em relação à produção de H_2O_2 , que é o produto da detoxificação do radical superóxido (O_2^-) realizado pela SOD, a enzima POD atuou reduzindo H_2O_2 na parte aérea.

O tratamento com Si reduziu a ação do Al nas folhas aos 30 dias, apresentando menor produção de H_2O_2 (Figura 2A). O Si inibe os efeitos tóxicos associados a metais tóxicos em vegetais (PARROTTA et al., 2015), pois o Si estimula o sistema antioxidante, e também pode complexar o íon metálico (NEUMAM; NIED, 2001). Em relação ao Se, a inibição da ação do Al foi eficiente nas folhas aos 60 dias e na raiz aos 30 dias.

Figura 2 – Efeito do Si, Se e Al em plantas de *Pfaffia glomerata* sobre o conteúdo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) na parte aérea (A), e na região radicular (B), e da peroxidação lipídica (TBARS) na parte aérea (C) e nas raízes (D) aos 30 e aos 60 dias de exposição.



*Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo Teste de Tukey a 5% probabilidade, em relação ao tempo de análise.

CONCLUSÃO

A aplicação do Si de maneira geral, apresentou maior capacidade de mitigar os efeitos do Al, auxiliando na atividade das enzimas antioxidantes sobre os efeitos tóxicos do Al. Com estes resultados podemos concluir que o Si pode ser utilizado para aumentar a capacidade de defesa das plantas de *P. glomerata* contra o estresse oxidativo induzido pela toxicidade de Al, enquanto o Se não apresentou potencial de inibir de forma significativa os efeitos tóxicos do Al.

REFERÊNCIAS

ADREES, M. et al. Mechanisms of silicon-mediated alleviation of heavy metal toxicity in plants: a review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.119, p.186–197, 2015.

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

BALAKHNINA, T.I. et al. Effects of silicon on growth processes and adaptive potential of barley plants under optimal soil watering and flooding. **Plant Growth Regulation**, v. 67, p.35–43, 2012.

BRUCE, R.J.; WEST, C.A. Elicitation of Lignin Biosynthesis and Isoperoxidase Activity by Pectic Fragments in Suspension-Cultures of Castor Bean. **Plant Physiology**, v.91, p.889-897, 1989.

CAKMAK, I.; HORST, J.H. Effects of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). **Physiologia Plantarum**, v.83, n.3, p.463-468, 1991.

COOKE, J., LEISHMAN, M.R. Is plant ecology more siliceous than we realise? **Trends Plant Science**, v.16, p.61–68, 2011.

DIPIERRO N. et al. Changes in the ascorbate system in the response of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) roots to aluminium stress. **Journal of Plant Physiology**, v.162, p.529–536, 2005.

DJANAGUIRAMAN, M. et al. Selenium – an antioxidative protectant in soybean during senescence. **Plant and Soil**, v.272, p.77-86, 2005.

DORNELES, A. O.S. et.al. Aluminum stress tolerance in potato genotypes grown with silicon. **Bragantia**, v.78, n.1, p.12-25, 2019.

EL-MOSHATY, F.I.B. et al. Lipid peroxidation and superoxide productions in cowpea (*Vigna unguiculata*) leaves infected with tobacco rings virus or southern bean mosaic virus. **Journal Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.43, n.15, p.109-119, 1993.

ELSTNER, E. F.; OSSWALD, W. Mechanisms of oxygen activation during plant stress. In: CRAWFORD, R.M.M.; HENRY, G.A.F.; GOODMAN, B.A. (Ed.). Oxygen and environmental stress in plants. **Royal Society of Edinburgh**, p.131-154, 1994.

EPSTEIN, E. The anomaly of silicon in plant biology. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.91, p.11- 17, 1994.

ETESAMI, H., and JEONG, B. R. Silicon (Si): review and future prospects on the action mechanisms in alleviating biotic and abiotic stresses in plants. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v.147, p.881-896, 2018.

FENG, R.; CHAOYANG W.; SHUXIN T. The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. **Environmental and Experimental Botany**, v.87, p.58–68, 2013.

FERNANDES, N.F. et al. Supplementation with *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen does not affect androgenic-anabolic parameters in male rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.161, n.8, p.46–52, 2015.

FOYER C.H.; NOCTOR, G. Ascorbate and glutathione keeping active oxygen under control. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.49, p.249–79, 1998.

FREITAS, F.A. et al. Absorção de P, Mg, Ca e K e tolerância de genótipos de arroz submetidos a estresse por alumínio em sistemas hidropônicos. **Ciência Rural**, v.36, n.1, p.72-79, 2006.

FRY, S. C. Gibberellin-controlled pectinic acid and protein secretion in growing cells. **Phytochemistry**, v.19, p.735-740, 1980.

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Purification and quantitative relationship with water soluble protein in seedlings. **Journal of Plant Physiology**, v.48, n.59, p.315-318, 1977.

GUNTZER, F., KELLER, C., MEUNIER, J.-D. Benefits of plant silicon for crops: a review. **Agronomy for Sustainable Development** v.32, p.201–213, 2012.

GUO T. R. et al. Influence of aluminum and cadmium stresses on mineral nutrition and root exudates in two barley cultivars. **Pedosphere**, v.17, p.505– 512, 2007.

HAN, D. et. al. Interactive effects of selenium and arsenic on growth, antioxidant system, arsenic and selenium species of *Nicotiana tabacum* L. **Environmental and Experimental Botany**, v.117, p.12–19, 2015.

HASANUZZAMAN, M.; FUJITA, M. Selenium pretreatment upregulates the antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system and confers enhanced tolerance to drought stress in rapeseed seedlings. **Biological Trace Element Research**, v.143, p.1758–1776, 2011.

HERNANDEZ-APAOLAZA, L. Can silicon partially alleviate Micronutrient deficiency in plants? A review. **Planta**, v.240, p.447–458, 2014.

HIRAGA, S. et al. A large family of class III plant peroxidase. **Plant Cell Physiology**, v.42, p.462-468, 2001.

KIM, Y.-H. et al. Silicon regulates antioxidant activities of crop plants under abiotic-induced oxidative stress: a review. **Frontiers in Plant Science**, v.8, 2017.

LIANG, Y. et al. A. Silicon in Agriculture: From Theory to Practice. **Springer**, 2015.

LIU, P. et al. Enhanced root hydraulic conductance by aquaporin regulation accounts for silicon alleviated salt induced osmotic stress in *Sorghum bicolor* L. **Environmental and Experimental Botany**, v.111, p.42–51, 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.9, p.1781-1787, 2001.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 638 p. 2006.

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

MEENA, V. et al. A case for silicon fertilization to improve crop yields in tropical soils. **Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B - Biological Sciences**, v.84, n.3, p.505-518, 2014.

MENDES, F.R.; CARLINI, E.A. Brazilian plants as possible adaptogens: an ethnopharmacological survey of books edited in Brazil. **Journal of**

Ethnopharmacology, v.109, p.493–500, 2007.

MOLLER, I. M.; JENSEN, P. E.; HANSSON, A. Oxidative modifications to cellular components in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v.58, p.459-481, 2007.

PARROTTA, L. et al., Target or barrier? The cell wall of early- and later-diverging plants vs cadmium toxicity: differences in the response mechanisms. **Frontiers Plant Science**, v.6, 2015.

PEREIRA, A.S. et al. Selenium and silicon reduce cadmium uptake and mitigate cadmium toxicity in *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen plants by activation antioxidant enzyme system. **Environmental Science and Pollution Research**, v.25, p.18548–18558, 2018.

QING, X. et al. Selenium alleviates chromium toxicity by preventing oxidative stress in cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. *Pekinensis*) leaves. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.114, p.179–189, 2015.

RIQUELME, A.; CARDEMIL, L. Peroxidases in the cell walls of seeds and seedlings of *Araucaria araucana*. **Phytochemistry**, v.32, p.15-20, 1993.

RIZWAN, M.; ALI, S. et al. Mechanisms of silicon-mediated alleviation of drought and salt stress in plants: a review. **Environ. Sci. Poll. Res.**, v.22, p.15416–15431, 2015.

SILVA, F.A.S.; AZEVEDO, C.A.V. The Assisat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. **African Journal Agricultural Research**, v.11, n.39, p.3733-3740, 2016.

SIMONOVICOVA, M. et al. Root growth inhibition by aluminum is probably caused by cell death due to peroxidase mediated hydrogen peroxide production. **Protoplasma**, v.224, p.91–98, 2004.

SIVAGURU, M.; HORST, W. J. The Distal Part of the Transition Zone Is the Most Aluminum-Sensitive Apical Root Zone of Maize. **Plant Physiology**, v.116, p.155–163, 1998.

TANG, H. et al. Effects of selenium and silicon on enhancing antioxidative capacity in ramie (*Boehmeria nivea* L. Gaud.) under cadmium stress. **Environmental Science and Pollution Research**, v.22, p.9999–10008, 2015.

WANG, M. et al. Role of Silicon on Plant–Pathogen Interactions, **Frontiers Plant Science**, v.8, n.701, 2017.

WANG, Q.Y. et al. Influence of longterm fertilization on selenium accumulation in soil

and uptake by crops. **Pedosphere**, v.26 (1), p.120–129, 2016.

YAMAMOTO Y.; HACHIYA A.; MATSUMOTO, H. Oxidative damage to membranes by a combination of aluminum and iron in suspension-cultured tobacco cells. **Plant and Cell Physiology**, v.38, p.1333–1339, 1997.

YAMAMOTO, Y.; KOBAYASHI, Y.; MATSUMOTO, H. Lipid peroxidation is an early symptom triggered by aluminum, but not the primary cause of elongation inhibition in pea roots. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.86, n.125, p.199-208, 2001.

ZERAIK, A.E.; SOUZA, F.S.; FATIBELLO-FILHO, O. Desenvolvimento de um spot test para o monitoramento da atividade da peroxidase em um procedimento de purificação. **Química Nova**, v.31, p.731-734, 2008.

ZHU, Y.X.; GONG, H.J. Beneficial effects of silicon on salt and drought tolerance in plants. **Agronomy for Sustainable Development**, v.34, p.455–472, 2014.

ZHU, Z; WEI, G.; LI, J.; QIAN, Q.; YU, J. 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.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com os resultados obtidos podemos observar a ação do selênio e do silício em amenizar o estresse causado pelo alumínio em plantas de *Pfaffia glomerata* cultivadas em vasos. O elemento que se mostrou mais eficiente na redução do estresse por Al foi o Si, em relação as variáveis de crescimento, principalmente no período de 30 dias. Além disso, para as variáveis bioquímicas o Si aumentou a atividade das enzimas antioxidantes quando aplicado junto com o Al, podendo assim ser uma opção para a mitigação da contaminação por metais em plantas. Já o Se, como demonstrado nos resultados, não teve uma ação mitigadora em relação ao metal. No entanto, mais estudos são necessários para aprofundar os efeitos específicos desses elementos na amenização da toxicidade do alumínio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLA, M.M. Beneficial effects of diatomite on growth, the biochemical contents and polymorphic DNA in *Lupinus albus* plants grown under water stress. **Agriculture and Biology Journal of North America**, v.2, p.207-220, 2011.

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

BLOOM, P.R.; ERICH, M.S. The quantitation of aqueous aluminum. In: SPOSITO, G. (Coord.). **The Environmental chemistry of aluminum**. 2 ed. Boca Raton: CRC Press, p. 1-38, 1996.

CALGAROTO N.S. et al. Antioxidant system activation by mercury in *Pfaffia glomerata* plantlets. **Biomaterials**, v.23, p.295-305, 2010.

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

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

CARTES, P. et al. Selenium improves the antioxidante ability against aluminium-induced oxidative stress in ryegrass roots. **Annals of Applied Biology**, v.156, n.10, p.297-307, 2010.

CARVALHO, J.R.P. et al. Resposta do feijoeiro à aplicação de fósforo em solos dos cerrados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.19, p.61-67, 2003.

COLEMAN, D. C.; CALLAHAM, M. A.; CROSSLEY, D. A. Chapter 1 - Introduction to Soil: Historical Overview, Soil Science Basics, and the Fitness of the Soil Environment. In: COLEMAN, D. C.; CALLAHAM, M. A.; CROSSLEY, D. A. (Ed.). **Fundamentals of Soil Ecology** (Third Edition), Academic Press, p.1-20, 2018.

CRUSCIOL, C.A.C. et al. Integração lavoura pecuária: benefícios das gramíneas perenes nos sistemas de produção. **Informações Agronômicas**, n.125, p.215, 2009.

DELHAIZE, E.; RYAN, P. Update on environmental stress: aluminum toxicity and tolerance in plants. **Plant Physiology**, v.107, n.2, p.315-321, 1995.

DIPIERRO, N. et al. Changes in the ascorbate system in the response of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) roots to aluminium stress. **Journal of Plant Physiology**, v.162, p.529–536, 2005.

EMSLEY, J. Nature's Building Blocks: **An A-Z Guide to the Elements**. Oxford

University Press, New York, USA, 2011.

EPSTEIN, E. Aqueous silicate complexes in wheat, *Triticum aestivum* L. **Plant, Cell and Environment**, v.27, p.49–52, 2003.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A.J. **Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives** 2nd edn. Sunderland, MA, USA: Sinauer Associates, 2005.

EPSTEIN, E. The anomaly of silicon in plant biology. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.91, p.11-17, 1994.

EXLEY, C. Reflections upon and recent insight into the mechanism of formation of hydroxyaluminosilicates and the therapeutic potential of silicic acid. **Coordination Chemistry Reviews**, v.256, p.82-88, 2012.

FARAHMAND, F.; PIRUMYAN, G.; FARAHMAND G. F. Evaluation of heavy metals pollution in drinking water based on ground water sources. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v.5, n.6, p.891-896, 2011.

FILEK, et al. The protective role of selenium in rape seedlings subjected to cadmium stress. **Journal of Plant Physiology**, v.165, p.833-844, 2008.

FORTUNATO, R.P.; NICOLOSO, F.T. Toxidez de alumínio em plântulas de grápia (*Apuleia leiocarpa* Vog. Macbride). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.1, p.89-95, 2004.

GIANNAKOULA A, MOUSTAKAS M, SYROS T e YUPSANIS T. O stress de alumínio induz a suprarregulação de um sistema antioxidante eficiente na linha de milho tolerante ao Al, mas não na linha sensível ao Al. **Environmental and Experimental Botany**, v.67, p.487-494, 2010.

GOTO, M. et al. Protective effect of silicone on phenolic biosynthesis and ultravioleta a spectral stress in ricecrop. **Plant Science**, v.164, p.349–356, 2003.

GUIMARÃES, et al. Resistência do arroz de terras altas ao alumínio. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.10, n.4, p.855-860, 2006.

GUNES, A. et al. Silicon increases boron tolerance and reduces oxidative damage of wheat grown in soil with excess boron. **Biologia Plantarum**, Praha, v.51, n.3, p.571-574, 2007.

GUO T. R. et al. Influence of aluminum and cadmium stresses on mineral nutrition and root exudates in two barley cultivars. **Pedosphere**, v.17, p.505–512, 2007.

HARTIKAINEN, H. Biogeochemistry of selenium and its impact on food chain quality and human health. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v.18, p.309–318,

2005.

HIRADATE, S.; TANIGUCHI, S.; SAKURAI, K. Aluminum speciation in aluminum- silica solutions and potassium chloride extracts of acidic soils. **Soil Science Society of America Journal**, v.62, p.630-636, 1998.

HODSON, M.J.; EVANS, D.E. Aluminium/silicon interactions in higherplants. **Journal of Experimental Botany**, v.46, p.161-171, 1995.

HOSSAIN, M.A. et al. Aluminum-induced lipid peroxidation and lignin deposition are associated with an increase in H₂O₂ generation in wheat seedlings. **Soil Science Plant Nutrition**, v.51, n.23, p.223-230, 2005.

INANAGA, S.; OKASAKA, A. Calcium and silicon binding compounds in cell wall of rice shoots. **Soil Sci. Plant Nutr.**, v.41, p.103–110, 1995.

INANAGA, S.; OKASAKA, A.; TANAKA, S. Does silicon exist in association with organic compounds in rice plant? **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v.41, n.1, p.111-117, 1995.

IPNI – **The International Plant Names Index**. 2009. Disponível em: <<http://www.ipni.org/index.html>>. Acessado em: 22 set. 2017.

JONES, D.L. et al. Spatial coordination of aluminium uptake, production of reactive oxygen species, callose production and wall rigidification in maize roots. **Plant Cell and Environment**, v.29, p.1309-1318, 2006.

JUDD, W.S. et al. **Plant Systematics – a phylogenetic approach**. 2 ed. Sinauer Associates, Sunderland, 2002.

KAVAMURA, V.N.; ESPOSITO, E. Biotechnological strategies applied to the decontamination of soils polluted with heavy metals. **Biotechnology Advances**, v.28, n.5, p.61-69, 2010.

KHAN, A.; DOBSON, J.; EXLEY, C. Redox cycling of iron by Ab42. **Free Radical Biology and Medicine**, v.40, n.22, p.557-569, 2006.

KOLESNIKOV, M.P.; GINS, V.K. Forms of silicon in medicinal plants. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v.37, p.616-620, 2001.

KORNDÖRFER, G.H. Elementos benéficos. In: FERNANDES, M. S. **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. p. 355-374, 2006.

LIANG, Y. et al. Mechanisms of silicon-mediated alleviation of abiotic stresses in higher plants: a review. **Environmental Pollution**, Barking, v.147, p.422-428, 2007.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, p. 544, 2002.

MA, B. et al. Aluminum-induced oxidative stress and changes in antioxidant defenses in the roots of rice varieties differing in Al tolerance. **Plant Cell Reports**, v.31, n.11, p.687-696, 2012.

MA, J.F.; YAMAJI, N. Silicon uptake and accumulation in higher plants. **Trends Plant Science**, v.11, p.392-397, 2006.

MACÊDO, L.S.; MORRIL, W.B.B. Toxicidade dos ametais no solo e nas plantas: uma revisão de literatura. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.2, p.39-42, 2008.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Ceres, p. 251 1980.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, p. 638 2006.

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

MANAHAN S **Introducción a la Química Ambiental**. Ediciones Reverté S.A., México D.F., 2006.

MARSCHNER, P. **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. 3rd. ed. London: Academic Press, p. 651, 2012.

MENDES, F.R.; CARLINI, E. A. Brazilian plants as possible adaptogens: an ethnopharmacological survey of books edited in Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v.109, p.493–500, 2007.

MORA, M.L. et al. Selenium uptake and its influence on the antioxidative system of white clover as affected by lime and phosphorus fertilization. **Plant and Soil**, v.303, p.139–149, 2008.

MUJIK, J.I. et al. Pro-oxidant activity of aluminum: stabilization of the aluminum superoxide radical ion. **The Journal of Physical Chemistry**, v.115, p.6717-6723, 2011.

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. 724-730, 2007.

NEUHIERL, B.; BOCK, A. On the mechanism of selenium tolerance in selenium-accumulating plants. Purification and characterization of a specific selenocysteine

methyltransferase from cultured cells of *Astragalus bisulcatus*. **European journal of biochemistry**, v.239, p.235-238, 1996.

OLIVEIRA, F. *Pfaffia paniculata* (Martius) Kuntze—O ginseng-brasileiro. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.1, p.1–117, 1986.

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

PEDRERO, et al. Protective Effect of Selenium in Broccoli (*Brassica oleracea*) Plants Subjected to Cadmium Exposure. **Journal of agricultural and Food Chemistry**, v.56, p.266–271, 2008.

PILON-SMITS, E.A.H. Selenium in plants. Progress in Botany (Luettge, U, Ed.) **Springer-Verlag**, Heidelberg, Germany, p 93-107, 2015.

PRABAGAR, S.; HODSON, M.J.; EVAN, D.E. Silicon amelioration of aluminium toxicity and cell death in suspension cultures of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.). **Environmental and Experimental Botany**, v.70, p.266-276, 2011.

PULZ, A. L. et al. Influência de silicato e calcário na nutrição, produtividade e qualidade da batata sob deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, n.4, 2008.

RIBEIRO C, CAMBRAIA J, PEIXOTO PHP e FONSECA JUNIOR EM. Resposta do sistema antioxidante induzida pelo alumínio em duas cultivares de arroz. **Journal Plant Physiology**, v.24, p.107-116, 2012.

SCANDALIOS, J.G. The rise of ROS. **Trends in Biochemical Sciences**, v.27, p.483-486, 2002.

SCHLINDWEIN, J.A. et al. Redução da toxidez de alumínio em raízes de soja por culturas antecessoras no sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.9, n.1, p.85-88, 2003.

SILVA S. Aluminium Toxicity Targets in Plants. **Journal of Botany**, v.2012, p.1-8, 2012.

SKREBSKY, E.C. et al. Effect of cadmium on growth, micronutrient concentration, and d-aminolevulinic acid dehydratase and acid phosphatase activities in plants of *Pfaffia glomerata*. **Journal Plant Physiology**, v.20, p.285-294, 2008.

SOUZA, M.C.; CISLINSKI, J.; ROMAGNOLO, M.B. Levantamento florístico. In: VAZZOLER, A.E.A. de M., AGOSTINHO, A.A.; HAHN, N.S. (Eds.). **A planície de Inundação do Alto rio Paraná: aspectos físicos, biológicos e socioeconômicos**. Maringá: EDUEM, p. 343-68, 1997.

TABALDI, L.A. et al. Physiological and oxidative stress responses of four potato clones to aluminum in nutrient solution. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Piracicaba, v.19, n.3, p.211-222, 2007.

TOMLJENOVIC, L. Aluminum and Alzheimer's disease: after a century of controversy, is there a plausible link? **Journal of Alzheimers Disease**, v.23, p.567-598, 2011.

VIGO, C.L.S. et al. Caracterização farmacognóstica comparativa da *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen e *Herbanthe paniculata* Martius-Amaranthaceae. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.6, n.2, p.7-19, 2003.

WALLACE, A. Participation of silicon in cation-anion balance as a possible mechanism for aluminum and iron tolerance gramineae. **Journal of Plant Nutrition**, v. 115, p.1345-1351, 1992.

WANG, M. et al. Role of Silicon on Plant–Pathogen Interactions. **Front. Plant Science**, v.8, 2017.

WIESE, H., NIKOLIC, M., RÖMHELD, V. Silicon in plant nutrition. Effect of zinc, manganese and boron leaf concentrations and compartmentation. In Sattelmacher, B., Horst, W. J.: The apoplast of higher plants: compartment of storage, transport and reactions. **Springer Verlag**, p.33–47, 2007.

YAO, X. et al. Effects of selenium on agronomical characters of winter wheat exposed to enhanced ultraviolet-B. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.92, n.6, p.320–326, 2013.

YU, H.N. et al. The effect of aluminum treatments on the root growth and cell ultrastructure of two soybean genotypes. **Crop Protection**, v.30, p.323-328, 2011.

ZHANG, L.H.; BYRNE, P.F.; PILON-SMITS, E.A.H. Mapping quantitative trait loci associated with selenate tolerance in *Arabidopsis thaliana*. **New Phytology**, v.170, p.33-42, 2006.

ZHU, Y. G. et al. Selenium in higher plants: understanding mechanisms for biofortification and phytoremediation. **Trends in Plant Science**, v.14, p.436-442, 2009.

APÊNDICE

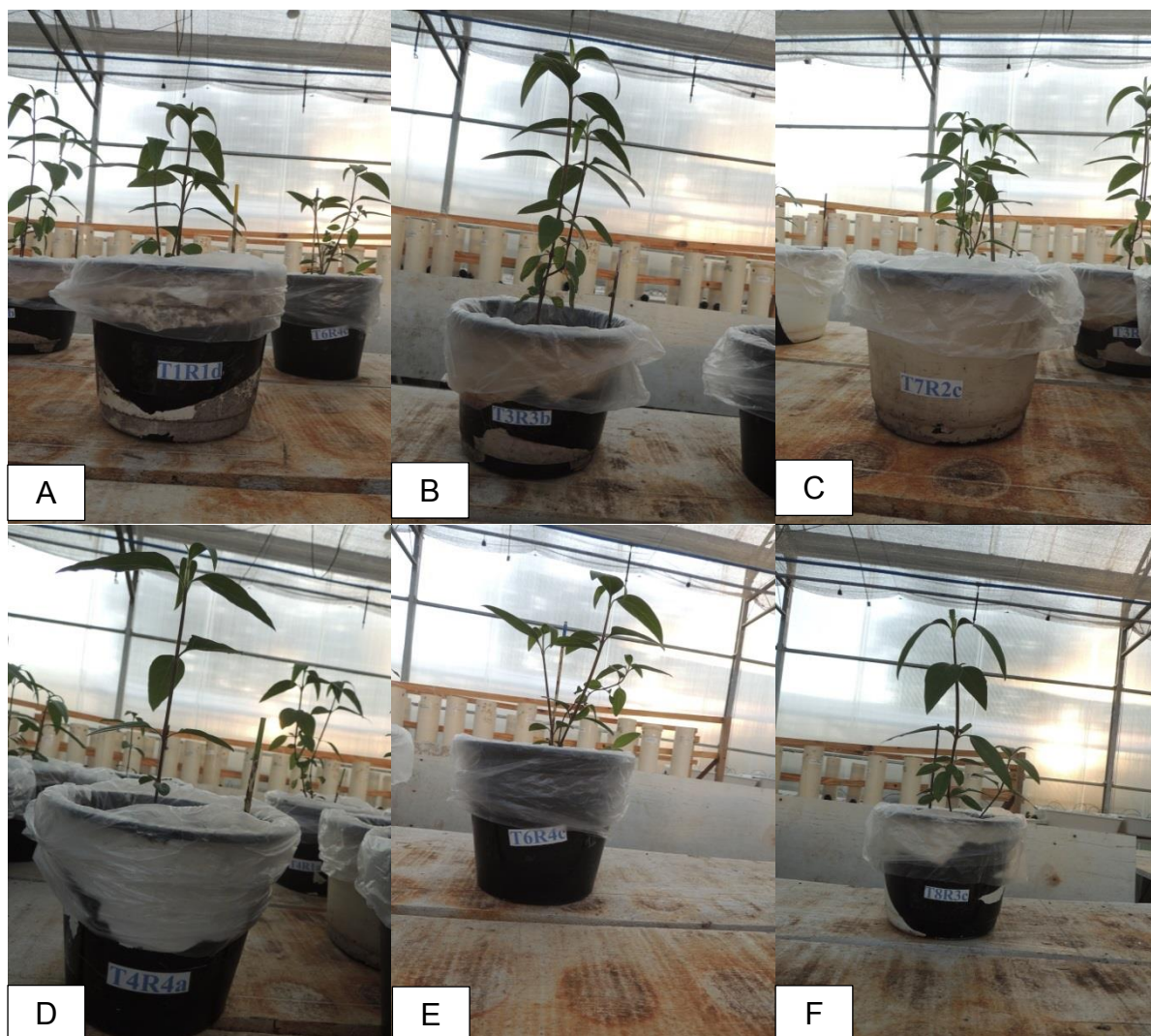


Figura 1 - Plantas de *Pffafia glomerata* após o período de aclimação. (A) Controle; (B) Al; (C) Si; (D) Si+Al; (E) Se; (F) Se+Al.

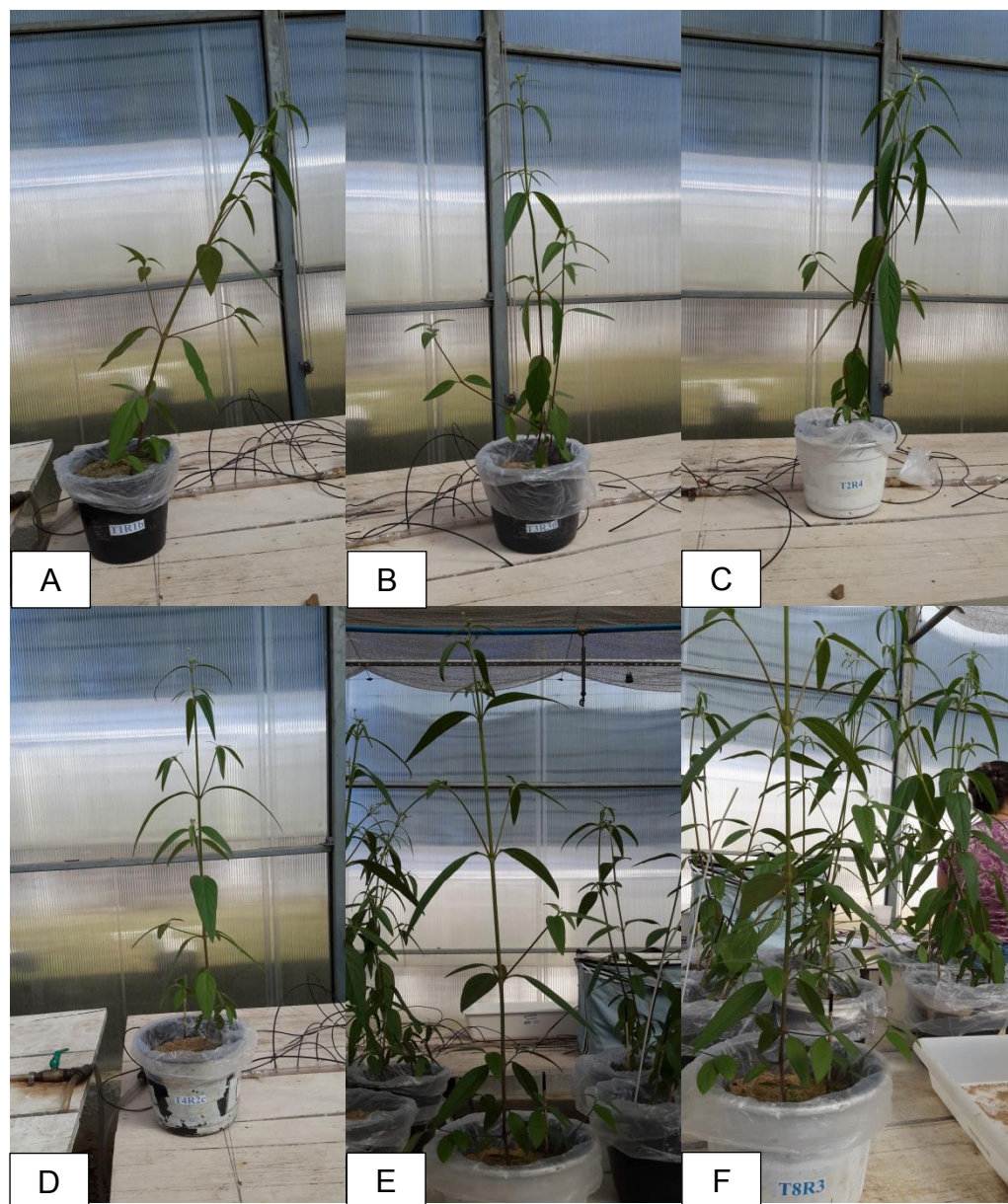


Figura 2 - Plantas de *Pffafia glomerata* após 30 dias expostas aos diferentes tratamentos. (A) Controle; (B) Al; (C) Si; (D) Si+Al; (E) Se; (F) Se+Al.

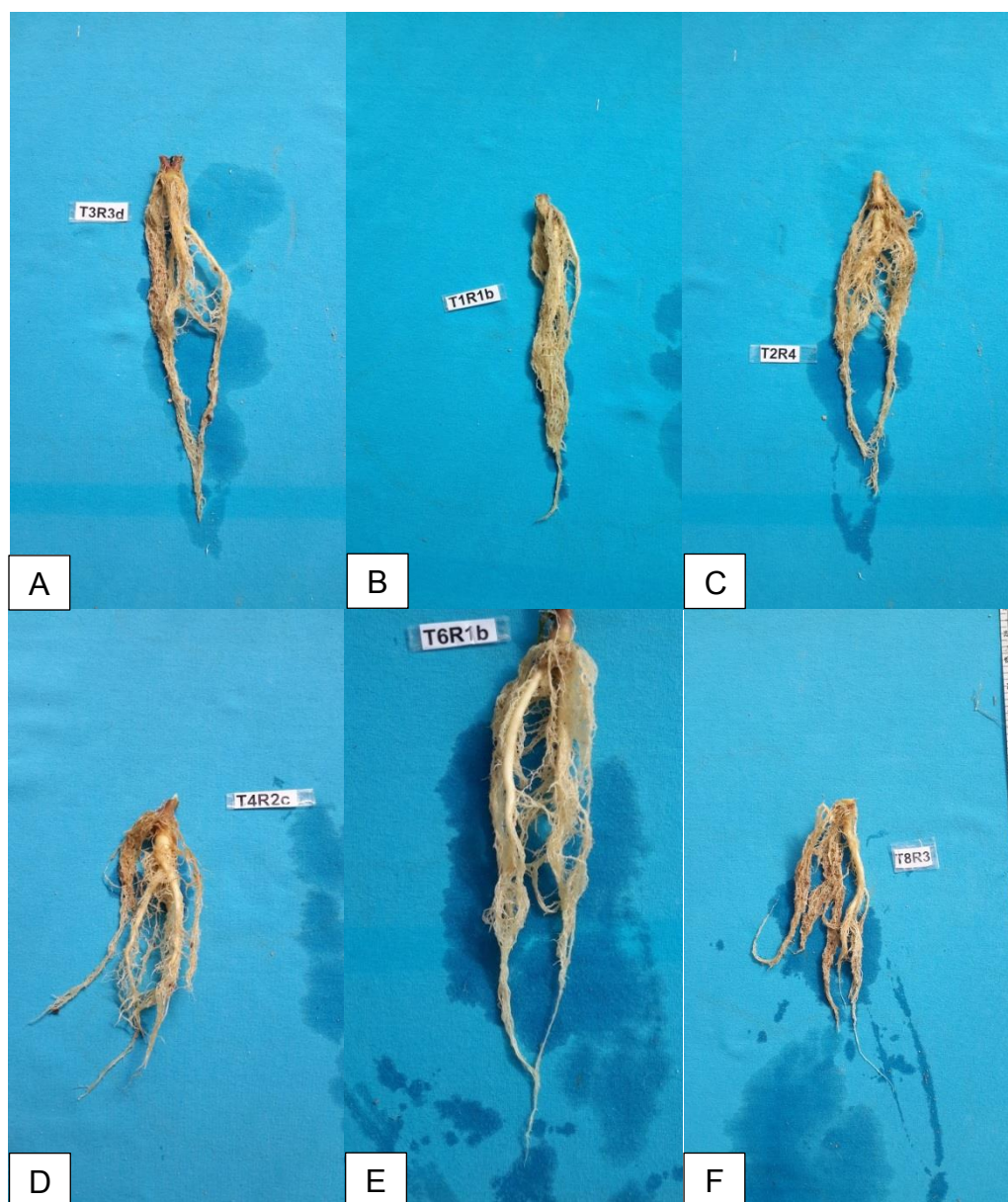


Figura 3 – Raízes de *Pffafia glomerata* após 30 dias expostas aos diferentes tratamentos. (A) Controle; (B) Al; (C) Si; (D) Si+Al; (E) Se; (F) Se+Al.

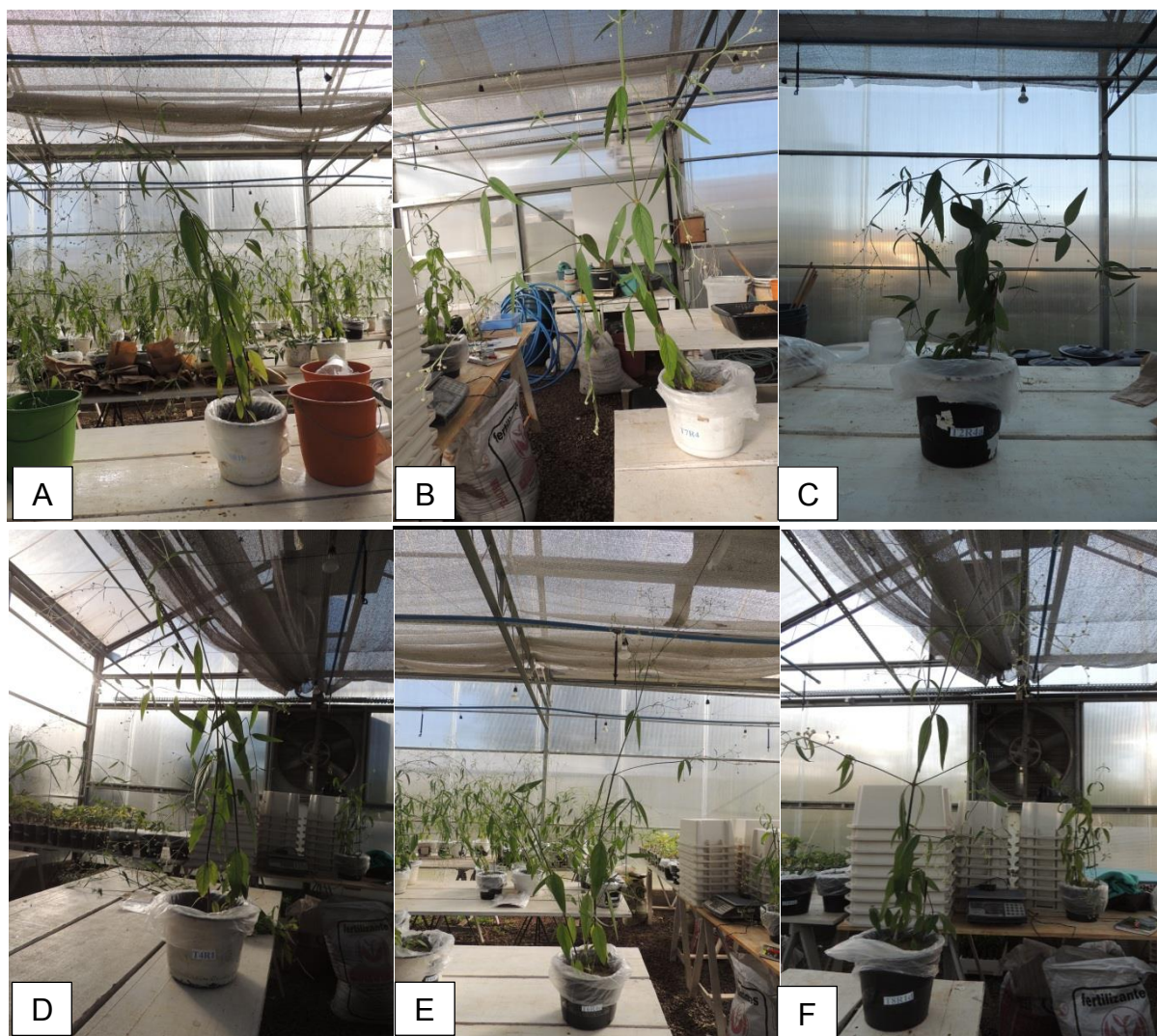


Figura 4 - Plantas de *Pffafia glomerata* após 60 dias expostas aos diferentes tratamentos. (A) Controle; (B) Al; (C) Si; (D) Si+Al; (E) Se; (F) Se+Al.



Figura 5 - Raízes de *Pffafia glomerata* após 60 dias expostas aos diferentes tratamentos. (A) Controle; (B) Al; (C) Si; (D) Si+Al; (E) Se; (F) Se+Al.