

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

Aline Soares Pereira

**SELÊNIO E SILÍCIO COMO AMENIZADORES DA TOXICIDADE DO
CÁDMIO EM PLANTAS DE *Pfaffia glomerata* (SPRENG.) PEDERSEN**

**Santa Maria, RS, Brasil.
2016**

Aline Soares Pereira

**SELÊNIO E SILÍCIO COMO AMENIZADORES DA TOXICIDADE DO CÁDMIO EM
PLANTAS DE *Pfaffia glomerata* (SPRENG.) PEDERSEN**

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

Professora Orientadora: Prof^a. Dr^a. Luciane Almeri Tabaldi (UFSM)

Santa Maria, RS, Brasil.
2016

Aline Soares Pereira

**SELÊNIO E SILÍCIO COMO AMENIZADORES DA TOXICIDADE DO CÁDMIO EM
PLANTAS DE *Pfaffia glomerata* (Spreng.) PEDERSEN**

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

Aprovado em 17 de junho de 2016:

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

Liana Verônica Rossato, Dr^a. (UFSM)
(Coorientadora)

Juçara Terezinha Paranhos, Dr^a. (UFSM)

Jamile Fabbrin Gonçalves, Dr^a. (IFFarroupilha)

Santa Maria, RS
2016

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais, Maria Luiza Soares Pereira e Luiz Augusto Sudate Pereira,
a minha irmã, Juliana Soares Pereira e a minha madrinha, Marlene Rosado Funck.*

Dedico este trabalho!

AGRADECIMENTOS

A concretização deste trabalho ocorreu, principalmente, pelo auxílio, compreensão e dedicação de várias pessoas. Agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a conclusão deste estudo e, de uma maneira especial, agradeço:

- a Deus por me dar forças para continuar e nunca desistir, mesmo frente a obstáculos que pareciam intransponíveis.

- aos meus pais, Maria Luiza Soares Pereira e Luiz Augusto Sudate Pereira que me deram toda a estrutura para que me tornasse a pessoa que sou hoje. Obrigada pela educação, carinho, amor e incentivo. A minha irmã, Juliana Soares Pereira agradeço por sempre estar do meu lado. Amo vocês!

- aos meus queridos tios que moram em Santa Maria, Cleuza e Marcílio Fernandes obrigado por toda a ajuda desde quando nos mudamos para SM, sempre acreditando em nós e nos incentivando a seguir em frente. A Vera, Gabi e Fernando, meu muito obrigado por vocês estarem presente nessa nossa jornada.

- as minhas queridas tias que ficaram no grande Alegrete torcendo por mim, Beta e Janete. Obrigado pelo apoio de vocês!

- ao meu “namorado”, mestre e futuro doutor, amigo, companheiro, Athos Odin Severo Dorneles, pelo seu incentivo, sua extrema paciência para me aturar durante meus ataques de “estresse”, pelo apoio na minha vida pessoal e profissional, sem ti não seria nada!

- a minha orientadora e amiga, Lu Tabaldi, que sempre esteve do meu lado, em todos os momentos que necessitei, não medindo esforços, mesmo fora de hora, final de semana, feriado, e-mail ou pessoalmente, jamais deixou de me atender e foi fundamental, tanto na minha formação quanto na elaboração desse trabalho. Não tenho nem como te agradecer por tudo Lu!

- a minha coorientadora Liana Verônica Rossato, pelos puxões de orelha, pela acessibilidade, pela ajuda das análises bioquímicas, pela compreensão e apoio para a execução dos trabalhos realizados e pela amizade.

- a Prof.^a Juçara Paranhos, por muitas vezes me deixar utilizar o laboratório de Cultura de Tecidos onde a mesma é responsável e pelas ótimas contribuições na correção da minha dissertação.

- a Jamile Fabbrin Gonçalves, por ter aceitado ser minha banca e pelas ótimas contribuições na correção da minha dissertação.

- aos meus colegas e amigos que conquistei nesses dois anos, Marcelo Vielmo Afonso, Pamela Aguirre, Merielem Martins, Camila Elicker, Gabriel Bortolin e Maria Medianeira, por fazerem meus dias mais divertidos essa nossa jornada. Obrigada pelo companheirismo, apoio, incentivo e pelas nossas discussões “slide padrão”. Amo vocês!

- a minha querida amiga Katieli Bernardy, agradeço por todos os auxílios e principalmente pela amizade.

- aos alunos de Iniciação Científica “ICs”, Victória Sasso, Daniele Bernardy, Luana Campos, Caroline Kuinchtner, Gerâne Wertonge, Andriela Junges, Andrielle Farias, Wilson Rotili, Leticia Morsch e por fim Gessieli Possebom e Antônio Lunkes (agora futuros mestres) por me ajudarem sempre que foi necessário. Muito obrigado, não tenho como agradecer a todos vocês. Este trabalho também é de vocês.

- agradeço a todos do grupo Fisioplant, por toda a ajuda e aconselhamento durante a execução dos trabalhos.

- a CAPES pelo incentivo financeiro através da bolsa de estudos.

- aos professores, do PPG em Agrobiologia, em especial Fernando Nicoloso, Antônio Carlos, João Marcelo, Melânia Palermo e Solange Tedesco, sempre disponíveis a auxiliar e sanar dúvidas.

- a Universidade Federal de Santa Maria, aos Laboratórios de Biotecnologia Vegetal e Fisiologia Vegetal (Grupo FISIOPANT) e ao Departamento de Biologia pela oportunidade e infraestrutura disponibilizadas.

- ao Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, por me proporcionar uma oportunidade de crescimento profissional.

- a todos que, de alguma forma, contribuíram e fizeram parte dessa caminhada. Muito maior que conseguir o título é sair uma pessoa muito melhor que entrei.

A todos, MUITO OBRIGADO!

*“Ser feliz não é ter uma vida perfeita, mas
deixar de ser vítima dos problemas
e se tornar o autor da própria história”.*

Abraham Lincoln

RESUMO

SELÊNIO E SILÍCIO COMO AMENIZADORES DA TOXICIDADE DO CÁDMIO EM PLANTAS DE *Pfaffia glomerata* (SPRENG.) PEDERSEN

AUTORA: Aline Soares Pereira

ORIENTADORA: Luciane Almeri Tabaldi

COORIENTADORA: Liana Verônica Rossato

A contaminação do solo por metais pesados, como o cádmio (Cd), vem causando danos em diversas plantas. Dentre as alternativas buscadas para solucionar os problemas com esse metal tóxico no crescimento de plantas está o uso de amenizadores, ou seja, elementos tidos até então como benéficos, que quando utilizados em concentrações baixas podem aliviar os efeitos danosos destes elementos. Nesse sentido, o presente trabalho teve o objetivo de avaliar a habilidade do selênio (Se) e do silício (Si) em reduzir a absorção e a toxicidade do Cd em plantas de *Pfaffia glomerata* em sistema hidropônico. As plantas de *P. glomerata* foram propagadas *in vitro* e após aclimação, transferidas para cultivo hidropônico em solução nutritiva onde foram adicionadas as combinações de concentrações de Se (0 e 2,5 mM), Si (0 e 2,5 mM) e Cd (0 e 50 µM) (T1: 0 µM Cd + 0 mM Se e Si; T2: 0 µM Cd + 2,5 mM Se; T3: 0 µM Cd + 2,5 mM Si; T4: 50 µM Cd; T5: 50 µM Cd + 2,5 mM Se, T6: 50 µM Cd + 2,5 mM Si). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo Teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade de erro. Após exposição aos diferentes tratamentos (14 dias), as plantas foram coletadas e analisadas quanto a parâmetros morfofisiológicos (biomassa fresca e seca, altura de plantas, comprimento e densidade de raízes, área foliar, número de folhas e fotossíntese), e bioquímicos (enzimas antioxidantes, conteúdo de pigmentos fotossintéticos e peróxido de hidrogênio, e danos a lipídios de membrana). A presença de Cd na solução nutritiva promoveu redução na área foliar, biomassa, parâmetros radiculares e fotossintéticos das plantas, exceto para a biomassa seca de parte aérea, número de folhas e altura das plantas. Em geral, nos tratamentos contendo Se ou Si junto ao Cd, as plantas apresentaram respostas positivas para os parâmetros de massa fresca de parte aérea e raiz, massa seca de raiz, comprimento, diâmetro, volume e ramificações de raízes, área foliar, taxa fotossintética, concentração interna de CO₂, taxa transpiratória, eficiência do uso da água e eficiência de carboxilação da rubisco, mostrando assim que os mesmos podem amenizar a toxicidade provocada pelo Cd. O potencial do Se ou Si em amenizar a toxicidade do Cd pode também ser visto no conteúdo de clorofilas, carotenoides e H₂O₂, e na atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e guaiacol peroxidase (POD). Para a peroxidação lipídica o Si foi mais efetivo que o Se em amenizar a toxicidade do Cd. Assim, o potencial do Se e Si em amenizar a toxicidade do Cd pode ser utilizado para aumentar a produtividade e a qualidade de plantas medicinais, de forma ambientalmente adequada.

Palavras-chave: Ginseng brasileiro. Metais tóxicos. Elementos benéficos. Toxicidade.

ABSTRACT

SELENIUM AND SILICON AS ALLEVIATORS OF CADMIUM TOXICITY IN *Pfaffia glomerata* (SPRENG.) PEDERSEN PLANTS

AUTHOR: Aline Soares Pereira
ADVISOR: Luciane Almeri Tabaldi
CO ADVISOR: Liana Verônica Rossato

The soil contamination with heavy metals such as cadmium (Cd) causes damage to many plants. Among the alternatives sought to solve the problems with this toxic metals in the growth of plants is the use of alleviators, ie, elements considered beneficial, that when used in low concentrations may alleviate the damaging effects of toxic elements. In this sense, the present study aimed to evaluate the capacity of selenium (Se) and silicon (Si) to reduce the absorption and Cd toxicity in *Pfaffia glomerata* plants in hydroponic system. The *P. glomerata* plants were propagated *in vitro* and after acclimation transferred to hydroponic nutrient solution, where were added the following combinations of Se (0 to 2.5 mM), Si (0 and 2.5 mM) and Cd (0 and 50 μ M) (T1: 0 μ M Cd + 0 mM Se and Si, T2: 0 μ M Cd + 2.5 mM Se; T3: 0 μ M Cd + 2.5 mM Si; T4: 50 μ M Cd; T5: 50 μ M Cd + 2.5 mM Se, T6: 50 μ M Cd + 2.5 mM Si). Data were submitted to analysis of variance and means were compared by the Scott-Knott test at 5% probability of error. After exposure to different treatments (14 days), the plants were collected and analyzed for morphophysiological (fresh and dry weight, plant height, length and density of roots, leaf area, leaves number and photosynthetic parameters) and biochemical parameters (antioxidant enzymes, photosynthetic pigments content, hydrogen peroxide content, and damage to membrane lipids). The presence of Cd in nutrient solution promoted reduction in leaf area, biomass, morphological parameters of the root system and photosynthetic parameters, except for the shoot dry weight, leaf number and plant height. In general, in the treatments containing Se or Si with Cd, plants showed positive responses to the fresh weight of shoot and roots, root dry weight, length, diameter, volume and branching roots, leaf area, photosynthetic rate, internal CO₂ concentration, transpiration rate, water use efficiency and carboxylation of rubisco efficiency, thus showing that they can alleviate the Cd toxicity. The potential of Se and Si to ameliorate the Cd toxicity can also be seen in the contents of chlorophylls, carotenoids and H₂O₂, and in the superoxide dismutase (SOD) and guaiacol peroxidase (POD) activity. For lipid peroxidation, Si was more effective than Se in ameliorate the Cd toxicity. Thus, the potential of the Si and Se to ameliorate the Cd toxicity can be used to increase the productivity and quality of medicinal plants in an environmentally proper manner.

Keywords: Brazilian ginseng. Toxic metals. Beneficial elements. Toxicity.

LISTA DE FIGURAS

Revisão Bibliográfica

FIGURA 1 - Plantas de *Pfaffia glomerata* cultivadas em hidroponia e a campo.....17

FIGURA 2 – Raízes de plantas de *Pfaffia glomerata*.....18

Apêndice

FIGURA 1 - Plantas de *P. glomerata* após 5 dias de aclimação, quando foram expostas aos tratamentos.....84

FIGURA 2 - Aspecto das plantas de *P. glomerata* após 14 dias de exposição aos tratamentos.....85

FIGURA 3 - Aspecto apresentado pelas plantas em cada um dos tratamentos (T1: 0 μ M Cd + 0 mM Se, T2: 0 μ M Cd + 2,5 mM Se, T3: 0 μ M Cd, 2,5mM Si, T4: 50 μ M Cd, T5: 50 μ M Cd + 2,5 mM Se, T6: 50 μ M Cd + 2,5 mM Si) ao final do experimento.....86

Manuscrito I – Selênio e Silício amenizam os efeitos tóxicos do cádmio em plantas de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen cultivadas em sistema hidropônico

FIGURA 1 – Massa fresca e seca de parte aérea e raízes de *P. glomerata* expostas ao selênio ou ao silício, cultivadas na presença de cádmio.....32

FIGURA 2 - Número de folhas, área foliar e altura das plantas de plantas de *P. glomerata* expostas ao selênio ou ao silício, cultivadas na presença de cádmio..... 37

FIGURA 3 – Efeito do selênio ou do silício (2,5 mM) sobre a taxa fotossintética (**A**- $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e condutância estomática (**GS**- $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) de plantas (C) de *P. glomerata* cultivadas na presença de cádmio (50 μM).....38

Manuscrito II – Efeito do selênio e do silício sobre o sistema antioxidante de plantas de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen cultivadas sob toxicidade do cádmio

FIGURA 1 - Concentração de cádmio em raízes e parte aérea de *P. glomerata*.....56

FIGURA 2 - Conteúdo de clorofilas *a*, clorofila *b*, clorofilas totais e carotenóides de plantas de *P. glomerata* expostas ao cádmio, na presença de selênio ou silício no meio de crescimento.....58

FIGURA 3 - Efeito do selênio ou do silício (2,0 mM) sobre o conteúdo de malondialdeído (MDA) na parte aérea e em raízes de plantas de *P. glomerata* expostas ao cádmio (50µM).....60

FIGURA 4 - Conteúdo de peróxido de hidrogênio na parte aérea e nas raízes de plantas de *P. glomerata* expostas ao cádmio, na presença de selênio ou do silício no meio de crescimento.....61

FIGURA 5 - Efeito do selênio ou do silício (2,0 mM) sobre a atividade das enzimas Superóxido Dismutase (SOD) e Guaiacol Peroxidase (POD) na parte aérea e na raiz em plantas de *P. glomerata* expostas ao cádmio (50µM).....63

LISTA DE TABELAS

MANUSCRITO I – Selênio e Silício amenizam os efeitos tóxicos do cádmio em plantas de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen cultivadas em sistema hidropônico

Tabela 1 - Efeito do selênio e do silício (2,5 mM) sobre o comprimento, diâmetro, volume e ramificações de raízes de plantas de *P. glomerata*, cultivadas na presença de cádmio (50 μM).....34

Tabela 2 - Efeito do selênio e do silício (2,5 mM) sobre a taxa fotossintética (**A**- $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (**GS**- $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), concentração interna de CO_2 (**Ci** - $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), taxa transpiratória (**Trmmol** – $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), Eficiência do Uso da Água (**EUA** - $\text{mol CO}_2 \text{ mol H}_2\text{O}^{-1}$) e a eficiência de carboxilação da rubisco (**A/Ci** - $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), em plantas de *P. glomerata* cultivadas na presença de cádmio (50 μM).....39

MANUSCRITO II – Efeito do Selênio e do Silício sobre o sistema antioxidante de plantas de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen cultivadas sob toxicidade do cádmio

Tabela 1 - Condições de operação do espectrômetro de ICP-MS.....86

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO GERAL	15
2.	OBJETIVOS	16
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1	<i>Pfaffia glomerada</i> (Spreng.) Pedersen.....	17
3.2	Cádmio (Cd).....	19
3.3	Selênio (Se).....	21
3.4	Silício (Si).....	22
	MANUSCRITO I – Selênio e Silício amenizam os efeitos tóxicos do cádmio em plantas de <i>Pfaffia glomerata</i> (Spreng.) Pedersen cultivadas em sistema hidropônico	25
	RESUMO	26
	ABSTRACT	27
	INTRODUÇÃO	28
	MATERIAL E MÉTODOS	29
	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
	CONCLUSÃO.....	40
	REFERÊNCIAS.....	41
	MANUSCRITO II – Efeito do selênio e do silício sobre o sistema antioxidante de plantas de <i>Pfaffia glomerada</i> (Spreng.) Pedersen cultivadas sob toxicidade do cádmio	47
	RESUMO	48
	ABSTRACT	49
	INTRODUÇÃO	50
	MATERIAL E MÉTODOS	51
	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	55
	CONCLUSÃO.....	65
	REFERÊNCIAS.....	66
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	73
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
	APÊNDICE – Figuras e tabela do Capítulo II	83

1. Introdução

A poluição do ambiente por metais tem se tornado um problema em escala global (ALI et al., 2013), devido aos efeitos que tem causado diretamente a humanidade. Tais complicações tem se agravado principalmente devido às atividades antrópicas, especialmente a industrialização, queima de combustíveis fósseis, mineração e a fundição de minérios metálicos, resíduos urbanos, fertilizantes, pesticidas e esgotos (GUO-LI et al., 2008).

No Brasil, os problemas relacionados com o aumento da concentração de metais pesados em solos também têm relação com as atividades agrícolas e industriais (KAVAMURA; ESPOSITO, 2010), especialmente no Rio Grande do Sul. Por exemplo, a contaminação dos solos agrícolas por cádmio (Cd) tornou-se uma séria ameaça para a produtividade das plantas cultivadas. O Cd inibe a absorção de nutrientes essenciais para as plantas, o equilíbrio homeostático e o desenvolvimento de plantas (NAZAR et al., 2012).

Além de ser introduzido na cadeia alimentar através das plantas que o absorve da solução do solo, o Cd ocasiona inúmeras perdas na produtividade e qualidade das culturas agrícolas, reduzindo o crescimento das plantas principalmente devido ao estresse oxidativo. Dessa forma, torna-se necessário o desenvolvimento de estratégias que resultem em menor absorção desses elementos tóxicos presentes no solo pelas plantas, otimizando o uso dos recursos naturais e a produção de alimentos seguros, principalmente quando se trata de uma planta medicinal como a *Pfaffia glomerata*, a qual apresenta grau razoável de tolerância a metais.

A *P. glomerata* é uma planta medicinal conhecida como ginseng brasileiro devido ao formato de suas raízes, as quais são de 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 (MAGALHÃES, 2000; ZIMMER et al., 2006; MENDES; CARLINI, 2007; FERNANDES, et al., 2015).

Dentre as alternativas buscadas para solucionar os problemas com o metal tóxico Cd no crescimento de plantas está o uso de amenizadores, ou seja, elementos tidos até então como benéficos, que quando utilizados em concentrações

baixas podem aliviar os efeitos danosos do Cd. Nesse sentido, o selênio (Se) e o silício (Si) são reconhecidos como elementos benéficos para o crescimento de algumas plantas, podendo aumentar a tolerância das plantas ao estresse oxidativo. Sendo assim, o presente trabalho está dividido em dois capítulos: Capítulo I - Selênio e silício amenizam os efeitos tóxicos do cádmio em plantas de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen cultivadas em sistema hidropônico, e Capítulo II - Efeito do selênio e do silício sobre o sistema antioxidante de plantas de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen cultivadas sob toxicidade do cádmio.

2. Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Analisar o efeito do selênio e do silício sobre parâmetros morfofisiológicos e bioquímicos em plantas de *Pfaffia glomerata* cultivadas sob toxicidade do cádmio.

2.2 Objetivos específicos

- Verificar a capacidade do Se e do Si em amenizar os efeitos tóxicos do Cd sobre parâmetros morfofisiológicos (crescimento, área foliar, parâmetros de fluorescência da clorofila *a* e fotossíntese) em plantas de *P. glomerata* em sistema hidropônico;
- Analisar se o Se e o Si minimizam os danos oxidativos (conteúdo de clorofila, carotenoides e peroxidação lipídica) ocasionados pelo Cd em plantas de *P. glomerata* em sistema hidropônico;
- Verificar se o Se e o Si interferem nas respostas antioxidantes (peróxido de hidrogênio e enzimas antioxidantes) ocasionadas pelo Cd em plantas de *P. glomerata* em sistema hidropônico;
- Determinar se a presença de Se e Si no meio de crescimento reduz a absorção de Cd em plantas de *P. glomerata* expostas ao Cd em sistema hidropônico.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen

O gênero *Pfaffia*, pertencente à família Amaranthaceae (Figura 1), possui cerca de 170 gêneros e 2000 espécies, sendo encontrados no Brasil 20 gêneros e aproximadamente 100 espécies (SOUZA; LORENZI, 2005). No Brasil, 27 espécies foram descritas (TANIGUCHI et al., 1997), sendo essas caracterizadas como ervas ou subarbustos eretos ou semiprostrados que ocorrem em cerrados, campos rupes- tres ou limpos, orlas de matas e beiras de rios (MARCHIORETTO et al., 2009).

A *P. glomerata* (Spreng.) Pedersen é uma planta nativa, sendo conhecida como ginseng brasileiro devido ao formato de suas raízes (Figura 2), as quais são muito semelhantes ao ginseng coreano (*Panax ginseng* C.A. Meyer, família Aralia- ceae), pelas típicas formas humanoides, das quais deriva o nome “ginseng” que sig- nifica “imagem do homem”, em chinês (SCHENKEL et al., 2002). Suas raízes são de grande interesse comercial para a produção de fitomedicamentos e suplementos alimentares em razão de suas propriedades antitumorais, antidiabéticas, tônicas e estimulantes, contra distúrbios gástricos, reumatismo e estimulante das funções se- xuais (VIGO et al., 2004; MENDES; CARLINI, 2007; LEITE et al., 2008; CARULO, 2012; FERNANDES et al., 2015).

Figura 1 – Plantas de *Pfaffia glomerata* cultivadas em hidroponia (A) e a campo (B).



Fonte: Autor (A) e wikipedia.org/wiki/Ginseng-brasileiro (B).

Estudos demonstraram que extratos de raízes de *P. glomerata* favoreceram a aprendizagem e a memória de ratos (MARQUES et al., 2004) e apresentaram efeitos anti-inflamatórios, analgésicos (NETO et al., 2005) e antioxidantes (DANIEL et al., 2005). Neto et al. (2004) verificaram que extratos hidroalcoólicos da espécie mostraram-se ativos contra alguns protozoários, como a *Leishmania braziliensis*.

Figura 2 – Raízes de plantas de *P. glomerata*.



Fonte: <http://saude.ig.com.br/bemestar/guiaplantasmedicinais/ginseng/ref1237836069897.html>

Toneladas de raízes dessa espécie são mensalmente destinadas ao mercado nacional e internacional. Devido à sua importância econômica, a propagação de *P. glomerata* desempenha um papel essencial na produção de matérias-primas para a indústria farmacêutica. No momento, a propagação *in vitro* tem sido tradicionalmente realizada por meio de proliferação axilar de gemas a partir de segmentos nodais (SALDANHA et al., 2013; VASCONCELOS et al., 2014).

As plantas de *P. glomerata* são ricas em saponinas triterpênicas e ecdisteróides (SHIOBARA et al., 1993a), cujo teor varia de acordo com o acesso (FIGUEIREDO et al., 2004). O efeito desta espécie é atribuído ao ecdisteróide β -ecdisona, que inclusive é o composto utilizado como marcador químico da qualidade das raízes (ZIMMER et al., 2006). A β -ecdisona (pertencente ao grupo dos ecdisteróides), princípio ativo do ginseng brasileiro, pode ser encontrada em

diversos órgãos da planta, como em flores, folhas, caules e raízes (NISHIMOTO et al., 1987; FESTUCCI-BUSELLI et al., 2008; ROSTAGNO et al., 2014). No entanto, sua extração comercial ocorre nas raízes (TANAKA et al., 1995; FLORES et al., 2015). Estudos apontam que os ecdisteróides apresentam função de proteção contra insetos fitófagos e nematóides do solo (ALVES, 2008).

Esta espécie pode ser encontrada naturalmente em ambientes de mata ciliar, campos inundáveis à beira de rios e em orlas de matas de galeria, sendo que no Brasil ocorre principalmente no estado do Paraná e Mato Grosso do Sul (PACHECO et al., 2012). Caracteriza-se por ser uma espécie higrófila (ambientes úmidos) e heliófila (necessita de total exposição solar), apresentando grande adaptabilidade e rápido crescimento, se desenvolvendo melhor em regiões com temperatura mais elevada. No entanto, a espécie é sensível à geadas (MAGALHÃES, 2000; VIGO et al., 2004).

A produtividade da fáfia está ligada a alta umidade do solo e a elevados teores de cálcio e matéria orgânica (SIQUEIRA; GRANDI, 1986). Sua ocorrência é maior em solo arenoso e rico em matéria orgânica, apesar de desenvolver-se bem em solos argilosos (MAGALHAES, 2000). SKREBSKY et al. (2008) mostraram que plântulas de *P. glomerata* cultivadas em sistema hidropônico parecem ter grau razoável de tolerância ao cádmio. Em outros estudos, foi observado 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 (CALGAROTO et al., 2010; 2016), e que a presença de zinco (Zn) no substrato causou uma redução significativa no estresse oxidativo causado por Hg em plântulas de *P. glomerata* (CALGAROTO et al., 2011; 2016).

3.2 Cádmio (Cd)

As plantas diferem na sua habilidade em absorver, acumular e tolerar metais pesados, entre eles o cádmio (Cd). O Cd não possui uma função biológica conhecida nas plantas e é altamente tóxico. Apesar de o Cd não ter função biológica conhecida nas plantas (PENICE et al., 2000; PEREIRA et al., 2016), pode ser facilmente absorvido e transportado pelo xilema (LUX et al., 2011), por apresentar configuração eletrônica e estado de valência similar ao zinco (NAN et al., 2002).

Sendo assim, níveis tóxicos de metais pesados afetam uma variedade de processos de plantas (GUPTA et al., 2013).

Quando na solução do solo, o Cd é absorvido e dependendo da espécie vegetal, pode ser transportado para a parte aérea (GONÇALVES et al., 2009) bem como para os órgãos de reprodução das plantas (GONÇALVES et al., 2012; de MARIA; RIVELLI, 2013). Além de outros efeitos, o Cd altera a absorção de nutrientes minerais (ZHANG et al., 2002; GONÇALVES et al., 2009), induz peroxidação lipídica (GONÇALVES et al., 2007), vazamento de íons, oxidação de proteínas (GONÇALVES et al., 2007), danos no DNA, inibição na biossíntese da clorofila (MOBIN; KHAN, 2007) e redução no crescimento (WÓJCIK; TUKIENDORF, 2005), levando as plantas a uma situação de estresse oxidativo, podendo resultar inclusive em suas mortes. O estresse oxidativo gerado por este elemento ocorre principalmente devido à produção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (CHO; SEO, 2005) e outras formas instáveis de oxigênio, tais como os radicais superóxido ($O_2^{\bullet-}$), radicais hidroxil (OH^{\bullet}) e o oxigênio singlete (1O_2). De acordo com LIN et al. (2007), o teor de Cd no solo relacionado com a toxicidade crítica o qual induz estresse oxidativo para plantas de trigo está entre 3,3 e 10 mg kg⁻¹.

As plantas, em resposta ao estresse pelo Cd, desenvolvem inúmeros mecanismos para detoxificar e tolerar o metal. Dentre os mecanismos de defesa, estão a complexação do Cd na parede celular, redução da permeabilidade da membrana plasmática, aumento da taxa de efluxo do metal, transporte do metal até o vacúolo e outros compartimentos intracelulares, complexação com agentes quelantes, tais como metalotioneínas e fitoquelatinas, e ativação de processos antioxidantes (SANITÀ DI TOPPI; GABBRIELLI, 1999; CLEMENS, 2006; GONÇALVES et al., 2009).

Este elemento pode se acumular em diversos órgãos da planta, o que pode oferecer um risco para a saúde humana. Em experimentos realizados com ratos, GONÇALVES et al. (2012) relataram que a ingestão de uma dieta a base de tubérculos de batata contaminados com Cd afetou o sistema colinérgico e a atividade da Na^+,K^+ -ATPase no cérebro de ratos. Além disso, NAIR et al. (2013) relataram o envolvimento do estresse oxidativo gerado pelo Cd com patologias humanas. Assim, o Cd presente nos solos agrícolas do Rio Grande do Sul pode acumular-se nos alimentos e plantas medicinais, oferecendo riscos para a saúde da população, pois este elemento pode alterar o metabolismo humano competindo com

sistemas de aglutinação do selênio, ferro, cobre, zinco e manganês. Além disso, como é um íon bivalente, o Cd diminui significativamente a absorção intestinal de ferro no corpo humano. Quando um alimento contaminado com Cd é ingerido, este metal se acumula nos rins, onde a sua semivida de permanência é de 18 a 30 anos, demonstrando assim a grande dificuldade na remoção do mesmo (MARTINEZ; PALÁCIO, 2010).

3.3 Selênio (Se)

O Selênio (Se) pertence à classe dos calcogênios e está presente na crosta terrestre geralmente associado a partículas de argila. Os níveis médios de Se nos solos do mundo são estimados em $0,44 \text{ mg kg}^{-1}$, podendo variar nas diferentes regiões e solos (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2001). São conhecidos quatro estados de oxidação do Se, como selênio elementar (Se^0), seleneto (Se^{2-}), selenito (SeO_3^{2-}), selenato (SeO_4^{2-}) e em formas orgânicas (levedura selenizada). As formas de selenito (Se^{4+}) e selenato (Se^{6+}) geralmente são as encontradas no ambiente. As proporções das formas de Se na solução do solo são governadas por diferentes propriedades físico-químicas, incluindo pH, potencial de oxidação e processos biológicos (JEŽEK et al., 2012; KABATA-PENDIAS; MUKHERJEE, 2007).

Devido às características químicas similares ao enxofre, o Se, quando em concentrações elevadas, pode substituir este elemento na estrutura de biomoléculas, podendo causar toxicidade (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2001). O Se é captado pelas raízes das plantas a partir da solução do solo (fração do selênio solúvel em água) predominantemente na forma de selenato, embora o selenito e selênio orgânico sejam também absorvidos (WHITE et al., 2004; PRAUCHNER, 2014). A taxa e a forma química do selênio absorvido dependem da concentração e da espécie química presente na solução do solo, bem como das condições no ambiente radicular da planta, como o pH, presença de íons competidores, teores de matéria orgânica, textura do solo e a atividade microbiana (DHILLON; DHILLON, 2003; PRAUCHNER, 2014; HUANG et al., 2014; YASIN et al., 2015). A adsorção de Se tem sido estudada em uma ampla gama de materiais sorventes em diversos países (KIM et al., 2012; MITCHELL et al., 2013; GABOS et al., 2014; MOREL et al., 2015).

Nos organismos vivos, o Se desempenha um papel no equilíbrio hormonal e antioxidante, bem como é componente das selenotRNAs (OGASAWARA et al.,

2001). Vários seleno-aminoácidos, SeMet (seleno-metionina), SeCys (selenocisteína) e SeMSC (selênio-metil-seleno-sisteína) foram encontrados em associação com a enzima glutathiona peroxidase em bactérias e plantas superiores (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2001), a qual está envolvida na remoção de radicais livres nas células vegetais e animais.

Em concentrações baixas, o Se pode aumentar a tolerância das plantas ao estresse oxidativo devido à redução dos níveis de H_2O_2 (HAWRYLAK-NOWAK, 2013), de peroxidação lipídica e aumento da atividade de enzimas antioxidantes (XUE et al., 2001; SEPPÄNEN et al., 2003; DJANAGUIRAMAN et al., 2005). Em associação com a glutathiona, o Se reduz a absorção de Cd e reduz os níveis de H_2O_2 e malondialdeído (produto da peroxidação lipídica) em plantas de *Zea mays* (SUN et al., 2013). Em animais, a forma orgânica de Se, difenildisseleneto ($PhSe$)₂, desempenha um papel antioxidante pois exibe atividade similar à da enzima glutathiona peroxidase (LUCHESE; NOGUEIRA, 2010), resultando em uma inibição do estresse oxidativo (SANTOS et al., 2005; BORGES et al., 2008), induzido por metais tóxicos.

Além de antioxidante, o Se possui papel na redução da absorção de íons tóxicos (HE et al., 2004), ou quando absorvidos, os íons tóxicos podem ser insolubilizados na presença do Se, o que os incapacita de exercer efeito tóxico (YATHAVAKILLA; CARUSO, 2007). Portanto, a adição de Se, em concentrações baixas, é geralmente considerada uma terapia contra a toxicidade de metais tóxicos em animais (CHEN et al., 2012; AL-WAELI et al., 2013) e plantas (FILEK et al., 2008; FILEK et al., 2010; CARTES et al., 2010). Neste sentido, o Se pode aumentar a tolerância das plantas aos estresses ambientais (YAO et al., 2013). Para aumentar os teores de Se em plantas, são usadas técnicas de melhoramento genético visando aumentar a capacidade de absorção e acumulação deste nutriente nessas plantas (BOLDRIN et al., 2012; POBLACIONES et al., 2014; REIS et al., 2014; BAÑUELOS et al., 2015).

3.4 Silício (Si)

O Si é o segundo elemento mais abundante na superfície da crosta terrestre e no solo, superado apenas pelo oxigênio (GUNES et al., 2007; LIANG et al., 2007). Ocorre principalmente como mineral inerte das areias, quartzo (SiO_2 puro), caulinita,

micas, feldspatos e em outros argilo minerais silicatados (MARSCHNER, 1995; MARAFON, 2011). Embora abundante no solo, o Si não é encontrado em uma forma livre e está sempre combinado com outros elementos, usualmente formando óxidos ou silicatos. Em combinação com o oxigênio, os silicatos formam o maior e mais abundante grupo de minerais. Muitos minerais são também formados de silicatos em combinação com outros elementos, tais como ferro (Fe), alumínio (Al) e cálcio (Ca) (PERRY; KEELING-TUCKER, 1998).

O Si está presente na solução do solo como ácido silícico, $\text{Si}(\text{OH})_4$, em concentrações normalmente variando de 0,1 a 0,6 mM, cerca de duas ordens de magnitude maior que as concentrações de fósforo (P) na solução do solo (EPSTEIN, 1999, LIMA et al., 2011). O Si após ser absorvido pelas plantas, na forma de ácido monossilícico (GAO et al., 2011), é irreversivelmente precipitado dentro da planta como sílica amorfa. Além disso, o Si se deposita principalmente no protoplasma e parede celular na forma de $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (LANNING & ELEUTERIUS, 1989). As concentrações de Si variam grandemente nas diferentes partes da planta, variando de 0,1 a 10% da massa seca (LIANG et al., 2007). Esta ampla variação na concentração de Si nos tecidos da planta é atribuída principalmente à diferenças nas características de absorção e transporte de Si (EPSTEIN, 1994).

O Si é considerado tanto um micronutriente (MAPA, 2004), quanto um elemento benéfico para várias culturas (LI et al., 2011; CAMARGO et al., 2014), aumentando a tolerância de plantas a ataques de insetos, doenças, condições climáticas desfavoráveis e presença de metais (LI et al., 2011; GU et al., 2011; MEENA et al., 2014; DORNELES et al., 2016).

Liang et al. (2003) sugeriram que o Si pode estar envolvido na atividade metabólica, fisiológica e/ou estrutural em plantas superiores expostas a estresses bióticos e abióticos. Tem sido sugerido também que o Si aumenta a tolerância a seca (GONG et al., 2005), metais tóxicos (GUNES et al., 2007; DONCHEVA et al., 2009; GU et al., 2011), radiação UV-B (LI et al., 2004), estresse salino (LIANG et al., 2003) e resistência de plantas a patógenos (RICHMOND; SUSSMAN, 2003; GAO et al., 2011). O Si também alivia estresses minerais como a toxicidade do manganês (Mn), Al e deficiência de P (IWASAKI et al., 2002). O Si incrementou a atividade fotossintética e a ultraestrutura de células foliares de *Avena sativa* (LIANG, 1998) e reduziu o vazamento de eletrólitos nas folhas de plantas submetidas à alta salinidade, aumentando o crescimento (LIANG et al., 2007).

Alguns estudos também têm indicado que o Si aumenta as proporções de K^+/Na^+ nas células, as quais amenizam os efeitos tóxicos do Na^+ (LIANG et al., 2007) e protegem contra o estresse oxidativo em plantas (ZENG et al., 2011). É sugerido que o Si aumenta a resistência de plantas a metais através da estimulação do sistema antioxidante, redução da inibição da fotossíntese e complexação de metais com Si (SHI et al., 2005; LIANG et al., 2007). O Si aumentou a tolerância ao Cd de plantas de *Solanum nigrum* devido a diminuição da absorção e distribuição de Cd em folhas velhas e expandidas, assim como por diminuir o estresse oxidativo induzido por Cd (LIU et al., 2013). Além disso, foi relatado que metais pesados se depositaram com sílica na endoderme da raiz e bloquearam fisicamente o fluxo apoplástico desses metais através da raiz (SHI et al., 2005). A sílica também se deposita no periciclo e faz um importante papel na tolerância de plantas de *Zea mays* ao estresse de Cd e Zn (da CUNHA; do NASCIMENTO, 2009). Também foi relatado que o silicato aliviou a toxicidade do Mn por aumentar a fração deste ligada na parede celular (ROGALLA; ROMHELD, 2002).

Portanto, pode ser sugerido que o sequestro e a detoxificação de metais foram atribuídos aos efeitos químicos e físicos do Si em formar co-precipitados com metais e bloquear a transferência de metais nas plantas. Entretanto, os mecanismos definitivos dos efeitos mediados por Si na distribuição e translocação de metais em plantas ainda precisam ser investigados.

MANUSCRITO I

**SELÊNIO E SILÍCIO AMENIZAM OS EFEITOS TÓXICOS DO CÁDMIO EM
PLANTAS DE *Pfaffia glomerata* (SPRENG.) PEDERSEN CULTIVADAS EM
SISTEMA HIDROPÔNICO**

RESUMO

SELÊNIO E SILÍCIO AMENIZAM OS EFEITOS TÓXICOS DO CADMIO EM PLANTAS DE *Pfaffia glomerata* (SPRENG.) PEDERSEN CULTIVADAS EM SISTEMA HIDROPÔNICO

AUTORA: Aline Soares Pereira
ORIENTADORA: Luciane Almeri Tabaldi
COORIENTADORA: Liana Verônica Rossato

As plantas estão constantemente expostas a fatores bióticos e abióticos, como a presença de metais tóxicos, que podem levar a uma situação de estresse oxidativo. Dentre esses metais, a contaminação por cádmio (Cd) tem se tornado uma preocupação crescente nos últimos anos. Assim, o objetivo deste estudo foi verificar se os elementos selênio (Se) e silício (Si) podem amenizar os efeitos tóxicos do Cd sobre parâmetros morfofisiológicos em plantas de *Pfaffia glomerata* cultivadas em sistema hidropônico. Inicialmente as plantas de *P. glomerata* foram propagadas *in vitro* (25 dias) e após transferidas para cultivo hidropônico com solução nutritiva completa de Hoagland. Após um período de aclimação (cinco dias), os tratamentos foram aplicados: Tratamento 1: 0 μM Cd + 0 mM Se e Si; Tratamento 2: 0 μM Cd + 2,5 mM Se; Tratamento 3: 0 μM Cd + 2,5 mM Si; Tratamento 4: 50 μM Cd + 0 mM Se e Si; Tratamento 5: 50 μM Cd + 2,5 mM Se, Tratamento 6: 50 μM Cd + 2,5 mM Si. Após exposição aos diferentes tratamentos (14 dias), as plantas foram coletadas e analisadas quanto a parâmetros morfofisiológicos: biomassa fresca e seca, altura de plantas, área foliar, número de folhas, comprimento, diâmetro, volume e número de ramificações de raízes e parâmetros fotossintéticos. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo Teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade de erro. A presença de Cd na solução nutritiva reduziu a área foliar, biomassa, parâmetros radiculares e fotossintéticos das plantas, exceto para a biomassa seca de parte aérea, número de folhas e altura das plantas. Em geral, nos tratamentos contendo Se e Si junto ao Cd, as plantas apresentaram respostas positivas para massa fresca da parte aérea e raiz, massa seca de raiz, comprimento, diâmetro, volume e ramificações de raízes, área foliar, taxa fotossintética, concentração interna de CO_2 , taxa transpiratória, eficiência do uso da água e eficiência de carboxilação da rubisco, mostrando assim que os mesmos podem amenizar a toxicidade provocada pelo Cd. Assim, o Cd apresentou efeito negativo sobre o crescimento das plantas, enquanto que a adição de Se e Si amenizou o estresse provocado pelo Cd. O potencial do Se e Si em amenizar a toxicidade do Cd pode ser utilizado para aumentar a produtividade e a qualidade de plantas medicinais, de forma ambientalmente adequada.

Palavras-chave: Ginseng brasileiro. Metais tóxicos. Elementos benéficos. Parâmetros morfofisiológicos.

ABSTRACT

SELENIUM AND SILICON ALLEVIATES THE TOXIC EFFECTS OF CADMIUM IN *Pfaffia glomerata* (SPRENG.) PEDERSEN PLANTS GROWN HYDROPONICALLY

AUTHOR: Aline Soares Pereira
ADVISOR: Luciane Almeri Tabaldi
CO ADVISOR: Liana Verônica Rossato

Plants are continuously exposed to biotic and abiotic factors, such as the presence of toxic metals that may lead to oxidative stress. Among these metals, contamination by cadmium (Cd) has become an increasing concern in recent years. The aim of this study was to determine whether selenium (Se) and silicon (Si) mitigate the toxic effects of Cd on morphophysiological parameters of *Pfaffia glomerata* plants grown hydroponically. Initially, the *P. glomerata* plants were propagated *in vitro* (25 days), then transferred to hydroponics with complete Hoagland solution. After a period of acclimatization (five days), the treatments were applied: Treatment 1: 0 uM Cd + 0 mM Se and Si; Treatment 2: 0 uM Cd + 2.5 mM Se; Treatment 3: 0 uM Cd + 2.5 mM Si; Treatment 4: 50 uM Cd + 0 mM Se and Si; Treatment 5: 50 uM Cd + 2.5 mM Se; Treatment 6: 50 uM Cd + 2.5 mM Si. After exposure to different treatments (14 days), the plants were collected and analyzed for morphophysiological parameters: fresh and dry biomass, plant height, leaf area, leaf number, length, diameter, volume and number of root branches and photosynthetic parameters. Data were submitted to analysis of variance and means were compared by the Scott-Knott test at 5% probability of error. The presence of Cd in the nutrient solution reduced leaf area, biomass, and the root morphophysiological and photosynthetic parameters, except for shoot dry biomass, leaf number and plant height. In general, in the treatments containing Se and Si with Cd, the plants showed positive responses for fresh weight of shoot and root, root dry weight, length, diameter, volume and branching roots, leaf area, photosynthetic rate, internal concentration of CO₂, transpiration rate, water use efficiency and efficiency of Rubisco carboxylation, which demonstrates that they may alleviate the toxicity caused by Cd. Thus, Cd had a negative effect on plant growth, but the addition of Se and Si alleviates the stress caused by Cd. The potential of Se and Si to ameliorate the toxicity of Cd may be used to increase productivity and quality of medicinal plants, in an environmentally appropriate manner.

Keywords: Brazilian ginseng. Toxic metals. Beneficial elements. Morphophysiological parameters.

INTRODUÇÃO

As espécies agrícolas, medicinais e florestais enfrentam uma variedade de estresses bióticos e abióticos que são os principais limitantes à produção. Nesse contexto, a contaminação por elementos-traço caracteriza-se como um estresse abiótico, que representa um problema ambiental (TKALEC et al., 2008). Considerado um dos elementos mais tóxicos liberados no ambiente, o cádmio (Cd) não apresenta funções biológicas conhecidas, sendo considerado um elemento não essencial às plantas (OK et al., 2011), apresentando alta disponibilidade na cadeia alimentar e elevada toxicidade, mesmo em baixas concentrações (MAESTRE et al., 2012; MURTAZA et al., 2015). Os solos de ambientes agrícolas podem apresentar acúmulo de Cd, devido à aplicação de fertilizantes fosfatados, adubos, resíduos de indústrias metalúrgicas e águas residuais não tratadas (AHMAD et al., 2012; LEE et al., 2013; OK et al., 2011). Devido a sua alta mobilidade no solo, seu acúmulo nas plantas cultivadas em solos que estejam contaminados pode representar uma séria ameaça para a saúde humana e animal (SARWAR et al., 2010). O principal meio de entrada de Cd na cadeia alimentar são as plantas, uma vez que é absorvido pelas raízes preferencialmente em solos ácidos e tende a se acumular nos tecidos vegetais.

Dentre as alternativas buscadas para solucionar os problemas com este metal tóxico no crescimento das plantas está o uso de amenizadores, ou seja, elementos tidos até então como benéficos, que quando utilizados em concentrações baixas podem aliviar os efeitos danosos do Cd. Nesse sentido, o silício (Si) é um elemento benéfico para o crescimento, desenvolvimento, produtividade e resistência a doenças em uma ampla variedade de espécies de plantas (MA, 2004) podendo assim aumentar a tolerância das plantas ao estresse oxidativo (ZENG et al., 2011; DORNELES et al., 2016). Outro elemento tido como benéfico é o selênio (Se), que pode aumentar a tolerância das plantas aos estresses ambientais (YAO et al., 2013; THIRUVENGADAM et al., 2015).

Dessa forma, torna-se necessário o desenvolvimento de estratégias que resultem em menor absorção desse elemento tóxico pelas plantas, otimizando assim o uso dos recursos naturais e a produção de alimentos seguros, principalmente quando se trata de uma planta medicinal como a *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen, a qual apresenta grau razoável de tolerância a metais (MALDANER, 2015) como o Cd (SKREBSKY et al., 2008).

A *P. glomerata* é uma planta medicinal conhecida popularmente como ginseng brasileiro. Suas raízes são de grande interesse comercial para a produção de fitomedicamentos e suplementos alimentares em razão de suas propriedades antitumorais, antidiabéticas, tônicas e estimulantes, e contra distúrbios gástricos e reumatismo (MAGALHÃES, 2000; ZIMMER et al., 2006; MENDES; CARLINI, 2007). As propriedades medicinais apresentadas pela espécie devem-se principalmente à presença de saponinas triterpênicas e ecdisteróides (VIGO et al., 2004). Diante disso, objetivou-se, com esse trabalho avaliar o potencial amenizador do Se ou do Si sobre a toxicidade do Cd em plantas de *P. glomerata*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção de plantas

Os ensaios foram desenvolvidos no Laboratório de Biotecnologia Vegetal, Laboratório de Bioquímica de Plantas e nas casas de vegetação pertencentes ao Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, da Universidade Federal de Santa Maria. Para a condução dos ensaios foi utilizado o acesso GD (UFGD-MS) de *P. glomerata*. As plantas utilizadas no experimento foram propagadas *in vitro* a partir de segmentos nodais por 25 dias em meio de cultivo MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, 0,1 g L⁻¹ de mio inositol e 6,0 g L⁻¹ de ágar.

Após esse período, as plantas foram transferidas para bandejas plásticas com capacidade de 17 L contendo solução nutritiva completa, onde foram fixadas por meio de esponjas em placas de poliestireno contendo furos (30 plantas por placa), objetivando a aclimação. A solução nutritiva teve a seguinte composição (em mg L⁻¹): 85,31 de N; 7,54 de P; 11,54 de S; 97,64 de Ca; 23,68 de Mg; 104,75 de K; 176,76 de Cl; 0,27 de B; 0,05 de Mo; 0,01 de Ni; 0,13 de Zn; 0,03 de Cu; 0,11 de Mn e 2,68 de Fe (FeSO₄/Na-EDTA). Após o período de cinco dias de aclimação, os tratamentos foram aplicados, os quais consistiram nas seguintes combinações: Tratamento 1: 0 µM Cd + 0 mM Se e Si; Tratamento 2: 0 µM Cd + 2,5 mM Se; Tratamento 3: 0 µM Cd + 2,5 mM Si; Tratamento 4: 50 µM Cd + 0 mM Se e Si; Tratamento 5: 50 µM Cd + 2,5 mM Se; Tratamento 6: 50 µM Cd + 2,5 mM Si. Os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições para

cada tratamento e 30 plantas por repetição. O pH da solução foi ajustado diariamente ($4,5 \pm 0,1$).

Determinação de parâmetros de crescimento

Após 14 dias de exposição aos diferentes tratamentos, metade das plantas foram coletadas e separadas em parte aérea e raízes para determinação dos seguintes parâmetros:

- Biomassa fresca e seca: Parte aérea e raízes das plantas foram coletadas separadamente e imediatamente pesadas em balança digital de precisão para determinação da biomassa fresca. Em seguida, essas amostras foram colocadas em sacos de papel e levadas para a estufa à 65°C até atingirem a massa constante para determinação da biomassa seca;
- Altura de plantas: Determinada com a utilização de uma régua graduada em milímetros;
- Comprimento, diâmetro, volume e número de ramificações de raízes: Determinado com auxílio de um scanner Epson 11000 XL, onde as raízes foram digitalizadas e após analisadas com o auxílio do Software WinRhizo Pro;
- Número de folhas;
- Área foliar: As folhas foram digitalizadas com auxílio de um scanner Epson 11000 XL e após analisadas com ajuda do Software WinRhizo Pro.

Parâmetros fotossintéticos

Aos 14 dias de exposição aos tratamentos, foram realizadas as avaliações dos parâmetros fotossintéticos na quarta folha completamente expandida de quatro plantas por repetição. As avaliações foram realizadas no período entre as 8 e 11h com a utilização do medidor portátil IRGA, marca LI-COR, modelo LI-6400XT.

Foram determinadas a condutância estomática de vapores de água (G_s - $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), a taxa fotossintética (A - $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{s}^{-1}$), a concentração interna de CO_2 (C_i - $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), a taxa transpiratória (trmmol - $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), a eficiência do uso da água (EUA - $\text{mol CO}_2 \text{ mol H}_2\text{O}^{-1}$) e a eficiência de carboxilação da Rubisco (A - $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{s}^{-1} / C_i$ - $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) obtida pela razão entre quantidade de CO_2 fixado pela fotossíntese e a concentração interna de CO_2 .

Análise estatística

Para a análise estatística dos dados, foi verificada a normalidade da distribuição dos erros através do teste de Anderson-Darling e homogeneidade das variâncias dos erros através do teste de Bartlett (ESTATCAMP, 2012) para todas as variáveis do experimento. As médias foram submetidas à análise de variância e comparadas pelo teste de Scott-Knott (1974), com 5% de significância, utilizando os aplicativos Sisvar (FERREIRA, 2011) e do SigmaPlot.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

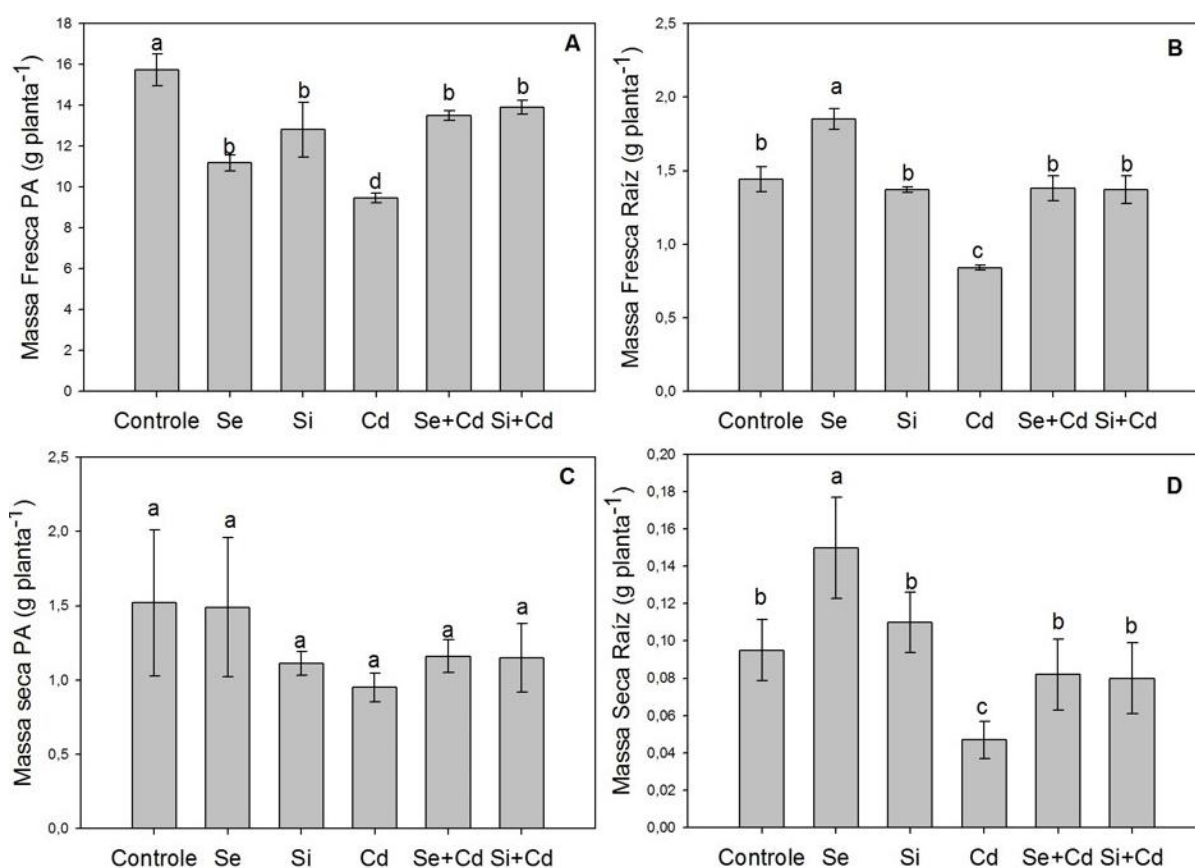
As plantas de *Pfaffia glomerata* expostas somente ao cádmio (Cd) na solução nutritiva apresentaram menor crescimento, com caule mais sensível e folhas com clorose, em comparação com as demais plantas (Figura 3 apêndice). O menor crescimento das plantas expostas ao Cd pode ser devido à redução da absorção de nutrientes, que ocasiona a inibição do crescimento das plantas (PENG et al., 2005). A coloração das plantas expostas apenas ao Cd foi possivelmente resultado da redução na produção de clorofila. De acordo com Qian et al. (2009), o declínio induzido por Cd no conteúdo de clorofilas pode ser explicado com base nos efeitos inibitórios do Cd sobre as enzimas envolvidas na biossíntese desses pigmentos. Nos demais tratamentos as plantas apresentaram maior altura e folhas maiores (Figura 3 apêndice). Isso pode ter se dado devido à presença de Se e Si na solução nutritiva, os quais apresentaram efeitos benéficos para as plantas.

Biomassa fresca e seca de raízes e parte aérea

O Cd é um dos metais pesados mais tóxicos, apresentando alta mobilidade no ambiente (TANG et al., 2015), sendo absorvido pelas raízes e transportado para a parte aérea de muitas espécies de plantas (SHI et al., 2005). Houve redução na biomassa fresca de parte aérea (Figura 1A) em todos os tratamentos, sendo mais significativo nas plantas expostas ao Cd. Já para massa fresca (Figura 1B) e massa seca de raízes (Figura 1D) somente o tratamento contendo Cd no meio de crescimento promoveu uma redução nesses parâmetros, comparados com o tratamento controle. A inibição no crescimento de raízes pode ser devido ao fato que é o siste-

ma radicular o primeiro órgão da planta a entrar em contato com o Cd, ocasionando maior inibição no crescimento. A redução da biomassa aérea vegetal pelo excesso de Cd pode ser consequência direta da inibição na síntese de clorofila, bem como da fotossíntese (PADMAJA et al., 1990), conforme observado na tabela 2. O Cd também destrói a integridade da membrana celular (FILEK et al., 2008) e inibe a absorção de certos elementos essenciais (ZEMBALA et al., 2010), ocasionando redução na produção de biomassa. Em ensaio conduzido por Santos (2013), houve um decréscimo na massa seca de folhas e raízes de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) na concentração de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Cd. Além disso, o Se promoveu um aumento na biomassa fresca e seca de raízes, comparado com o controle.

Figura 1 – Efeito do selênio ou do silício (2,5 mM) sobre a massa fresca da parte aérea (A), massa fresca de raízes (B), massa seca da parte aérea (C) e massa seca de raízes (D) de plantas de *P. glomerata*, cultivadas na presença de cádmio ($50 \mu\text{M}$).



Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Scott-Knott.

Fonte: Autor

Os resultados mostraram que concentrações de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Cd diminuem a biomassa fresca e seca em comparação com o controle. A redução da biomassa é explicada pela diminuição do metabolismo devido à interação do Cd com as enzimas e as reações bioquímicas, ocasionando redução no crescimento geral da planta (ONCEL et al., 2000; SHAFI et al., 2010; ALI et al., 2013).

Em relação a biomassa seca da parte aérea não foi observada diferença significativa entre os tratamentos (Figura 1C), ou seja, o Cd interferiu no acúmulo de água pelos tecidos, sem interferir de forma significativa no acúmulo de biomassa nesse órgão.

Nos tratamentos onde o Si e o Se estavam presentes na solução juntamente com o Cd, os valores relativos a biomassa fresca de raízes foram estatisticamente iguais ao tratamento controle, enquanto que para biomassa fresca de parte aérea esses mesmos tratamentos apresentaram maior acúmulo de biomassa comparado com o tratamento onde somente o Cd estava presente no meio de crescimento, ou seja, através desses parâmetros foi possível observar que o Se e o Si foram capazes de reduzir a toxicidade do Cd.

O Se e o Si entram na cadeia alimentar através das plantas e especialmente através das espécies cultivadas e medicinais, as quais são parte da dieta tanto de consumidores primários como secundários (LONGCHAMP et al., 2015). O Se tem papel importante na desintoxicação do estresse oxidativo induzido por Cd (IQBAL, 2015), podendo aliviar efeitos deletérios de vários estresses ambientais, incluindo metais pesados, secas, radiação ultravioleta e salinidade (LIU, 2015).

De acordo com Hossain et al. (2007) os benefícios promovidos pelo Si no metabolismo vegetal podem ser indiretos (maior resistência à doenças) ou diretos (melhoria da nutrição). De acordo com o mesmo autor, o Si estimula o crescimento devido ao aumento na extensibilidade da parede celular. Além disso, o efeito benéfico do Se e do Si sobre os parâmetros de crescimento de plantas de *P. glomerata* está relacionado à redução na absorção de Cd ou a formação de complexos metal-silicato dentro da planta. Esses complexos são translocados para os vacúolos e acumulados em formas ainda desconhecidas (NEUMANN; ZUR NIEDEN, 2001).

Parâmetros morfológicos do sistema radicular

Em resposta à toxicidade do Cd, as raízes respondem com mudanças no comprimento, diâmetro, volume e ramificações. A exposição das plantas ao Cd reduz significativamente a morfologia radicular (ALI et al. 2013), mudando assim a morfogênese da raiz (RASCIO, 2008). Para todos os parâmetros morfológicos do sistema radicular (Tabela 1), os tratamentos promoveram uma redução considerável, comparado com o controle. No entanto, o tratamento contendo somente o Cd foi o que promoveu uma redução mais significativa. Como o primeiro órgão da planta a entrar em contato com o Cd é a raiz, esta sofre os efeitos mais drásticos deste elemento tóxico. Além disso, o Cd se acumula principalmente neste órgão (HASSAN; MAN-SOOR, 2014), causando inibição do crescimento. Nos tratamentos contendo Se+Cd e Si+Cd houve uma amenização significativa dos efeitos tóxicos do Cd, uma vez que as plantas apresentaram comprimento de raízes, volume e número de ramificações de raízes maiores que no tratamento onde somente o Cd estava presente no meio de crescimento.

Tabela 1 - Efeito do selênio ou do silício (2,5 mM) sobre o comprimento, diâmetro, volume e ramificações de raízes de plantas de *Pffafia glomerata* cultivadas na presença de cádmio (50 µM).

Tratamento	Comprimento de raízes (cm)	Diâmetro de raízes (mm)	Volume de raízes (cm ³)	Ramificações
Controle	1496±67 a	0.40±0.02 a	1.19±0.11 a	8638±384 a
Se	900±73 b	0.37±0.01 a	0.94±0.01 b	7187±466 b
Si	927±43 b	0.38±0.01 a	1.01±0.01 b	7687±466 b
Cd	639±35 d	0.33±0.004 b	0.64±0.05 c	3371±1048 c
Se+Cd	730±14 c	0.40±0.04 a	0.91±0.05 b	7736±466 b
Si+Cd	733±11 b	0.40±0.02 a	0.91±0.05 b	7986±669 b

Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Scott-Knott.

Fonte: Autor.

O comprimento da raiz é muito sensível morfológicamente e está diretamente correlacionado com o efeito de metais pesados (CORREA et al., 2006; AHMAD et al., 2008; JUN-YU et al., 2008). No entanto, Liu et al. (2005) relataram que a raiz e o caule são igualmente afetados, mas como o Cd é absorvido primeiro pelas raízes,

elas apresentam um maior atraso no crescimento (IDREES, 2015). Krantev et al. (2008) em plantas de milho, Yadav (2010) em plantas de mostarda indiana e Rascio; Navari-Izzo (2011) em plantas de tabaco também relataram resultados semelhantes, indicando que o estresse ocasionado pelo Cd inibe a formação das raízes laterais e diminui o comprimento de raízes.

Para o diâmetro radicular, somente o tratamento contendo somente Cd promoveu uma redução significativa neste parâmetro, comparado com o controle (Tabela 1). A inibição do diâmetro e volume radicular pode ser atribuído, em parte, à inibição da mitose, redução da síntese de componentes da parede celular, danos ao aparelho de Golgi e alterações no metabolismo dos polissacarídeos (BERKELAAR; BEVERLEY, 2000). O estresse provocado pelo Cd pode ainda induzir a incorporação de lignina na parede celular das raízes, e como resultado a parede celular aumenta a sua rigidez, porém a sua expansão é reduzida (DEGENHARDT; GIMMLER, 2000). Outro efeito observado pelo Cd é o dano aos microtúbulos em células radiculares, resultando na inibição da divisão celular (EUN et al., 2000).

Geralmente os parâmetros comprimento, área e volume de raízes são os mais sensíveis ao Cd (CI et al., 2009). Huang et al. (2015), estudando diferentes níveis de Cd (0, 2 e 10 μM) no crescimento de cultivares de pimenta (*Capsicum annuum* L.) também observaram que o comprimento total de raízes, a área, o número de pontas e o comprimento radicular de todas as cultivares diminuíram significativamente nas plantas cultivadas com 10 μM de Cd. Shafi et al. (2010) também observaram redução no comprimento, volume e diâmetro radicular em plantas de trigo expostas ao Cd (2 e 4 μM).

Em geral, para os parâmetros de crescimento das raízes, a presença do Si e do Se nos tratamentos onde o Cd estava presente no meio de crescimento promoveu respostas positivas em comparação com o tratamento contendo apenas Cd (Tabela 1). Através dessa resposta pode-se afirmar que esses dois elementos se mostraram benéficos para o crescimento das raízes das plantas, reduzindo assim os efeitos tóxicos ocasionados pelo Cd. Filek et al. (2009) sugeriram que a detoxificação de Cd por Se pode estar associada com os seguintes mecanismos: (1) a adição de Se pode reativar enzimas de membrana e restaurar o transporte de metabólitos importantes para o funcionamento dos cloroplastos e (2) o Se pode competir com Cd por sítios de ligação específicos, tais como grupos tióis da cisteína, em proteínas de membrana. Da mesma forma, os efeitos benéficos do Si são atribuídos ao fato deste

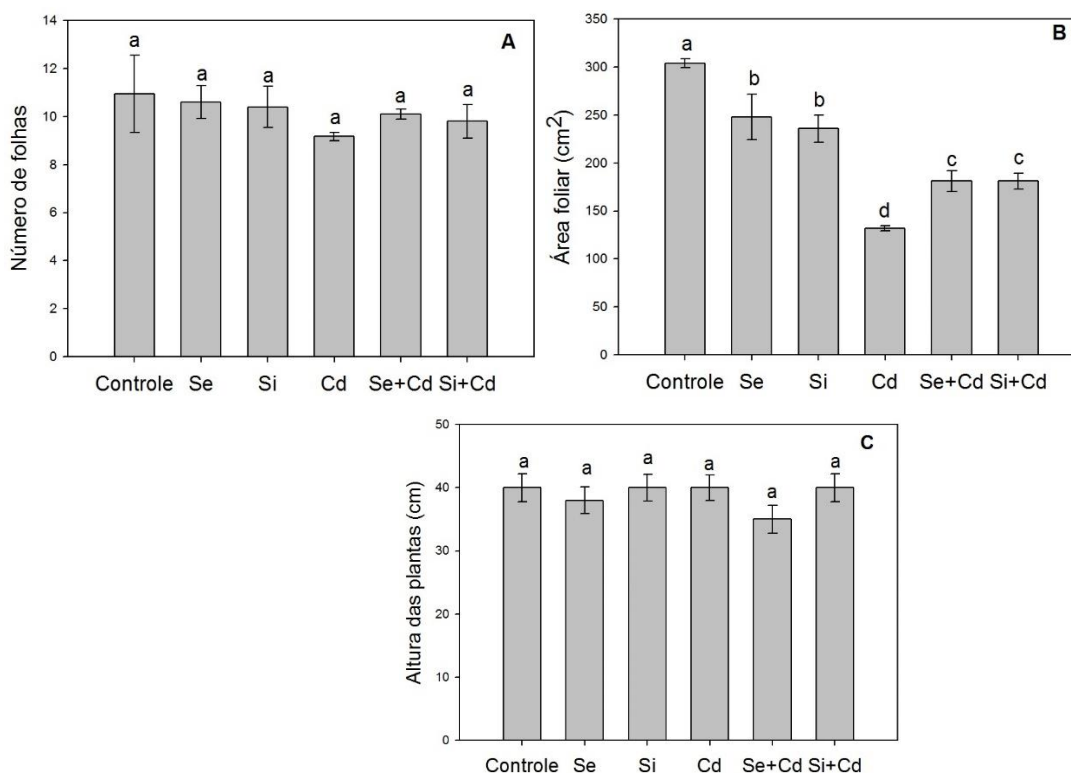
ser depositado nas paredes celulares de raízes, folhas e caules (MEENA et al., 2014). Esta deposição do Si nestes locais na planta, em relação ao seu efeito sobre metais tóxicos, pode levar a coprecipitação de complexos Si-metal na parede celular (NEUMMAN; NIEDEN, 2001), impedindo que o metal tóxico cause danos ao sistema radicular.

Crescimento da parte aérea

Em relação ao número de folhas (Figura 2A) e altura das plantas (Figura 2C) não foi observada diferença significativa entre os tratamentos. Por outro lado, todos os tratamentos promoveram uma redução significativa na área foliar (Figura 2B) de plantas de *P. glomerata*, comparado com o controle. A área foliar é normalmente usada para monitorar a produção de biomassa da parte aérea. Uma das razões da redução na área foliar é a redução da taxa de fotossíntese, em função do efeito de Cd nas plantas, devido a redução da condutância estomática (BARCELO; POSCHENRIEDER, 1990). Além disso, o Cd afeta a absorção, transporte e uso de macronutrientes como o enxofre (JIANG et al., 2005), cálcio, fósforo e potássio, bem como da água (Das et al., 1997), prejudicando, desta forma, o crescimento das plantas.

No entanto, de todos os tratamentos, o Cd foi o que promoveu uma redução mais significativa, e nos tratamentos onde o Se e o Si estavam presentes juntamente com o Cd no meio de crescimento houve uma amenização significativa dos efeitos tóxicos do Cd, uma vez que as plantas dos tratamentos Se+Cd e Si+Cd apresentaram área foliar maior que o tratamento onde somente o Cd estava presente no meio de crescimento. Em ensaios conduzidos por Pereira (2015) com plantas de aroeira-salso, submetidas a diferentes concentrações de Cd, também houve uma redução da área foliar a partir da concentração de 50 μM de Cd, sendo o mesmo observado para o presente experimento (Figura 1 e 2B). Os mecanismos fisiológicos do Se são confusos e pobremente compreendidos (IQBAL et al., 2015). Por outro lado, o efeito benéfico de Si na folha pode ser atribuído, pelo menos em parte, às variações anatômicas impostas pela deposição de sílica nas paredes celulares das células epidérmicas que por sua vez mantém as folhas eretas e melhora a interceptação de luz por estes tecidos, estimulando a fotossíntese e com isso promovendo um maior acúmulo de biomassa (MA; TAKAHASHI, 2002).

Figura 2 - Número de folhas (A), área foliar (B) e altura das plantas (C) de *Pffafia glomerata*, expostas ao Se ou Si (2,5 mM) e cultivadas na presença de cádmio (50 μ M).



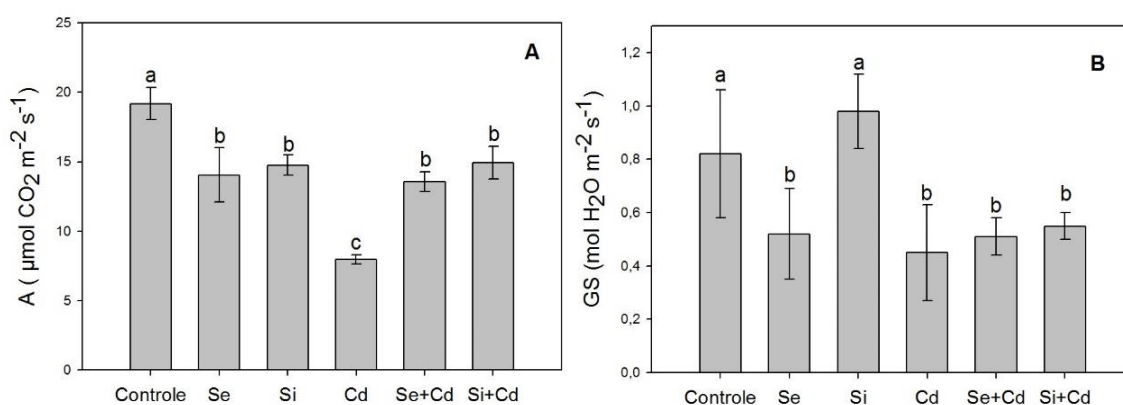
Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Scott-Knott.
Fonte: Autor.

Parâmetros fotossintéticos

Quando as plantas são expostas a estresses ambientais, os cloroplastos são danificados, ocasionando uma redução na fotossíntese (ASHRAF; HARRIS, 2013). Em todos os parâmetros fotossintéticos avaliados (Figura 3 e Tabela 2) foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos. No tratamento contendo somente Cd no meio de crescimento, houve uma redução significativa nos parâmetros fotossintéticos. Esta redução pode ser uma consequência do dano provocado pelo Cd em cloroplastos, uma vez que o mesmo pode modificar a estrutura da parede celular e degenerar cloroplastos (HE et al., 2011), devido ao empilhamento anormal do granum e redução do número e tamanho do grana (GUIMARÃES et al., 2008), além de promover uma redução nas concentrações de clorofila (ZACCHINI et al., 2009). Além disso, devido à interação do Cd com enzimas e proteínas que contêm

grupos sulfidril, esse elemento pode interferir na fotossíntese de diversas formas, como inibir a cadeia de transporte de elétrons nos cloroplastos e inibir as enzimas do Ciclo de Calvin (DELMAIL et al., 2011). Em ensaio conduzido por Haouari (2012), plantas de tomateiro submetidas à altas concentrações de Cd (50 e 100 μM), também apresentaram redução nesses mesmos parâmetros.

Figura 3 - Efeito do selênio (Se) ou do silício (Si) (2,5 mM) na taxa fotossintética (A - $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e condutância estomática (GS - $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) de plantas de *Pffafia glomerata* cultivadas na presença de cádmio (50 μM).



Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Scott-Knott.

Fonte: Autor.

Para taxa fotossintética (Figura 3A), concentração interna de CO_2 , taxa transpiratória e eficiência de carboxilação da Rubisco (Figura 3A; Tabela 2), os demais tratamentos também promoveram uma redução significativa, comparado com o controle. O mesmo foi observado para a condutância estomática (Figura 3B), exceto no tratamento onde somente o Si estava presente no meio de crescimento. No entanto, nos tratamentos onde o Se e o Si estavam presentes juntamente com o Cd houve uma amenização significativa dos efeitos tóxicos do Cd, uma vez que as plantas dos tratamentos Se+Cd e Si+Cd apresentaram taxa fotossintética, condutância estomática, concentração interna de CO_2 , taxa transpiratória e eficiência de carboxilação da Rubisco maior que o tratamento onde somente o Cd estava presente. A restauração da fotossíntese em plantas estressadas após a aplicação de Se pode estar relacionada com uma diminuição no nível de espécies reativas de oxigênio (EROs), reativação de antioxidantes, restauração da estrutura dos cloroplastos danificados e aumento da produção de outros metabólitos vitais para as plantas (FENG et al., 2013). Da mesma forma, o Si amenizou a toxicidade do Cd provavelmente devido ao papel

protetor que exerce nas reações fotoquímicas da fotossíntese, além de manter a integridade da maquinaria fotossintética (SONG et al., 2014).

Tabela 2 – Efeito do selênio ou do silício (2,5 mM) sobre a concentração interna de CO_2 (C_i - $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), taxa transpiratória (T_{rmmol} - $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), Eficiência do Uso da Água (EUA - $\text{mol CO}_2 \text{ mol H}_2\text{O}^{-1}$) e eficiência de carboxilação da rubisco (A/C_i - $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), em plantas de *Pffafia glomerata* cultivadas na presença de cádmio (50 μM).

Tratamento	C_i	T_{rmmol}	EUA	A/C_i
Controle	346±5,76 a	8,99±0,47 a	2,25±0,10 a	0,065±0,002 a
Se	325±3,57 b	8,17±1,00 a	2,37±0,45 a	0,047±0,002 b
Si	327±3,50 b	6,51±0,44 b	2,43±0,28 a	0,045±0,003 b
Cd	309±6,03 c	4,82±0,86 c	1,30±0,32 b	0,022±0,002 c
Se+Cd	330±15,2 b	6,81±0,22 b	2,34±0,27 a	0,045±0,002 b
Si+Cd	331±11,7 b	6,58±0,58 b	2,38±0,14 a	0,045±0,003 b

Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Scott-Knott.

Fonte: Autor.

A redução na condutância estomática pode ter ocorrido com o intuito de diminuir a perda de água, as quais também reduzem as taxas fotossintéticas (JONES, 1998). Concentrações de Cd a nível nanomolar reduzem a abertura estomática em várias plantas (PERFUS-BARBEOCH et al., 2002). A redução da abertura estomática pode reduzir a disponibilidade de carbono para a fotossíntese acarretando a redução de suas taxas de crescimento (GUIMARÃES, 2008; CHAVES 2014). Portanto, a redução da condutância estomática pode ter contribuído para a diminuição da taxa fotossintética e conseqüentemente do crescimento.

A redução que ocorreu na eficiência de carboxilação da Rubisco está relacionada com os efeitos tóxicos do Cd que podem variar desde a inibição enzimática (SEREGIN; IVANOV, 2001) até a geração de EROs que causam a oxidação de biomoléculas, tais como proteínas e lipídeos. Esses, por sua vez, causam uma lesão oxidativa em membranas e em estruturas subcelulares importantes para a realização da fotossíntese (BHADURI; FULEKAR, 2012). A diminuição da atividade fotossintética tem sido frequentemente ligada à diminuição da síntese de pigmentos (PAL et al., 2006; KRANTEV et al., 2008). A adição de Si suprimiu o efeito negativo do estresse de Cd em plantas de milho (VACULIK et al.,

2015). O mesmo aconteceu com o Se que amenizou os efeitos do Cd em plantas de mostrada-branca (FARGAŠOVÁ et al., 2006).

CONCLUSÃO

O selênio e o silício amenizam os efeitos tóxicos do cádmio sobre parâmetros de crescimento e fotossintéticos em plantas de *Pffafia glomerata* cultivadas em sistema hidropônico, podendo assim efetivamente aumentar a capacidade de defesa dessas plantas contra o estresse induzido pela toxicidade de Cd. Estes resultados servem de subsídio para mais investigações a respeito dos efeitos do Se e do Si em experimentos de maior duração.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, M.S.A. et al. Photosynthesis performance of two mung bean (*Vigna radiate* (L.) Wilczek) cultivars under lead and copper application. **International Journal of Agricultural and Biological Engineering**, v.10, p.167-176, 2008.
- ALI, H.; KHAN, E.; SAJAD, M.A. Phytoremediation of heavy metals - Concepts and applications. **Chemosphere**, v.91, p.869–881, 2013.
- BARCELO, J.; POSCHENRIEDER, C. Plant water relations as affected by heavy metal stress: a review. **Journal of Plant Nutrition**, v.13, n.1, p.1-37, 1990.
- BERKELAAR, E.; BEVERLEY, H. The relationship between morphology and cadmium accumulation in seedlings of two durum wheat cultivars. **Canadian Journal of Botany**, v.78, n.1, p.381-387, 2000.
- BHADURI, A.M.; FULEKAR, M.H. Antioxidant enzyme responses of plants to heavy metal stress. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v.11, n.2, p.55–69, 2012.
- CHAVES, L.H.G.; SOUZA, R.S. Crescimento, distribuição e acumulação de cádmio em plantas de *Jatropha curcas*. **Revista de Ciências Agrárias**, v.37, n.3, p.286-291, 2014.
- CI, D.W. et al. Effects of cadmium on plant growth and physiological traits in contrast wheat recombinant inbred lines differing in cadmium tolerance. **Chemosphere**, v.77, n.11, p.1620–1625, 2009. doi: 10.1016/j.chemosphere.2009.08.062.
- CORREA, A. X. R. et al. Cadmium phytotoxicity: Quantitative sensitivity relationships between classical endpoints and antioxidative enzyme biomarkers. **Science of the Total Environment**, v.357, n.14, p.120-127, 2006.
- DAS, P.; SAMANTARAY, S.; ROUT, G.R. Studies on cadmium toxicity in plants: a review. **Environmental Pollution**, v.98, n.1, p.29- 36, 1997.
- DEGENHARDT, B.; GIMMLER, H. Cell wall adaptations to multiple environmental stresses in maize roots. **Journal of Experimental Botany**, v.51, n.2, p.595-603, 2000.
- DELMAIL D. et al. Physiological, anatomical and phenotypical effects of a cadmium stress in different-aged chlorophyllian organs of *Myriophyllum alterniflorum* DC (Haloragaceae). **Environmental and Experimental Botany**, v.72, n.4, p.174–181, 2011.
- 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, n.3, p.506-512, 2016. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20150585>.
- ESTATCAMP. **Portal Action**. 2012. Disponível em: <http://www.portalaction.com.br>. Acesso em: 21 ago. 2015.

EUN, S.O.; YOUN, H.S.; LEE, Y. Lead disturbs microtubule organization in the root meristem of *Zea mays*. **Physiologia Plantarum**, v.110, n.10, p.357-365, 2000.

FARGAŠOVÁ, A.; J. PASTIEROVÁ, J.; SVETKOVÁ, K. Effect of Se-metal pair combinations (Cd, Zn, Cu, Pb) on photosynthetic pigments production and metal accumulation in *Sinapis alba* L. seedlings. **Plant, Soil and Environment**, v.52, n.1, p.8–15, 2006.

FENG, R.; WEI, C.; TU, S. The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. **Environmental and Experimental Botany**, v.87, n.3, p.58–68, 2013.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011.

FILEK, M. et al. The protective role of selenium in rape seedlings subjected to cadmium stress. **Journal of Plant Physiology**, v.165, n. 1, p.833-844, 2008.

GUIMARÃES, M.D.A. et al. Toxicidade e tolerância ao cádmio em plantas. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v.2, n.9, p.58–68, 2008.

HAOUARI, C. C. et al. Response of tomato (*Solanum lycopersicon*) to cadmium toxicity: Growth, element uptake, chlorophyll content and photosynthesis rate. **African Journal of Plant Science**, v.6, n.1, p.1-7, 2012. DOI: 10.5897/AJPS11.107.

HASSAN, M.; MANSOOR, S. Oxidative stress and antioxidant defense mechanism in mung bean seedlings after lead and cadmium treatments. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v.38, n. 6, p.55-61, 2014.

HE, J. et al. Net cadmium flux and accumulation reveal tissue-specific oxidative stress and detoxification in *Populus x canescens*. **Physiologia Plantarum**, v.143, n. 1, p. 50-63, 2011.

HOSSAIN, M.T. et al. Modification of chemical properties of cell walls by silicon and its role in regulation of the cell wall extensibility in oat leaves. **Journal of Plant Physiology**, v. 164, n. 4, p. 385-393, 2007.

HUANG, B. et al. Root morphological responses of three hot pepper cultivars to Cd exposure and their correlations with Cd accumulation. **Environmental Science and Pollution Research**, v.22, n.2, p.1151-115, 2015. DOI. 10.1007/s11356-014-3405-7.

IDREES, S. Evaluación de cadmio en trigo (*Triticum aestivum* L.) en un medio hidropônico. **Agrociência**, v.49, n.8, p.917-929, 2015.

IQBAL, M. et al. Selenium and sulfur influence ethylene formation and alleviate cadmium-induced oxidative stress by improving proline and glutathione production in wheat. **Journal of Plant Physiology**, v.173, n.4, p.9–18, 2015.

JIANG, R.F. et al. Cadmium hyperaccumulation protects *Thlaspi caerulescens* from leaf feeding damage by thrips (*Frankliniella occidentalis*). **New Phytologist Trust**, v.167, n.3, p.805-814, 2005.

JONES, H.G. Stomatal control of photosynthesis and transpiration. **Journal of Experimental Botany**, v.49, n. 7, p.387–398, 1998.

JUN-YU, H. et al. Effects of cadmium stress on seed germination, seedling growth and seed amylase activities in rice (*Oryza sativa*). **Rice Science**, v.15, n.4, p.319-325, 2008.

KRANTEV, A. et al. Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants. **Journal of Plant Physiology**. v.165, n.15, p.920-931, 2008.

LEE, S. S. et al. Heavy metal immobilization in soil near abandoned mines using eggshell waste and rapeseed residue. **Environmental Science and Pollution Research**, v.20, n.3, p.1719-1726, 2013.

LIU, X. et al. Toxicity of arsenate and arsenite on germination, seedling growth and amylolytic activity of wheat. **Chemosphere**, v.61, n.16, p.293-301, 2005.

LIU, W.X. et al. Selenium reduces cadmium accumulation and alleviates cadmium-induced quality degradation in tobacco. **Plant Soil Environ**, v.61, n.10, p.444–450, 2015. doi: 10.17221/397/2015-PSE.

LONGCHAMP, M. et al. Variations in the accumulation, localization and rate of metabolization of selenium in mature *Zea mays* plants supplied with selenite or selenate. **Food Chemistry**, v.182, n.3, p.128–135, 2015.

MA, J.F.; MIYAKE, Y.; TAKAHASHI, E. Silicon as a beneficial element for crop plants. In: DATNOFF, L.; SNYDER, G.; KORNDORFER, G. (Eds.), *Silicon in Agriculture*. **Elsevier Science**, New York. p. 17-39, 2002.

MA, J.F.; YAMAJI, N. Functions and transport of silicon in plants. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v.65, n.10, p.3049-3057, 2004.

MAESTRE, F. T. et al. Plant species richness and ecosystem multifunctionality in global dryland. **Science**, v.335, n.6065, p.214-218, 2012.

MAGALHÃES, P.M. **Agrotecnologia para el cultivo de fáfia o ginseng brasileiro**. In: *Fundamentos de agrotecnologia de cultivo de plantas medicinales iberoamericanas*. Bogota: CYTED, p.323-332, 2000.

MALDANER, J. et al. Aluminum accumulation in two *Pfaffia glomerata* genotypes and its growth effects. **Ciência Rural**, v.45, n.6, 2015. doi: 10.1590/0103-8478cr20140439.

MEENA, V.D. 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, n.6, p.493–500, 2007.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, n.10, p.473-497, 1962.

MURTAZA, G. et al. Metal uptake via phosphate fertilizer and city sewage in cereal and legume crops in Pakistan. **Environmental Science and Pollution Research**, London, v.55, n.8, p.1035-1047, 2015.

NEUMANN, D.; ZUR NIEDEN, U. Silicon and heavy metal tolerance of higher plants. **Phytochemistry**, v.56, n.3, p.685-692, 2001.

OK, Y. S. et al. Ameliorants to immobilize Cd in rice paddy soils contaminated by abandoned metal mines in Korea. **Environmental Geochemistry and Health**, v.33, n.1, p.23-30, 2011.

ONCEL, I., KELES, S.; USTUN, A. S. Effect of temperature and heavy metal stress on the growth and some biochemical compounds in wheat seedlings. **Environmental Pollution**, v.107, n.6, p.315-320, 2000.

PADMAJA, D.D.K.; PRASAD, A.R.K. Inhibition of chlorophyll synthesis in *Phaseolus vulgaris* seedlings by cadmium acetate. **Photosynthetica**, v.24, n.8, p.399–405, 1990.

PAL, M. et al. Physiological changes and defense mechanisms induced by cadmium stress in maize. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science - Z. Pflanzenernähr.Bodenkd.** v.169, n.5, p.239–246, 2006.

PENG, H.Y.; TIAN, S.K.; YANG, X.E. Changes of root morphology and Pb uptake by two species of *Elsholtzia* under Pb toxicity. **Journal of Zhejiang University. Science. B.**, v.6, n.6, p.546–552, 2005. doi: 10.1631/jzus.2005.B0546.

PEREIRA, M. P. et al. Cadmium tolerance in *Schinus molle* trees is modulated by enhanced leaf anatomy and photosynthesis. **Trees**, v.20, n.4, p.1-8, 2015. DOI 10.1007/s00468-015-1322-0.

PERFUS-BARBEOCH, L. et al. Heavy metal toxicity: cadmium permeates through calcium channels and disturbs the plant water status. **The Plant Journal**, v.32, n.2, p.539–548, 2002.

QIAN H. et al. Combined effect of copper and cadmium on *Chlorella vulgaris* growth and photosynthesis related gene transcription. **Aquatic Toxicology**, v.94, n.6, p.56–61, 2009.

RASCIO, N.; NAVARI-IZZO, F. Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? **Plant Science**, v.180, n.10, p.169-181, 2011.

RASCIO, N. et al. Metal accumulation and damage in rice (cv. *Vialone nano*) seedlings exposed to cadmium. **Environmental and Experimental Botany**, v.62, n.5, p.267-278, 2008.

SANTOS, A. P. et al. Influência de doses de cádmio na emergência e no crescimento do feijoeiro. **Revista do Centro Universitário de Patos de Minas**. Patos de Minas, UNIPAM, v.4, n.2, p.1–8, 2013.

SARWAR, N. et al. Role of plant nutrients in minimizing cadmium accumulation by plants. **Journal of the Science Food and Agriculture** v.90, n.6, p.925-937, 2010.

SCOTT, R.; KNOTT, M.A. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v.30, n.3, p.507-512, 1974.

SEREGIN, I.V.; IVANOV, V.B. Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. **Russian Journal of Plant Physiology**, v.48, n.6, p.523–544, 2001.

SHAFI, M. et al. Effect of cadmium and salinity stresses on root morphology of wheat. **Pak. Journal of Botany**, v.42, n.4, p.2747-2754, 2010.

SHI, X.H. et al. Effect of Si on the distribution of Cd in rice seedlings. **Plant and Soil**, v.272, n. 5, p.53-60, 2005.

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

SONG, Z. et al. Increase of available soil silicon by Sirich manure for sustainable rice production. **Agronomy for Sustainable Development**, v.34, n.5, p.813–819, 2014.

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, n.13, p. 9999-10008, 2015. doi:10.1007/s11356-015-4187-2.

THIRUVENGADAM, M.; CHUNG, I-M. Selenium, putrescine, and cadmium influence health-promoting phytochemicals and molecular-level effects on turnip (*Brassica rapa* ssp. *rapa*). **Food Chemistry**, v.173, n.9, p.185–193, 2015.

TKALEC, M. et al. 2008. Cadmium - induced responses in duckweed *Lemna minor* L. **Acta Physiologia Plant**, v.30, n. 5, p881–890, 2008.

VACULÍK, M.; PAVLOVIČ, A.; LUX, A. Silicon alleviates cadmium toxicity by enhance photosynthetic rate and modified bundle sheath's cell chloroplasts ultrastructure in maize. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.120, n.7, p.66–73, 2015.

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, 2004.

ZACCHINI, M. et al. Metal tolerance, accumulation and translocation in poplar and willow clones treated with cádmium in hydroponics. **Water Air and Soil Pollution**, v.197, n.2, p.23-34, 2009.

ZENG, F. et al. Alleviation of chromium toxicity by silicon addition in rice plants. **Agricultural Sciences in China**, v.10, n.2, p.1188-1196, 2011.

ZIMMER, A.R. et al. HPLC method for the determination of ecdysterone in extractive solution from *Pfaffia glomerata*. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.40, n.4, p.450-453, 2006.

YADAV, S. K. Heavy metals toxicity in plants: An overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. **South African Journal of Botany**, v.76, n.3, p.167-179, 2010.

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.

MANUSCRITO II

**EFEITO DO SELÊNIO E DO SILÍCIO NO SISTEMA ANTIOXIDANTE DE PLANTAS
DE *Pfaffia glomerata*(SPRENG.) PEDERSEN CULTIVADAS SOB TOXICIDADE
DO CÁDMIO**

RESUMO

EFEITO DO SELÊNIO E DO SILÍCIO NO SISTEMA ANTIOXIDANTE DE PLANTAS DE *Pfaffia glomerata* (SPRENG.) PEDERSEN CULTIVADAS SOB TOXICIDADE DO CÁDMIO

AUTORA: Aline Soares Pereira
ORIENTADORA: Luciane Almeri Tabaldi
COORIENTADORA: Liana Verônica Rossato

O cádmio (Cd) tem se tornado uma preocupação crescente nos últimos anos, já que o mesmo é altamente tóxico aos vegetais e animais, tornando-se necessário desenvolver estratégias que busquem reduzir a absorção e a toxicidade desse elemento em plantas, e com isso reduzir os riscos relacionados à introdução do mesmo nas cadeias alimentares. Assim, o objetivo deste estudo foi verificar se o selênio (Se) e o silício (Si) amenizam os efeitos tóxicos do Cd nos parâmetros bioquímicos em plantas de *Pfaffia glomerata* em sistema hidropônico. As plantas de *P. glomerata* foram propagadas *in vitro* a partir de segmentos nodais, aclimatadas e após transferidas para cultivo hidropônico com solução nutritiva de Hoagland onde foram adicionadas os tratamentos: Tratamento 1: 0 μM Cd + 0 mM Se e Si; Tratamento 2: 0 μM Cd + 2,5 mM Se; Tratamento 3: 0 μM Cd + 2,5 mM Si; Tratamento 4: 50 μM Cd + 0 mM Se e Si; Tratamento 5: 50 μM Cd + 2,5 mM Se, Tratamento 6: 50 μM Cd + 2,5 mM Si. Após exposição aos diferentes tratamentos (14 dias), folhas e raízes foram coletadas para determinação do conteúdo de cádmio nos tecidos, conteúdo de clorofila *a*, *b*, totais e carotenoides, atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e guaiacol peroxidase (POD), peroxidação lipídica (TBARS) e conteúdo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo Teste Scott Knott ($p \leq 0,05$). O maior conteúdo de clorofilas *a* e *b* e de carotenoides nas folhas foi observado nas plantas expostas ao tratamento controle, ocorrendo redução para os demais tratamentos, principalmente nas plantas cultivadas apenas com Cd. A atividade da enzima SOD foi reduzida drasticamente nas plantas cultivadas com Cd tanto na parte aérea quanto na raiz, no entanto, com a presença de Se e Si juntamente com o Cd houve um aumento na atividade da enzima em ambas as partes da planta. Na parte aérea a atividade da enzima POD foi maior no tratamento controle e menor para o tratamento contendo apenas Cd, já nas raízes não houve inibição da POD, sendo que a atividade da POD foi semelhante ao tratamento controle. As plantas com Se apresentaram maior atividade da POD em comparação com as plantas cultivadas com Si. Esta resposta foi observada tanto para a parte aérea quanto para as raízes. Plantas cultivadas somente com Cd apresentaram maior peroxidação lipídica tanto na parte aérea quanto na raiz. O Si foi mais efetivo do que o Se na amenização da peroxidação lipídica causada pelo Cd. A maior concentração de H_2O_2 foi observada na parte aérea das plantas cultivadas com Cd, no entanto nas raízes houve uma resposta oposta, onde este foi o tratamento com menor concentração de H_2O_2 . O Cd influenciou negativamente os parâmetros bioquímicos estudados, enquanto que a adição de Se e Si amenizou o estresse provocado pelo Cd. O potencial do Se e Si em amenizar a toxicidade do Cd pode ser utilizado para aumentar a produtividade e a qualidade de plantas medicinais, de forma ambientalmente adequada.

Palavras-chave: Ginseng brasileiro. Metais tóxicos. Parâmetros bioquímicos. Toxicidade.

ABSTRACT

SELENIUM AND SILICON INFLUENCE ON ANTIOXIDANT SYSTEM OF *Pfaffia glomerata* (SPRENG.) PEDERSEN GROWING UNDER CADMIUM TOXICITY

AUTHOR: Aline Soares Pereira
ADVISOR: Luciane Almeri Tabaldi
CO ADVISOR: Liana Verônica Rossato

Cadmium (Cd) has become an increasing concern in recent years, since it is highly toxic to plants and animals, making it necessary to develop strategies that seek to reduce the absorption and toxicity of this element in plants, and thereby reducing risks related to the introduction of the same food chains. The objective of this study was to determine whether selenium (Se) and silicon (Si) alleviate the toxic effects of Cd on biochemical parameters in *Pfaffia glomerata* plants grown hydroponically. The plants of *P. glomerata* were propagated *in vitro* from nodal segments, acclimatized and after transferred to hydroponics with Hoagland nutrient solution which were added the treatments: 1: 0 μM Cd + 0 mM Se and Si; Treatment 2: 0 μM Cd + 2.5 mM Se; Treatment 3: 0 μM Cd + 2.5 mM Si; Treatment 4: 50 μM Cd + 0 mM Se and Si; Treatment 5: 50 μM Cd + 2.5 mM Se; Treatment 6: 50 μM Cd + 2.5 mM Si. After exposure to different treatments (14 days), leaves and roots were collected to determine the Cd content in tissues, chlorophyll *a*, *b*, total and carotenoids content, , superoxide dismutase (SOD) and guaiacol peroxidase (POD) activity, lipid peroxidation (TBARS) and content of hydrogen peroxide (H_2O_2). Data were submitted to analysis of variance and means were compared by the Scott Knott test ($p \leq 0.05$). The highest content of chlorophylls and carotenoids in the leaves was observed in the plants exposed to control treatment, leading to a reduction to the other treatments, especially in the solution containing only Cd. The SOD activity was dramatically decreased in shoot and roots of plants grown with Cd, however, in the presence of Se and Si along with Cd there was an increase in enzymatic activity in both parts of the plant. In shoot the POD activity was higher in the control treatment and lower for the treatment containing only Cd, however at the roots there was no inhibition of POD, similar to the control treatment. Plants with Se have higher POD activity compared to plants grown with Si. This response was observed both for the shoot as to the roots. Plants grown only with Cd showed greater lipid peroxidation both in the shoot and in the root. The Si was more effective than the Se in ameliorating the lipid peroxidation caused by Cd. The highest concentration of H_2O_2 was observed in shoot of plants grown with Cd, however the roots there was an opposite response, where this was the treatment with lower concentrations of H_2O_2 . The Cd negatively influenced the studied biochemical parameters, while the addition of Se and Si eased the stress caused by Cd. The potential of Se and Si to soften the toxicity of Cd can be used to increase productivity and quality of medicinal plants in an environmentally appropriate manner.

Keywords: Brazilian ginseng. Toxic metals. Beneficial elements. Biochemical parameters, Toxicity.

INTRODUÇÃO

O Cádmiio (Cd) é um elemento presente em diversas concentrações nos solos estando na sétima posição da lista prioritária de substâncias tóxicas (ATSDR, 2011). Este metal não tem função biológica não sendo essencial para o crescimento das plantas, com alta toxicidade, mesmo em concentrações muito baixas de $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ (YANG et al., 2009). Portanto, é necessário desenvolver medidas eficazes para diminuir o acúmulo desse elemento no solo e conseqüentemente, nas plantas.

Estudos vêm sendo realizados em diferentes espécies de plantas, os quais têm revelado que o acúmulo de Cd pode interferir em uma série de processos metabólicos, uma vez que este altera o estado redox da célula (GILL; TUTEJA, 2010). Dentre os principais impactos do Cd no metabolismo vegetal, pode-se citar seu efeito no aparato fotossintético (QIAN et al., 2010) e as modificações na condutância estomática e na transpiração foliar (SOUZA et al., 2011), bem como na absorção de minerais e nas relações hídricas (HE et al., 2011). Além disso, o excesso de Cd desencadeia o estresse oxidativo, culminando em perturbações na composição e funções das membranas celulares (CUYPERS et al., 2011; AZEVEDO et al., 2012; GALLEGGO et al., 2012).

Dessa forma, torna-se necessário o desenvolvimento de estratégias que resultem em uma menor absorção desse elemento, otimizando assim, o uso dos recursos naturais e a produção de alimentos seguros, principalmente quando se trata do cultivo de uma planta medicinal como a *Pfaffia glomerata*, que apresenta grau razoável de tolerância a metais. Essa espécie é conhecida como ginseng brasileiro, pertencente à família Amaranthaceae, sendo de grande interesse comercial para a produção de fitomedicamentos e suplementos alimentares, devido a propriedades antitumorais, antidiabéticas, tônicas e estimulantes, e contra distúrbios gástricos e reumatismo (MAGALHÃES, 2000; ZIMMER et al., 2006; MENDES; CARLINI, 2007).

Dentre as alternativas buscadas para solucionar os problemas ocasionados pelo Cd no crescimento de plantas está o uso de amenizadores, ou seja, elementos tidos até então como benéficos, que quando utilizados em concentrações baixas podem aliviar os efeitos danosos de metais. Alguns avanços já foram observados a fim de diminuir a toxidez provocada pelo Cd. Sarwar et al. (2010) demonstraram que

a interação do Cd com elementos essenciais e também elementos benéficos pode reduzir o acúmulo do Cd e assim, aliviar os sintomas de sua toxidez.

Nesse sentido, o silício (Si) é um elemento benéfico para o crescimento, desenvolvimento, produtividade e resistência a doenças em uma ampla variedade de espécies (MA et al., 2004, 2015). Outro elemento considerado benéfico é o selênio (Se), sendo que também já foi comprovado que o mesmo pode aumentar a tolerância das plantas aos estresses ambientais (YAO et al., 2013). Em baixas concentrações o Se é capaz de exercer funções benéficas em plantas cultivadas com excesso de Cd (FILEK et al., 2008). No entanto, ainda sabe-se muito pouco a respeito do efeito desses dois elementos como amenizadores da toxidez de Cd em plantas, e menos ainda em espécies medicinais. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi verificar se o Se e o Si reduzem as concentrações de Cd em plantas de *P. glomerata* e se os mesmos amenizam os efeitos tóxicos do Cd sobre parâmetros bioquímicos em raízes e parte aérea destas plantas.

MATERIAS E MÉTODOS

Os ensaios foram desenvolvidos no Laboratório de Biotecnologia Vegetal, Laboratório de Bioquímica de Plantas, Laboratório de Química e em casas de vegetação pertencentes ao Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas (CCNE), da Universidade Federal de Santa Maria. Foi usado o acesso GD de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen, o qual faz parte da coleção de plantas medicinais da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, MS. As plantas utilizadas nos experimentos foram propagadas *in vitro* a partir de segmentos nodais por 25 dias em meio de cultivo MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, 0,1 g L⁻¹ de mio inositol e 6,0 g L⁻¹ de ágar.

Após esse período, as plantas foram transferidas para bandejas plásticas com capacidade de 17 L contendo solução nutritiva completa, onde foram fixadas por meio de esponjas em placas de poliestireno contendo furos (30 plantas por placa), objetivando a aclimação. A solução nutritiva teve a seguinte composição (em mg L⁻¹): 85,31 de N; 7,54 de P; 11,54 de S; 97,64 de Ca; 23,68 de Mg; 104,75 de K; 176,76 de Cl; 0,27 de B; 0,05 de Mo; 0,01 de Ni; 0,13 de Zn; 0,03 de Cu; 0,11 de Mn e 2,68 de Fe (FeSO₄/Na-EDTA). Após período de cinco dias de aclimação, os tra-

tamentos foram aplicados, os quais consistiram nas seguintes combinações: Tratamento 1: 0 μM Cd + 0 mM Se e Si; Tratamento 2: 0 μM Cd + 2,5 mM Se; Tratamento 3: 0 μM Cd + 2,5 mM Si; Tratamento 4: 50 μM Cd + 2,5 mM Se; Tratamento 5: 50 μM Cd + 0 mM Se e Si; Tratamento 6: 50 μM Cd + 2,5 mM Si. Os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições para cada tratamento e o pH da solução foi ajustado diariamente ($4,5 \pm 0,1$) com uma solução de HCl ou NaOH (1M).

Determinação da concentração de Cd em raízes e parte aérea

No final do experimento, aos quatorze dias de exposição aos tratamentos, as amostras (raízes e parte aérea) foram separadas e lavadas com água deionizada por duas vezes e após secas em estufa a 60°C até atingir a massa constante. Os tecidos secos foram pesados e moídos até se transformarem em um pó fino. Após isso, as decomposições foram feitas em bloco digestor (Tecnal TE-007D) munido de tubos de vidro (20 mm de diâmetro interno e 300 mm de comprimento) e controle de temperatura (Obs.: os frascos de decomposição foram previamente descontaminados com 20 mL de ácido nítrico de alta pureza, sob aquecimento durante 2h a 130°C).

Para tal, foram pesadas cerca de 500 mg de amostra e adicionados 20 mL de ácido nítrico concentrado (o ácido é de alta pureza, obtido a partir da destilação (duas vezes destilado) à baixa temperatura, feita em destilador de quartzo do tipo “subboiling”) e a mistura deixada em repouso por 2 horas. A mistura foi posteriormente submetida a 130°C durante 3 horas. Após o arrefecimento da solução, esta foi transferida para frasco de polipropileno (50 mL) e aferida a 25 mL com água de alta pureza (18,2 M Ω cm, obtida após destilação, deionização e purificação em sistema Mill-Q). Para a determinação de Cd nas raízes, as soluções obtidas após tratamento com ácido nítrico foram diluídas 1500 vezes (em frasco de polipropileno de 15 mL, descontaminado com ácido nítrico) com água de alta pureza. E para determinação nas folhas, as soluções obtidas após tratamento com ácido nítrico foram diluídas 10 e 20 vezes (em frasco de polipropileno de 15 mL, descontaminado com ácido nítrico), com água de alta pureza.

As determinações de Cd foram feitas por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) empregando um instrumento da

PerkinELmerSciexElan DRC II, munido com nebulizador pneumático (Meinhard tipo A), câmara de nebulização ciclônica e tocha com tubo injetor de quartzo de 2,0 mm de diâmetro interno. O plasma foi gerado a partir de argônio (99,998% de pureza, White Martins). O instrumento foi ajustado de acordo com as indicações do fabricante.

Parâmetros bioquímicos

Conteúdo de pigmentos (clorofilas *a*, *b* e carotenóides)

Amostras de folhas em forma de disco (6 mm) foram retiradas utilizando um furador de papel comum. Imediatamente, as amostras foram colocadas em tubos de reação (eppendorff) e congeladas em nitrogênio líquido para serem analisadas posteriormente. As clorofilas *a* e *b* e os carotenóides foram extraídos segundo o método de Hiscox; Israelstan (1979) e estimados usando a equação de Lichtenthaler (1987). Amostras das folhas (0,05 g) foram incubadas à 65°C com dimetilsulfóxido (DMSO), até ocorrer a extração completa dos pigmentos. As absorvâncias da solução foram medidas em espectrofotômetro a 663, 645 e 470 nm para clorofila *a*, clorofila *b* e carotenóides, respectivamente.

Determinação da peroxidação lipídica

A peroxidação lipídica foi estimada seguindo 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 4,0 mL de tampão citrato de sódio (pH 6,5) contendo 0,5% de Triton X-100. O homogeneizado foi centrifugado a 20.000 x g por 15 min a 4°C. 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 x g por 15 minutos. A absorvância 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.

Determinação do conteúdo de peróxido de hidrogênio

O conteúdo de peróxido de hidrogênio foi determinado de acordo com Loreto; Velikova (2001), sendo que 0,1 g de raízes e parte aérea foram homogeneizadas em 2,0 mL de 0,1% de ácido tricloroacético (TCA) (w/v). Após, o homogeneizado foi centrifugado a 12.000x 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 H₂O₂ do sobrenadante foi avaliada comparando suas absorvâncias a 390 nm com uma curva padrão de calibração. A concentração de H₂O₂ foi expressa como $\mu\text{mol g}^{-1}$ peso fresco.

Determinação da atividade de enzimas antioxidantes

Amostras de folhas e raízes maceradas em nitrogênio líquido foram utilizadas para as análises enzimáticas. As amostras (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). Após, o homogeneizado foi centrifugado a 13.000 x g por 20 min. a 4°C e o sobrenadante foi utilizado para a determinação da atividade das enzimas conforme ZHU et al. (2004).

A atividade da enzima guaiacol peroxidase 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 $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$.

A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi determinada de acordo com Giannopolitis; Ries (1977, onde a mistura de reação continha tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,8), metionina 13 mM, riboflavina 2 μM , tetrazólio nitroazul (NBT) 75 μM , EDTA 0,1 mM, e 100 μL de extrato enzimático. A produção fotoquímica da formazana azul a partir do NBT foi quantificada através da absorvância de 560 nm. A reação foi realizada em tubos de ensaio, dentro de uma câmara de reação sob iluminação de uma lâmpada fluorescente de 15 W e

temperatura de 25°C, por 15 minutos. Como controle, tubos com a mistura de reação foram mantidos no escuro. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima que inibe a fotorredução do NBT em 50% (BEAUCHAMP; FRIDOVICH, 1971). No ensaio, a riboflavina fotoquimicamente excitada é reduzida pela metionina em semiquinona, que doa um elétron ao oxigênio, formando o radical superóxido que por sua vez converte NBT em formazana azul. A superóxido dismutase catalisa a reação: $2O_2^{\cdot -} + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$.

Análise estatística

Para a análise estatística dos dados foi verificada a normalidade da distribuição dos erros através do teste de Anderson-Darling e homogeneidade das variâncias dos erros através do teste de Bartlett (ESTATCAMP, 2012) para todas as variáveis do experimento. Os dados foram submetidos à análise de variância em delineamento inteiramente casualizado e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott (1974), com 5% de probabilidade de erro e utilizando os aplicativos Sisvar (FERREIRA, 2011) e SigmaPlot.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

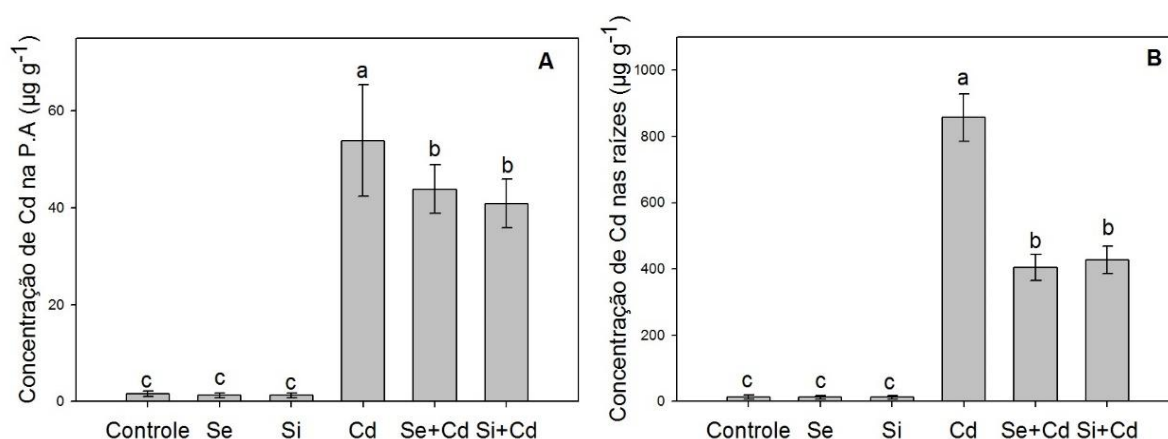
Determinação da concentração de cádmio em raízes e parte aérea

Os níveis de Cd nas raízes e na parte aérea foram maiores nas plantas que continha somente Cd (Figura 1). Os maiores níveis de Cd foram observados nas raízes das plantas, sendo aproximadamente 15 vezes maior que os observados na parte aérea. Essa resposta deve-se possivelmente a retenção do Cd nas raízes devido ao acúmulo ocorrer principalmente no vacúolo ou na parede celular do sistema radicular, sendo assim mais baixo o nível de transporte deste para a parte aérea (MILNER; KOCHIAN, 2008).

De acordo com Grant et al. (1998) o maior acúmulo de Cd nas raízes parece ser resultado da ligação do Cd às cargas negativas das paredes celulares do sistema radicular em detrimento de uma maior absorção, e posterior transferência para a parte aérea. Através destes resultados pode-se mostrar que o metal é pouco móvel

na planta, dada a diferença expressiva do Cd encontrada nos dois compartimentos da planta. Salt et al. (1995) relatam que plantas de *Brassica juncea* e *Alpine pennycress* expostas ao Cd em solução nutritiva acumularam quantidades substanciais de Cd nas raízes e parte aérea, sendo que o maior acúmulo do metal ocorreu nas raízes.

Figura 1– Acúmulo de Cd na parte aérea (A) e em raízes (B) de plantas de *Pfaffia glomerata* expostas ao Se ou Si (2,5 mM) e ao Cd (50 μ M) no meio de crescimento.



Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Scott-Knott.

Fonte: Autor.

A adição de Se e Si reduziu a concentração de Cd tanto nas raízes quanto na parte aérea. Essa redução foi mais evidente nas raízes, com redução de cerca de 53 e 50% (respectivamente para Se e Si), comparado com o tratamento onde somente o Cd estava presente. O possível mecanismo para a inibição do transporte do Cd pela planta induzida pelo Si pode estar relacionado a três aspectos: (1) A deposição de Si na lignina da parede celular promove uma maior ligação de íons metálicos a parede celular, assim reduzindo a translocação desse metal da raiz para a parte aérea. De acordo com Ma; Yamaji (2008), para o Si há evidências de que ele pode reduzir o fluxo apoplástico e a absorção de metais tóxicos pelas plantas por meio da deposição de Si nas raízes; (2) a formação de complexos ou co-precipitação de metais tóxicos com o Si dentro da planta. Esses complexos são translocados para os vacúolos e acumulados em formas ainda desconhecidas (NEUMANN; ZUR NIEDEN, 2001); (3) o Si pode reduzir a porosidade da parede celular da endoderme restringindo o transporte apoplástico do Cd. A adição de Si reduz a concentração de Cd no

simplasto de células da raiz através da redução da quantidade de Cd que é mais móvel na parede celular assim amenizando a toxicidade do Cd no citoplasma (da CUNHA; NASCIMENTO, 2009; YE et al., 2012).

A redução na concentração de Cd pela adição de Se pode ter ocorrido devido a competição pelo mesmo transportador. O Se é co-transportado com os íons de Cd pelo mesmo transportador, o que resulta numa diminuição da quantidade de íons de Cd nos sítios ativos do transportador transmembrana (ZEMBALA et al., 2010). Tanto o Cd quanto o Se se ligam aos grupos tióis da cisteína, um aminoácido presente em certas proteínas. Assim, a competição por sítios específicos de ligação nas proteínas pode explicar a redução da absorção de Cd e o efeito protetivo do Se contra a toxicidade do Cd (LIN et al., 2012). Foi comprovado que em arroz e mudas de tabaco o Se também foi capaz de reduzir o acúmulo de Cd devido a uma diminuição na sua absorção (LIN et al., 2012, LIU et al., 2015).

A redução acentuada da acumulação de Cd em raízes de *P. glomerata* através da adição de Se e Si se torna muito relevante principalmente por essa planta ser medicinal e a principal parte utilizada comercialmente ser a raiz.

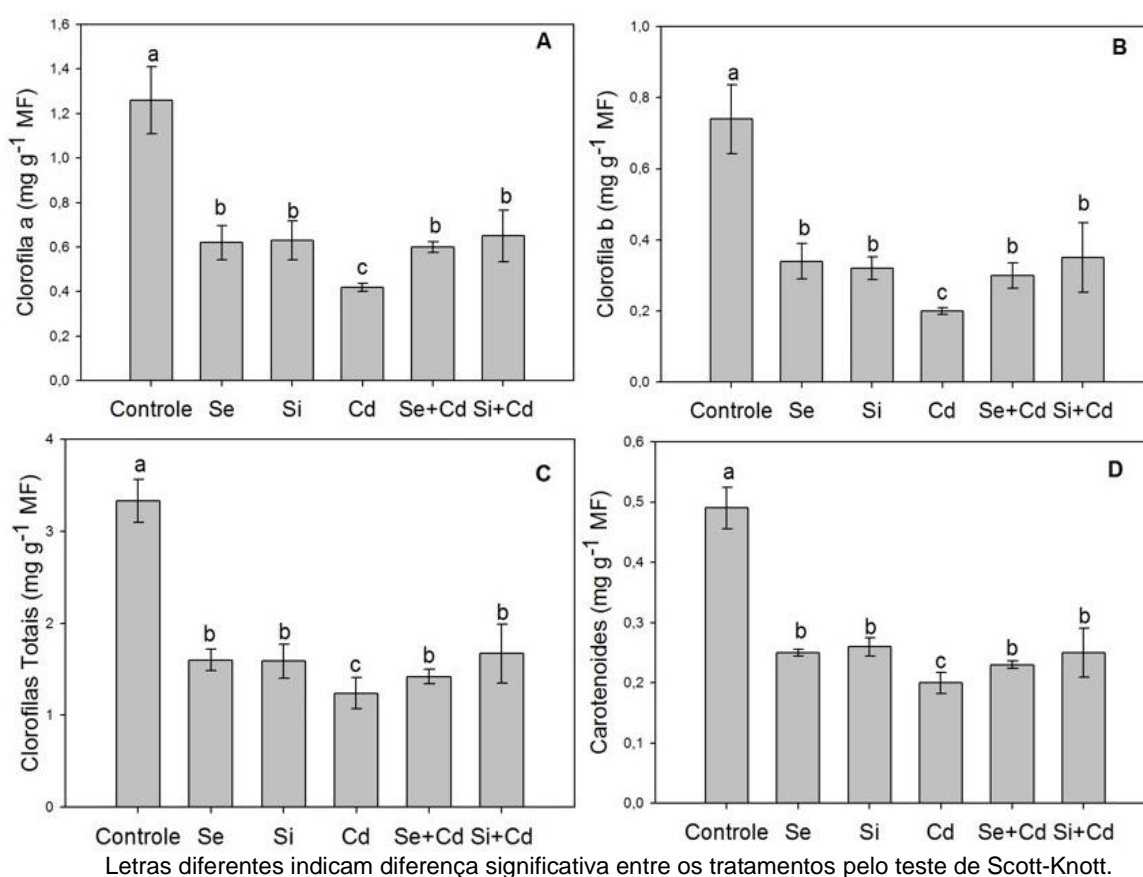
Conteúdo de pigmentos (clorofilas a, b, totais e carotenóides)

O maior conteúdo de pigmentos fotossintéticos foi observado no tratamento controle, no entanto, para os demais tratamentos houve redução no conteúdo destes pigmentos, principalmente para o grupo contendo apenas Cd (Figura 2). O decréscimo no conteúdo de clorofila associado com o estresse ocasionado pelo Cd pode ser resultado da inibição de enzimas responsáveis pela biossíntese de clorofila (QIAN et al., 2009). As plantas tratadas com Cd conjuntamente com Se e Si apresentaram uma maior concentração de pigmentos do que as plantas tratadas somente com Cd, mostrando assim uma redução dos efeitos negativos ocasionados pelo Cd (Figura 2).

Resultados semelhantes relacionados aos efeitos negativos do Cd sobre o conteúdo de pigmentos também foram observados em plantas de morango (*Fragaria x ananassa* DUCH) (MURADOGLU et al., 2015), em plantas de pimenta-de-água (*Potamogeton crispus*) (YANG et al., 2011) e em plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.) (IDREES et al., 2015). Já em relação aos efeitos benéficos do Se e Si em plantas cultivadas com excesso de Cd, assim como observado no presente experimento,

Mohsenzadeh et al. (2012) observaram que a adição de 50, 100 e 150 mM de Si durante o cultivo de plantas de milho (*Zea mays*) promoveu um incremento significativo no conteúdo total de clorofilas e de carotenóides, e Pedrero et al. (2008) observaram que o Se promoveu um notável aumento da concentração de clorofila para as plantas de couve (*Brassica oleracea*) cultivadas com Cd.

Figura 2 – Conteúdo de clorofilas *a* (A), clorofilas *b* (B), clorofilas totais (C) e carotenóides (D), de plantas de *Pfaffia glomerata* expostas ao Cd (50 μ M), na presença de Se ou Si (2,5mM) no meio de crescimento.



Fonte: Autor.

Este incremento no conteúdo dos pigmentos das plantas cultivadas sob o tratamento Cd + Se ocorreu possivelmente devido ao Se ser capaz de aliviar o estresse oxidativo induzido pelo Cd nos cloroplastos, principalmente, através da eliminação de espécies reativas de oxigênio, que podem diminuir o conteúdo de clorofilas (THOMAS et al., 2001; DJANAGUIRAM et al., 2010). O mesmo incremento pode ser observado no tratamento Cd + Si, o qual pode ser explicado pelo efeito do Si em aumentar a rigidez das células epidérmicas (ADATIA; BESFORD, 1986),

umentando a lignificação, formando uma barreira mecânica (MEHARG et al., 2015), diminuindo a entrada de Cd, levando a menos danos aos pigmentos.

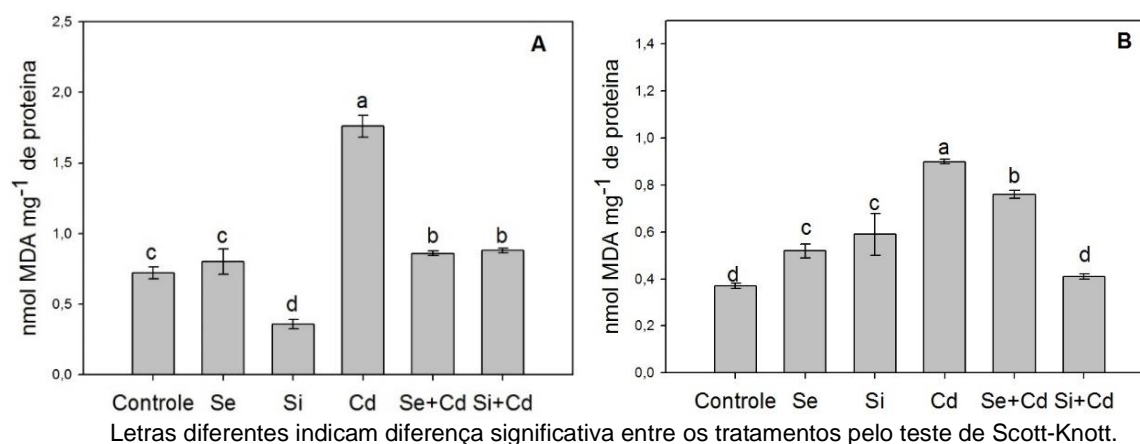
Determinação da peroxidação lipídica

Os radicais livres gerados em excesso, provocados pelo cultivo de plantas em solos contaminados por Cd, acumulam-se nas células e isso leva a peroxidação lipídica das biomembranas. O produto final desse processo é o malondialdeído (MDA) que é utilizado como indicador do índice de peroxidação lipídica (ZORNOZA et al., 2002; LEE et al., 2007; MURADOGLU et al., 2015). No presente experimento, o maior conteúdo de MDA na parte aérea e nas raízes foi observado nas plantas cultivadas com Cd, sendo maior na parte aérea (Figura 3). As plantas mantidas em solução contendo Cd e Se também apresentaram elevadas concentrações de MDA em ambas as partes (Figura 3). O Si teve um efeito amenizador mais significativo que o Se para os conteúdos de MDA.

Na parte aérea houve menor concentração de MDA para as plantas cultivadas apenas com Si, comparadas com o tratamento controle. Já em relação às raízes, a menor concentração foi observada para o tratamento controle e para o tratamento contendo Si e Cd (Figura 3). Muradoglu et al. (2015) também observaram um aumento significativo na produção de MDA em plantas de morango (*Fragaria x ananassa*) cultivadas com Cd. Os mesmos ainda observaram maior conteúdo de MDA na parte aérea das plantas, como também foi observado no presente experimento (Figura 3A). Um aumento na concentração de MDA em plantas de *P. glomerata* também foi observado por Marques; Soares (2011) com o aumento do conteúdo de Cd (0, 15, 25, 45 e 90 mmol Cd L⁻¹) e dos períodos de exposição, sendo o efeito máximo observado após 20 dias de cultivo para as folhas (170%), e 12 dias de cultivo para as raízes (154%), ambos em 90 mmol L⁻¹ de Cd. O Cd parece não gerar radicais livres diretamente, mas pode elevar a peroxidação lipídica contribuindo para o processo de danos celulares (GRATÃO et al., 2006). Neste contexto, o Si pode estar agindo de forma mais expressiva no alívio da fitotoxidez conferida pelo Cd, pois sabe-se que o Si estimula a atividade antioxidante (GONG et al., 2005). O MDA pode indicar que a exposição ao Cd provoca danos oxidativos e o Se tem um potencial para aliviar tais efeitos adversos, baixando os

níveis de MDA e aumentando a proporção de insaturação dos ácidos graxos (FILEK et al., 2008; PEDRERO et al., 2008; ZEMBALA et al., 2010; BARRIENTOS et al., 2012). Por outro lado, o próprio Se parece exercer efeitos fitotóxicos semelhantes ao Cd, especialmente quando presente em concentrações mais elevadas (KHATTAB, 2004; BARRIENTOS et al., 2012).

Figura 3 – Efeito do selênio ou silício (2,5 mM) sobre o conteúdo de malondialdeído (MDA) de parte aérea (A) e raízes (B) de plantas de *Pfaffia glomerata* expostas ao cádmio (50 μ M).



Fonte: Autor.

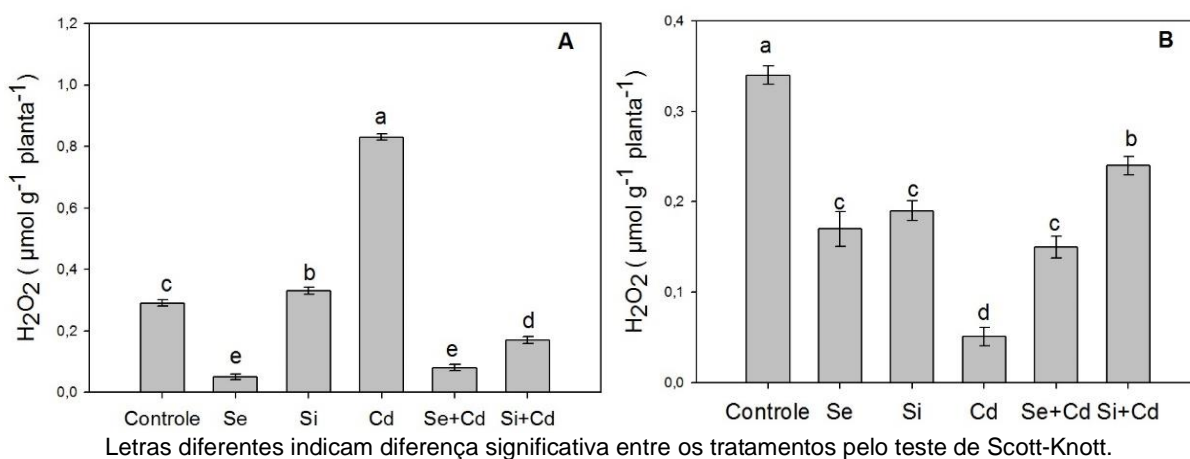
Determinação do conteúdo de peróxido de hidrogênio

A maior concentração de H_2O_2 foi observada na parte aérea das plantas cultivadas somente com Cd, no entanto nas raízes houve uma resposta oposta, e esse foi o tratamento com menor concentração de H_2O_2 (Figura 4). Na parte aérea das plantas cultivadas com Se foram observadas as menores concentrações de H_2O_2 , já nas raízes a maior concentração foi observada para o tratamento controle (Figura 4). No experimento de Thiruvengadam; Chung (2015) com *Brassica rapa*, os autores mostraram que os níveis de H_2O_2 foram significativamente aumentados com a presença de Cd. Cho; Seo (2004) relataram que o estresse oxidativo induzido por Cd em *Arabidopsis thaliana* é devido principalmente ao acúmulo de H_2O_2 . O estresse em plantas cultivadas com Cd apresenta um maior estresse oxidativo, sendo que o conteúdo de H_2O_2 chega a ser cerca de 2 a 3 vezes maiores em comparação com a planta controle (KHAN et al., 2015).

O Se mostrou-se eficaz na redução do estresse oxidativo ocasionado pelo Cd. O Se aumenta o metabolismo de prolina e alivia o estresse oxidativo induzido pelo Cd (KHAN et al., 2015). O acúmulo de prolina é uma estratégia de adaptação das plantas ao ambiente de tensão que mantém o equilíbrio osmótico, elimina o excesso de radicais livres, estabiliza a estrutura da membrana celular (KAVI-KISHOR et al., 2005), regula o potencial redox celular (ASHRAF; FOOLAD, 2007) e sustenta transporte de elétrons no PSII (HAMILTON; HECKATHORN, 2001).

A amenização do estresse induzido por metais pelo Si pode ser correlacionada com uma diminuição na absorção de Cd e alteração da distribuição subcelular de Cd (FAROOQ et al., 2013; ZHANG et al., 2014.). Além disso, tem sido relatado que o suplemento de Si estimula sistemas antioxidantes em plantas e promove a complexação ou co-precipitação de metais com Si (NEUMANN; ZUR NIEDEN, 2001), o que pode ser parcialmente responsável pelo efeito do Si em aliviar estresse por metais pesados (TANG et al., 2015).

Figura 4 – Conteúdo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) na parte aérea (A) e nas raízes (B), de plantas de *Pfaffia glomerata* expostas ao cádmio ($50 \mu M$), na presença de Se ou Si ($2,5 \text{ mM}$) no meio de crescimento.



Fonte: Autor.

Durante o estresse ocasionado por metais pesados, formas intermediárias de oxigênio (H_2O_2 , hidroxila e radicais superóxido) são formadas. Essas moléculas são muito reativas, no entanto, podem ser removidas por meio da indução da atividade de enzimas como peroxidases (POD) e superóxido dismutase (SOD) (ELSTNER et

al., 1988). O Cd aumenta os níveis de peroxidação lipídica e conseqüentemente aumenta a concentração de H_2O_2 em tecidos de raízes e folhas (DIXIT et al., 2001).

Nas raízes podemos observar que o conteúdo de H_2O_2 , no tratamento contendo somente Cd, foi menor do que na parte aérea (Figura 4). Essa menor concentração provavelmente esteja relacionada com atividades de outras peroxidases, uma vez que foi observada também uma inibição das enzimas SOD e POD. Assim, outras peroxidases podem estar agindo, promovendo uma redução do H_2O_2 nas plantas expostas ao tratamento contendo apenas Cd.

Determinação da atividade de enzimas antioxidantes

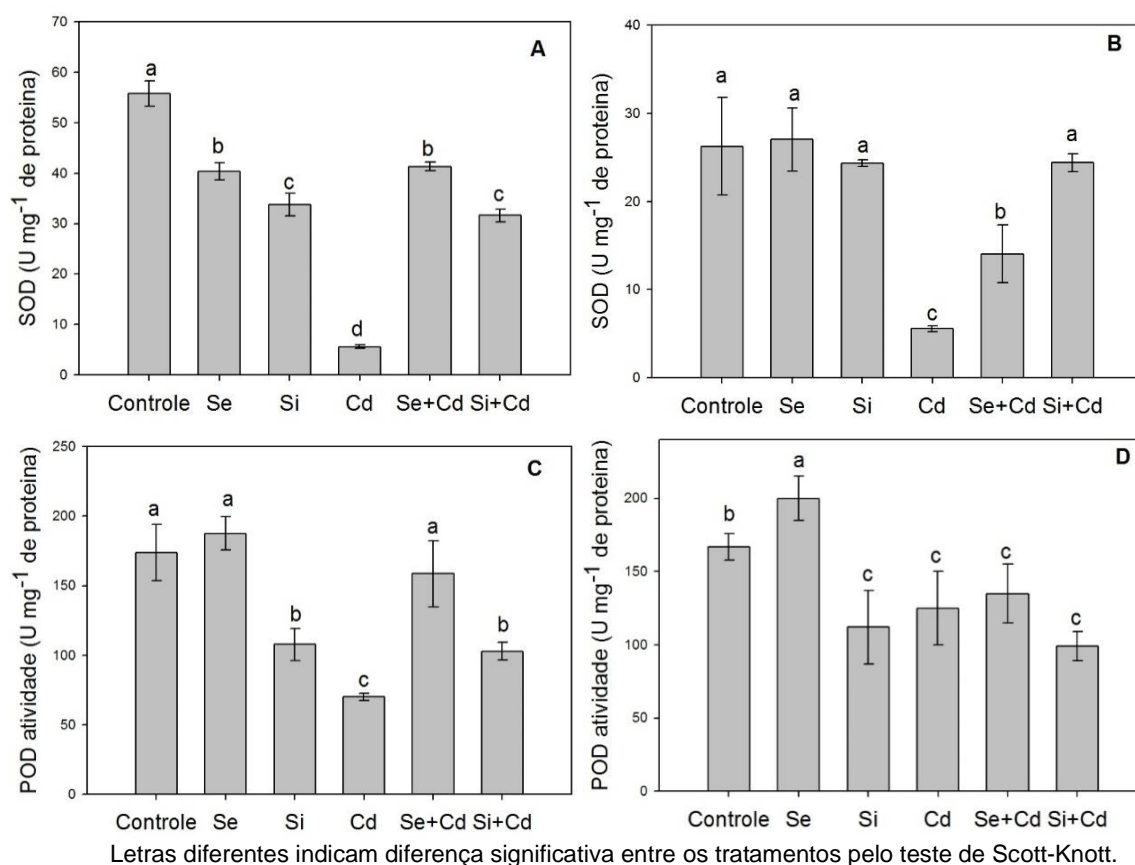
Estresses abióticos podem levar a danos moleculares nas células vegetais devido a geração de espécies reativas de oxigênio (EROS). O Cd é um metal não-redox, e portanto não pode produzir EROs diretamente. No entanto, ele pode interferir no sistema antioxidante das plantas (BENAVIDES et al., 2005). Para eliminar as EROS, que podem promover danos oxidativos, as plantas possuem várias enzimas antioxidantes. Dentre essas enzimas, a superóxido dismutase (SOD) é a primeira envolvida no processo de desintoxicação, pois converte os radicais superóxido à H_2O_2 (peróxido de hidrogênio) em uma taxa muito rápida (GRATÃO et al., 2005). Outra enzima antioxidante é a guaiacol peroxidase (POD) que combate os radicais livres principalmente na parede celular (POLIDOROS; SCANDALIOS, 1999). Assim, o aumento no nível dessas enzimas antioxidantes em plantas pode evitar lesões oxidativas e melhorar a tolerância ao estresse oxidativo (EKMEKC et al., 2008).

A atividade da enzima SOD foi reduzida nas plantas cultivadas com Cd tanto na parte aérea quanto nas raízes (Figura 5A e 5B). Essa resposta aconteceu provavelmente porque o Cd induz a produção de lipoxigenase, e assim acontece a inibição das enzimas antioxidantes SOD e CAT (SOMASHEKARAIH et al., 1992). Geralmente, em tratamentos contendo Cd são relatadas reduções na atividade da SOD em espécies não-acumuladoras como girassol (GALLEGO et al., 1996) e ervilha (SANDALIO et al., 2001) e aumento na atividade da SOD em espécies acumuladoras como a mostarda (MOBIN; KLAN, 2007). No entanto, com a presença de Se e Si juntamente com o Cd houve um aumento na atividade da enzima SOD em ambas as partes das plantas (Figura 5A e 5B), sendo que para o tratamento contendo Cd+Si a

atividade da SOD na raiz foi semelhante ao observado para o tratamento controle (Figura 5B). Assim, é possível afirmar que a presença de Se e Si foi benéfica na redução da toxidez do Cd, já que houve um estímulo na atividade da SOD. A maior atividade da enzima foi observada na parte aérea das plantas e a menor nas raízes (Figura 5A e 5B).

O Se tem capacidade de aumentar a atividade de enzimas antioxidantes que fazem parte de mecanismos de proteção, os quais podem aliviar o estresse oxidativo (CHOU et al., 2012; LIU et al., 2015). A carga negativa de complexos de Si na parede celular pode conduzir à ligação de Cd e, desse modo, inibir o transporte do mesmo no apoplasto e no xilema de plantas (LIU et al., 2013; MA et al., 2015).

Figura 5 – Efeito do selênio ou do silício (2,5 mM) sobre as atividades das enzimas Superóxido Dismutase (SOD) e Guaiacol Peroxidase (POD) na parte aérea (A) e nas raízes (B) de plantas de *Pfaffia glomerata* expostas ao cádmio (50 μ M).



Fonte: Autor.

No presente experimento, na parte aérea das plantas a atividade da enzima POD foi maior no tratamento controle e menor para o tratamento contendo apenas Cd (Figura 5C e 5D); já nas raízes a atividade da POD foi semelhante ao tratamento

controle (Figura 5D). As plantas cultivadas com Se apresentaram maior atividade da enzima POD em comparação com as plantas cultivadas com Si. Essa resposta foi observada tanto para a parte aérea quanto para as raízes das plantas (Figura 5C e 5D). Assim como para SOD, a presença de Se e Si foi benéfica na redução da toxidez do Cd, principalmente na parte aérea das plantas. O Se pode aumentar a atividade de enzimas antioxidantes e proteger as células e os tecidos contra o dano oxidativo causado pelo estresse (LIU, et al. 2015). A maior atividade de enzimas antioxidantes em plantas tratadas com Si parece criar condições de tolerância a este tipo de estresse (REHMAN et al., 2016), garantindo a preservação da parede celular (ALI et al., 2016). Assim, com uma menor concentração de Cd, conseqüentemente haverá redução dos efeitos maléficis do elemento.

Van Assche; Clijsters (1988) afirmaram que o aumento da atividade da POD em plantas está possivelmente correlacionado com os níveis de Cd nos tecidos e com o grau de inibição do crescimento. Ekmekc et al. (2008) observaram um aumento gradativo na atividade da POD em duas cultivares de milho submetidas à concentrações crescentes de Cd (0, 0,3, 0,6, 0,9 mM) durante 8 dias. No entanto, uma diminuição acentuada na atividade da enzima foi observada para a cultivar sensível no nível mais elevado de Cd, enquanto que para a cultivar tolerante a atividade da enzima permaneceu crescente. No presente experimento foi observado inibição na atividade da POD na parte aérea das plantas cultivadas com Cd (Figura 5C).

A ação combinada da SOD e POD é fundamental para atenuar os efeitos do estresse oxidativo ocasionado pelo Cd, uma vez que seus papéis no metabolismo celular são complementares (BENAVIDES et al., 2005). Hashen et al. (2014) observaram no entanto, o oposto em plantas de soja, onde todas as concentrações de Cd promoveram um aumento significativo da atividade das enzimas SOD e POD em comparação com o tratamento testemunha, havendo somente redução em suas atividades para os níveis mais elevados, em comparação com níveis intermediários de Cd.

A redução na atividade das enzimas POD e SOD observadas no presente experimento indica que provavelmente a toxicidade do Cd promoveu danos às plantas, e por isso a redução na atividade de ambas. A redução da atividade das enzimas POD e SOD (Figura 5) mostra que as enzimas não estão conseguindo remover o H₂O₂, já que sua concentração é bastante elevada, mostrando assim que

o Cd pode ter gerado danos sobre o sistema antioxidante das plantas, o que afetou a resposta dessas enzimas.

CONCLUSÃO

O Si e o Se se mostram eficientes na amenização dos efeitos tóxicos do Cd. Sua eficiência se mostra pela redução nos níveis de Cd nos tecidos, bem como pela redução do acúmulo de MDA. Porém, cada um destes elementos age em estratégias diferentes, sendo que o Si pode reduzir a biodisponibilidade do Cd, auxiliando na compartimentalização deste e evitando danos aos tecidos. Já o Se, pode atuar na ativação dos sistemas antioxidantes, principalmente na enzima POD.

Os dados deste experimento podem ser base para futuras investigações sobre uma ação conjunta destes elementos em plantas, o que poderia ser uma alternativa eficaz na redução de estresses causado por elementos tóxicos.

REFERÊNCIAS

- ADATIA, M.H.; BESFORD, R.T. The effects of silicon on cucumber plants grown in recirculating nutrient solution. **Oxford Journals-Science & Mathematics -Annals of Botany**, v.58, n.3, p.343-351, 1986.
- ALI, I. et al. Toxicological effects of bisphenol A on growth and antioxidant defense system in *Oryza sativa* as revealed by ultrastructure analysis. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.124, n.8, p.277–284, 2016.
- ASHRAF, M.; FOOLAD, M.R. Roles of glycinebetaine and proline in improving plant abiotic stress tolerance. **Environmental and Experimental Botany**, v.59, n.4, p.206–16, 2007.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). **Toxicological Profile for Cadmium**. U.S. Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, GA. 2008. Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp5.pdf>>. Acesso em: 18/04/2016.
- AZEVEDO, R. A. et al. What is new in the research on cadmium-induced stress in plants? **Food Energy Security**, v.1, n.2, p.133-140, Nov. 2012.
- BARRIENTOS, E. Y. et al. Impact of Cadmium and Selenium Exposure on Trace Elements, Fatty Acids and Oxidative stress in *Lepidium sativum*. **Journal of the Mexican Chemical Society**, v.56, n.1, p.3-9, 2012.
- BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Anal Biochemistry**, v.8, n.44, p.276–287, 1971. Available in: <<http://www.researchgate.net/publication/18224457>>. Accessed in: Jul. 2014. doi: 10.1016/0003-2697(71)90370-8.
- BENAVIDES, M. P.; GALLEGOS, S. M.; TOMARO, M. L. Cadmium toxicity in plants. **Journal of Plant Physiology**, v.17, n.1, p.21-34, 2005.
- CHO, U.; SEO, N. Oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation, **Plant Science**, v.168, n.9, p.113-120, 2004.
- CHOU, T.; CHAO, Y.; KAO, C.H. Involvement of hydrogen peroxide in heat shock and cadmium induced expression of ascorbate peroxidase and glutathione reductase in leaves of rice seedlings. **Journal of Plant Physiology**, v.169, n.4, p.478–486, 2012.
- CUYPERS, A. et al. The cellular redox state as a modulator in cadmium and copper responses in *Arabidopsis thaliana* seedlings. **Journal of Plant Physiology**, v.168, n.4, p.309-316, 2011.
- da CUNHA, K.P.V.; do NASCIMENTO, C.W.A. Silicon effects on metal tolerance and structural changes in maize (*Zea mays* L.) grown on a cadmium and zinc enriched soil. **Water Air Soil Pollution**, v.197, n.5, p.323–330, 2009.

DJANAGUIRAMAN, M.; PRASAD, P.V.V.; SEPPANEN, M. Selenium protects sorghum leaves from oxidative damage under high temperature stress by enhancing antioxidant defense system. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.48, n.9, p.999–1007, 2010.

DIXIT, V.; PANDEY, V.; SHYAM, R. Differential oxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad). **Journal of Experimental Botany**, v.52, n.2, p.1101-1109, 2001.

EKMEKÇI, Y.; TANYOLAÇ, D.; AYHAN, B. Effects of cadmium on antioxidant enzyme and photosynthetic activities in leaves of two maize cultivars. **Journal of Plant Physiology**, v.165, n.11, p.600–611, 2008.

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 of Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.43, n.15, p.109-119, 1993.

ELSTNER, E. F.; WAGNER, G. A.; SCHUTZ, W. Activated oxygen in green plants in relation to stress situations. **Curr. Top. Plant Physiology and Biochemistry**, v.7, n.11, p.159-189, 1988.

ESTATCAMP. Portal Action. Disponível em: <http://www.portalaction.com.br>. Acesso em: 21 ago. 2015.

FAROOQ, M.A. et al. Alleviation of cadmium toxicity by silicon is related to elevated photosynthesis, antioxidant enzymes, suppressed cadmium uptake and oxidative stress in cotton. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.96, n.3, p.242–249, 2013.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011.

FILEK, M. et al. The protective role of selenium in rape seedlings subjected to cadmium stress. **Journal of Plant Physiology**, v.165, n.8, p.833-844, 2008.

GALLEGO, S.M.; BENAVIDES, M.P.; TOMARO, M.L. Effect of heavy metal ion excess on sunflower leaves: evidence for involvement of oxidative stress. **Plant Science**, v.121, n.1, p.151-159, 1996.

GALLEGO, S. M. et al. Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: insight into regulatory mechanisms. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 83, n.8, p.33-46, Nov. 2012.

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.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v.48, n.12, p.909-930, 2010.

GONG, H. et al. Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in pots under drought. **Plant Science**, v.169, n.2, p.313–321, 2005.

GRANT, C.A. et al. Cadmium accumulation in crops. **Canadian Journal of Plant Science**, v.78, n.1, p.1-17, 1998.

GRATÃO, P.L.; POLLE A, L. P.J.; AZEVEDO, R.A. Making the life of heavy metal stressed plants a little easier. **Plant Biology**, v.32, n.4, p.481-494, 2005.

GRATÃO, P.L. et al. Plant antioxidant responses to toxic elements. **Current Topics in Biochemical Research**, v. 8, n. 6, p. 40-70, 2006.

HAMILTON, E.W.; HECKATHORN, S.A. Mitochondrial adaptations to NaCl. Complex I is protected by antioxidants and small heat shock proteins, whereas complex II is protected by proline and betaine. **Plant Physiology**, v.126, n. 6, p.1266–74, 2001.

HE, J. et al. Net cadmium flux and accumulation reveal tissue-specific oxidative stress and detoxification in *Populus x canescens*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.143, n.1, p.50-63, 2011.

HISCOX, J.D.; ISRAELSTAM, G.F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Can. Journal of Botany**, v.57, n.4, p.1132-1334, 1979.

IDREES, et al. Avaliação de cádmio em trigo (*Triticuma estivum L.*) em um meio hidropônico. **Agrociencia**, v.49, n.8, p.917-929, 2015.

KAVI-KISHOR P.B. et al. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. **Current Science**, v.88, n.9, p.424–38, 2005.

KHAN, M.I.R, et al. Selenium and sulfur influence ethylene formation and alleviate cadmium induced oxidative stress by improving proline and glutathione production in wheat. **Journal of Plant Physiology**, v.173, n.4, p.9–18, 2015.

KHATTAB, H. Metabolic and oxidative responses associated with exposure of *Eruca sativa* (rocket) plants to different levels of selenium. **International Journal of Agricultural and Biological Engineering**, v.6, n.3, p.1101–1106, 2004.

LEE S-H. et al. Simultaneous overexpression of both Cu Zn superoxide dismutase and ascorbate peroxidase in transgenic tall fescue plants confers increased tolerance to a wide range of abiotic stresses. **Journal of Plant Physiology in press**, v. 164, n.12, p.1626-1638, 2007.

LICHTENTHALER, H.K. Chlorophylls and carotenoids pigments of photosynthetic Bio membranes. **Methods in Enzymology**, v.148, n.10, p.350-382, 1987.

LIN, L. et al. Selenium reduces cadmium uptake and mitigates cadmium toxicity in rice. **Journal of Hazardous Materials**, v.235, n.236, p.343–351, 2012.

LIU, J. et al. Inhibition of cadmium ion uptake in rice (*Oryza sativa*) cells by a wall-bound form of silicon. **New Phytologist**, v.200, n.22, p.691–699, 2013.

LIU, W.X et al. Modulation of exogenous selenium in cadmium-induced changes in antioxidative metabolism, cadmium uptake, and photosynthetic performance in the 2 tobacco genotypes differing in cadmium tolerance. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.34, n.1, p.92–99, 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.

MA, J.F. Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v.50, n.16, p.11–18, 2004.

MA, J.F.; YAMAJI, N. Functions and transport of silicon in plants. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v.65, n.6, p.3049–3057, 2008.

MA, J.F. et al. A hemicellulose-bound form of silicon inhibits cadmium ion uptake in rice (*Oryza sativa*) cells. **New Phytologist**, v.206, n.5, p.1063–1074, 2015.

MAGALHAES, P.M. **Agrotecnologia para el cultivo de fáfia o ginseng brasileiro**. In: Fundamentos de agrotecnologia de cultivo de plantas medicinales ibero americanas. Bogota: CYTED, p.323–332. 2000.

MARQUES, T.C.L.L.S.M.; SOARES, A.M. Antioxidant system of ginseng under stress by cadmium. **Scientia Agricola**, v.68, n.4, p.482–488. 2011.

MEHARG, C.; MEHARG, A. A. Silicon, the silver bullet for mitigating biotic and abiotic stress, and improving grain quality, in rice? **Environmental and Experimental Botany**, v.120, n. 6, p.8–17, 2015.

MENDES, F.R.; CARLINI, E.A. Brazilian plants as possible adaptogens: an ethnopharmacological survey of books edited in Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v.109, n.4, p.493–500, 2007.

MILNER, M.J.; KOCHIAN, L.V. Investigating heavy metal hyperaccumulation using *Thlaspi Caerulescens* as a model system. **Annals of Botany**, v.102, n.1, p.3–13, 2008.

MOBIN, M.; KHAN, N.A. Photosynthetic activity, pigment composition and antioxidative response of two mustard (*Brassica juncea*) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. **Journal of Plant Physiology**, v.164, n.7, p.601–610, 2007.

MOHSENZADEH, S.; SHAHRTASH, M.; da SILVA, J.A.T. Silicon improves growth and alleviates toxicity of cadmium in Maize Seedlings. **Plant Stress**, v. 6, n.1, p. 39-43, 2012.

MURADOGLU, F. et al. Cadmium toxicity affects chlorophyll a and b content, antioxidant enzyme activities and mineral nutrient accumulation in strawberry. **Biological Research**, v.48, n.8, p.11-15 2015. DOI 10.1186/s40659-015-0001-3.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, n.15, p.473-497, 1962.

NEUMANN, D.; ZUR NIEDEN, U. Silicon and heavy metal tolerance of higher plants. **Phytochemistry**, v. 56, n. 1 p.685–692, 2001.

PEDRERO, Z. et al. Protective effect of selenium in broccoli (*Brassica oleracea*) plants subjected to cadmium exposure. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, n.1, p.266–271, 2008.

POLIDOROS, A. N.; SCANDALIOS, J.G. Role of hydrogen peroxide and different classes of antioxidants in the regulation of catalase and glutathione S-transferase gene expression in maize (*Zea mays* L.). **Physiologia Plantarum**, v.106, n.10, p.112-120, 1999.

QIAN, H. et al. Combined effect of copper and cadmium on *Chlorella vulgaris* growth and photosynthesis related gene transcription. **Aquatic Toxicology**, v.94, n.13, p.56–61, 2009.

QIAN, H. et al. Photoperiod and temperature influence cadmium's effects on photosynthesis-related gene transcription in *Chlorella vulgaris*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v.73, n.6, p.1202-1206, Sept. 2010.

REHMAN, B. et al. Silicon elicited varied physiological and biochemical responses in Indian mustard (*Brassica juncea*): a concentration dependent study. **Israel Journal of Plant Sciences**, v.16, n.5, p. 1-10, 2016.

SALT, D.E. et al. Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard. **Plant Physiology**, v.109, n.22, p.1427–33, 1995.

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

SARWAR, N. et al. Role of mineral nutrition in minimizing cadmium accumulation by plants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.90, n.6, p.925-937, 2010.

SCOTT, R.; KNOTT, M.A. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v.30, n.3, p.507-512, 1974.

SOMASHEKARAIHAH, B.V.; PADMAJA, K.; PRASAD, A.R.K. Phytotoxicity of

cadmium ions on germinating seedlings of mung bean (*Phaseolus vulgaris*): involvement of lipid peroxides in chlorophyll degradation. **Physiologia Plantarum**, v.85, n.10, p.85–89, 1992.

SOUZA, V. L. et al. Morphophysiological responses and programmed cell death induced by cadmium in *Genipa americana* L. (Rubiaceae). **Biometales**, v. 24, n. 1, p. 59-71, 2011.

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, n.13, p. 9999-10008, 2015. doi:10.1007/s11356-015-4187-2.

THIRUVENGADAM, M. et al. Selenium, putrescine, and cadmium influence health-promoting phytochemicals and molecular-level effects on turnip (*Brassica rapa* ssp. *rapa*). **Food Chemistry**, v.173, n.9, p.185–193, 2015.

THOMAS, H.; OUGHAM, H.; HORTENSTEINER, S. Recent advances in the cell biology of chlorophyll catabolism. **Advances in Botanical Research**, v.35, n.20, p.1–52, 2001.

VAN ASSCHE, F.; CLIJSTERS, H. Biological evaluation of soil phytotoxicity in the surroundings of a zinc smelter. In: Orio A. A. (Eds.), **Environmental Contamination**, p.466-468, 1988.

YE, J. et al. Effects of silicon on the distribution of cadmium compartmentation in root tips of *Kandelia obovata* (S., L.) Yong. **Environmental Pollution**, v.162, n.18, p.369–373, 2012.

ZEMBALA, M. et al. Effect of selenium on macro- and microelement distribution and physiological parameters of rape and wheat seedlings exposed to cadmium Stress. **Plant and Soil**, v.329, n.2, p.457–468, 2010.

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, n.3, p.731-734, 2008.

ZHANG, Q. et al. Silicon alleviation of cadmium toxicity in mangrove (*Avicennia marina*) in relation to cadmium compartmentation. **Journal of Plant Growth Regulation**, v.33, n.8, p.233–242, 2014.

ZHU, Z. et al. Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Plant Science**, v.167, n. 3, p.527-533, 2004. DOI: 10.1016/S0168-9452.

ZIMMER, A.R. et al. HPLC method for the determination of ecdysterone in extractive solution from *Pfaffia glomerata*. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.40, n.18, p.450-453, 2006.

ZORNOZA P. et al. Cadmium stress in nodulated white lupin: strategies to avoid toxicity. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.40, n. 9, p. 1003–1009, 2002.

YANG, Y. et al. Accumulation of cadmium in the edible parts of six vegetable species grown in Cd-contaminated soils. **Environmental Management**. v.90, n.15, p.1117–1122, 2009.

YANG, H.Y. et al. Cadmium effects on mineral nutrition and stress-related induces in *Potamogeton criprus*. **Russian Journal of Plant Physiology**, v.58, n.5, p.253–60, 2011.

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.1, p.320–326, 2013.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho pode evidenciar a eficiência do selênio e do silício em amenizar o estresse causado por cádmio em plantas de *Pfaffia glomerata* cultivadas em hidroponia. Cada um desses elementos benéficos atua sobre diferentes mecanismos de defesa da planta. Devido à eficiência destes elementos na redução do estresse por Cd, é possível traçar diferentes estratégias para seu uso em condições de solo contaminado, bem como, na escolha de plantas que melhor se beneficiem dos diferentes mecanismos em que estes elementos atuam.

Portanto, este trabalho traz informações que podem servir de base para futuros estudos no uso de Se e Si com espécies de interesse na fitorremediação, bem como espécies de interesse agrônômico, medicinal, florestal e outras que venham a ser cultivadas em condições de estresse.

REFERENCIAS

- ALI, H.; KHAN, E.; SAJAD, M.A. Phytoremediation of heavy metals - Concepts and applications. **Chemosphere**, v.91, n. 5, p.869–881, 2013.
- AL-WAELI, A. et al. The role of organic selenium in cadmium toxicity: effects on broiler performance and health status. **Animal**, v.7, n. 1, p.386-393, 2013.
- ALVES, R.B.N. **Caracterização morfológica, química e conservação *in vitro* de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen. 2008. 129p.** Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP, Botucatu, 2008.
- BAÑUELOS, G. S. et al. Selenium biofortification of broccoli and carrots grown in soil amended with Se enriched hyperaccumulator *Stanleya pinnata*. **Food Chemistry**, v. 166, n. 7, p. 603-608, 2015.
- BOLDRIN, P. F. et al. Selenato e selenito na produção e biofortificação agrônômica com selênio em arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 6, p. 831-837, 2012.
- BORGES, L.P. et al. Oral administration of diphenyldiselenide protects against cadmium-induced liver damage in rats. **Chemico Biological Interactions**, v.171, n. 2, p.15-25, 2008.
- CALGAROTO, N.S. et al. Antioxidant system activation by mercury in *Pfaffia glomerata* plantlets. **Biometals**, v.23, n. 5, p.295-305, 2010.
- CALGAROTO, N.S. et al. Zinc alleviates mercury-induced oxidative stress in *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen. **Biometals**, v.24, n. 10, p.959-971, 2011.
- 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.
- CAMARGO, M.S.; KORNDÖRFER, G.H.; WYLER, P. Silicate fertilization of sugarcane cultivated in tropical soils. **Field Crops Research**, v.89, n.167, p.64–75, 2014.
- CARULO, M.F. Use of SFC in extraction of adaptogens from Brazilian plants. **Journal of Analytical Chemistry**, v.3, n. 8, p.977–982, 2012.
- CARTES, P. et al. Selenium improves the antioxidant ability against aluminium-induced oxidative stress in ryegrass roots. **Annals of Applied Biology**, v.156, n. 10, p.297-307, 2010.
- CHEN, X. et al. The protection of selenium against cadmium induced cytotoxicity via the heat shock protein pathway in chicken splenic lymphocytes. **Molecules**, v.17, n.2, p.14565-14572, 2012.

CHO, U.H.; SEO, N.H. Oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation. **Plant Science**, v.168, n. 7, p.113-120, 2005.

CLEMENS, S. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. **Biochimie**, v.88, n. 3, p.1707-1719, 2006.

da CUNHA, K.P.V.; do NASCIMENTO, C.W.A. Silicon effects on metal tolerance and structural changes in maize (*Zea mays* L.) grown on a cadmium and zinc enriched soil. **Water, Air, & Soil Pollution**, v.197, n. 6, p.323-330, 2009.

DANIEL, J.F.S. et al. Free radical scavenging activity of *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen (Amaranthaceae). **Journal of Pharmacology**, v.37, n. 1, p.174-178, 2005.

de MARIA, S.; RIVELLI, A.R. Trace element accumulation and distribution in sunflower plants at the stages of flower bud and maturity. **Journal of Agronomy**, v.8, n.8, p.65-72, 2013.

DHILLON, K.S.; DHILLON, S.K. Distribution and management of seleniferous soils. **Advances in Agronomy**, v.79, n. 12, p.119-184, 2003.

DJANAGUIRAMAN, M. et al. Selenium an antioxidative protectant in soybean during senescence. **Plant and Soil**, v.272, n. 10, p.77-86, 2005.

DONCHEVA, S. et al. Silicon amelioration of manganese toxicity in Mn-sensitive and Mn-tolerant maize varieties. **Environmental and Experimental Botany**, v.65, n. 3, p.189-197, 2009.

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, n.3, p.506-512, 2016. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20150585>.

EPSTEIN, E. The anomaly of silicon in plant biology. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.91, n. 7, p.11-17, 1994.

EPSTEIN, E. Silicon. **Annual review of plant physiology and plant molecular biology**, v.50, p.641-664, 1999.

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.

FESTUCCI-BUSELLI, R.A. et al. Level and distribution of 20-hydroxyecdysone during *Pfaffia glomerata* development. **Journal of Plant Physiology**, v.20, n.4, p.305-311, 2008.

FIGUEIREDO, L. S. et al. Comportamento de acessos de *Pfaffia glomerata* nas condições de campos de Goytacazes-RJ. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 7, n.1, p. 67-72, 2004.

FILEK, M. et al. The protective role of selenium in rape seedlings subjected to cadmium stress. **Journal of Plant Physiology**, v.165, n. 1, p.833-844, 2008.

FILEK, M. et al. Effect of selenium on characteristics of rape chloroplasts modified by cadmium. **Journal of Plant Physiology**, v.167, n. 5, p.28-33, 2010.

FLORES, R.; GIMENES, E.S.; MALDANER, J. Production of B-ecdysone in in vitro-cultured Brazilian ginseng, *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v.90, n. 2, p. 109–114, 2015.

GAO, D. et al. Silicon enhances photochemical efficiency and adjusts mineral nutrient absorption in *Magnaporthe oryzae* infected rice plants. **Acta Physiology Plant**, v.33, n. 7, p.675-682, 2011.

GABOS, M. B.; GOLDBERG, S.; ALLEONI, L. R. F. Modeling selenium (IV and VI) adsorption envelopes in selected tropical soils using the constant capacitance model. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 33, n. 10, p. 2197-2207, 2014.

GONCALVES, J.F. et al. Cadmium toxicity causes oxidative stress and induces response of antioxidant system in cucumber seedlings. **Journal of Plant Physiology**, v.19, n. 3, p.223-232, 2007.

GONCALVES, J.F. et al. Cadmium-induced oxidative stress in two potato cultivars. **Biometals**, v.22, n. 5, p.779-792, 2009.

GONCALVES, J.F. et al. Behavior and brain enzymatic changes after long-term intoxication with cadmium salt or contaminated potatoes. **Food and Chemical Toxicology**, v.50, n. 10, p.3709–3718, 2012.

GONG, H. et al. Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in pots under drought. **Plant Science**, v.169, n. 8, p.313-321, 2005.

GU, H-H. et al. Mitigation effects of silicon rich amendments on heavy metal accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) planted on multimetal contaminated acidic soil. **Chemosphere**, v.83, n. 4, p.1234-1240, 2011.

GUNES, A. et al. Silicon mediated changes on some physiological and enzymatic parameters symptomatic of oxidative stress in barley grown in sodic-B toxic soil. **Journal of Plant Physiology**, v.164, n. 8, p.807-811, 2007.

GUO-LI, L.; DA-XUE, L.; QUAN-MING, L. Heavy metals contamination characteristics in soil of different mining activity zones. **Transactions of Nonferrous Metals Society of China**, v.18, n. 5, p.207-211, 2008.

GUPTA, D.K. et al. Effect of Hg, As and Pb on biomass production, photosynthetic rate, nutrients uptake and phytochelatin induction in *Pfaffia glomerata*. **Ecotoxicology**, v.22, n.2, p.1403–1412, 2013.

HAWRYLAK-NOWAK, B. Comparative effects of selenite and selenate on growth and selenium accumulation in lettuce plants under hydroponic conditions. **Plant Growth Regulation**, v.70, n. 7, p.149-157, 2013.

HE, P.P.; LV, X.Z.; WANG, G.Y. Effects of Se and Zn supplementation on the antagonism against Pb and Cd in vegetables. **Environment International**, v.30, n. 4, p.167-172, 2004.

HUANG, Q. et al. Uptake kinetics and translocation of selenite and selenate as affected by iron plaque on root surfaces of rice seedlings. **Planta**, v. 241, n. 4, p. 1-10, 2014.

IWASAKI, K. et al. Effects of silicon supply on apoplastic manganese concentrations in leaves and their relation to manganese tolerance in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). **Plant Soil**, v.238, n. 3, p.281-288, 2002.

JEŽEK, P. et al. Selenium an important antioxidant in crops biofortification. In: EL-MISSIRY, M. A. (Ed.). Antioxidant enzyme, Rijeka: **INTECH**, v. 13, n. 5, p. 343-369, 2012.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. CRC, Boca Ranton, FL, 2001.

KABATA-PENDIAS, A.; MUKHERJEE, A. B. Trace elements from soil to human. New York: **Springer Science**, p.550, 2007.

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.

KIM, S. S. et al. Effects of pH and anions on the sorption of selenium ions onto magnetite. **Journal of Environmental Radioactivity**, v. 104, n.2, p.1-6, 2012.

LANNING, F.C.; ELEUTERIUS, L.N. Silica deposition in some C3 and C4 species of grasses, sedges and composites in the USA. **Annals of Botany**, v.64, n.7, p.395-410, 1989.

LEITE, G. L. D. et al. Fatores que afetam artrópodes associados a cinco acessos de ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata*) em Montes Claros, Estado de Minas Gerais. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 30, n.1, p.7-11, 2008.

LI, W.B. et al. Effects of silicon on rice leaves resistance to ultraviolet-B. **Acta Botanica Sinica**, v.46, n.4, p.691-697, 2004.

LI, S. et al. Demonstrating a link between nutrient use and water management to improve crop yields and nutrient use efficiency in arid Northwest China. **Better Crops with Plant Food**, v.95, n.50, p.20–22, 2011.

LIANG, Y.C. Effects of silicone on leaf ultrastructure, chlorophyll content and photosynthetic activity in barley under salt stress. **Pedosphere**, v.8, n.3, p.289-296, 1998.

LIANG, Y.C. et al. Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of saltstressed barely (*Hordeum vulgare* L.). **Journal Plant Physiology**, v.160, n.7, p.1157-1164, 2003.

LIANG, Y.C.; SUN, W.C.; ZHU, Y.G.; CHRISTIE, P. Mechanisms of silicon-mediated alleviation of abiotic stresses in higher plants: a review. **Environmental Pollution**, v.147, n.5, p.422–428, 2007.

LIMA, M. A. et al. Aplicação de silício em milho e feijão-de-corda sob estresse salino. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 2, p. 398-403, 2011.

LIU, J. et al. Silicon attenuates cadmium toxicity in *Solanum nigrum* L. by reducing cadmium uptake and oxidative stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.68, n.1, p.1-7, 2013.

LUCHESE, C.; NOGUEIRA, C.W. Diphenyldiselenide in its selenol form has dehydroascorbate reductase and glutathione S-transferase-like activity dependent on the glutathione content. **The Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.62, n.2, p.1146-1151, 2010.

LUX, A.; MARTINKA, M.; VACULÍK, P.J. White, Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review, **Journal of Experimental Botany**, v.62, n.4, p.21-37, 2011.

MAGALHAES, P.M. **Agrotecnologia para el cultivo de fáfia o ginseng brasileiro**. In: Fundamentos de agrotecnologia de cultivo de plantas medicinales iberoamericanas. Bogota: CYTED, p.323-332, 2000.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Definições e normas sobre as especificações e as garantias, as tolerâncias, o registro, a embalagem e a rotulagem dos fertilizantes minerais, destinados à agricultura**. Instrução Normativa MAPA 5/2007. Instrução Normativa SARC nº 10, de 28 de outubro de 2004.

MARAFON, A.C.; ENDRES, L. Adubação silicatada em cana-de-açúcar. **Embrapa Tabuleiros Costeiros**, ISSN 1678-1953, 2011.

MARCHIORETTO, M. S.; MIOTTO, S. T. S.; SIQUEIRA, J. C. Padrões de distribuição geográfica das espécies brasileiras de *Pfaffia* (Amaranthaceae). **Rodriguésia**, v.6, n.3, p.67-68, 2009.

MARQUES, L.C. et al. Psychopharmacological assesment of *Pfaffia glomerata* roots (extract BNT-08) in rodents. **Phytotherapy Research**, v.18, n.7, p.566-572, 2004.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition in higher plants**. London: Academic Press, p.889, 1995.

MARTINEZ, G. R.; PALACIO, C. **Determinación de metales pesados cadmio y plomo en suelos y granos de cacao frescos y fermentados mediante espectroscopía de absorción atómica de llama**. 2010. 78p. Trabalho de conclusão de

curso (Química) Universidade Industrial de Santander, Faculdade de Ciências, Escola de Química, Bucaramanga, 2010.

MENDES, F.R.; CARLINI, E.A. Brazilian plants as possible adaptogens: an ethnopharmacological survey of books edited in Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v.109, n.3, p.493–500, 2007.

MEENA, V.D. 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.

MITCHELL, K. et al. Selenium sorption and isotope fractionation: iron (III) oxides versus iron (II) sulfides. **Chemical Geology**, v. 342, n.5, p. 21-28, 2013.

MOBIN, M.; KHAN, N.A. Photosynthetic activity, pigment composition and antioxidative response of two mustard (*Brassica juncea*) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. **Journal of Plant Physiology**, v.164, n.1, p.601-610, 2007.

MOREL, J. P. et al. Thermodynamics of selenium sorption on alumina and montmorillonite. **Cogent Chemistry**, v. 1, n. 1, p. 10, 2015.

NAIR, A.R. et al. Cadmium induced Pathologies: Where Is the Oxidative Balance Lost (or Not)? **International Journal of Molecular Sciences**, v.14, n. 3, p.6116-6143, 2013.

NAN, Z.R. et al. Cadmium and zinc interactions and their transfer in soil-plant system under actual field conditions. **Science of the Total Environment**, v.285, n. 1, p.187-195, 2002.

NAZAR, R. et al. Cadmium Toxicity in Plants and Role of Mineral Nutrients in Its Alleviation. **Journal Plant Sciences**, v.3, n.8, p.1476-1489, 2012.

NETO, A.G. et al. Evaluation of the trypanocidal and leishmanicidal in vitro activity of the crude hydroalcoholic extract of *Pfaffia glomerata* (Amaranthaceae) roots. **Phytomedicine**, v.11, n.4, p.662-665, 2004.

NETO, A.G.; COSTA, J.M.L.C.; BELATI, C. Analgesic and anti inflammatory activity of a crude root extract of *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen. **Journal of Ethnopharmacology**, v.96, n.5, p.87-91, 2005.

NISHIMOTO, N. et al. Ecdsteroids from *Pfaffia iresinoids* and reassignment of some ¹³CNMR chemical shifts. **Phytochemistry**, v.26, n.9, p.2505-2507, 1987.

OGASAWARA, Y.; LACOURCIERE, G.; STADTMAN, T. C. Formation of a selenium-substituted rhodanese by reaction with selenite and glutathione: Possible role of a protein perselenide in a selenium delivery system. **Biochemistry**, v.98, n.17, p.9494–9498, 2001.

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.

PENCE, N.S. et al. The molecular physiology of heavy metal transport in the Zn/Cd hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.97, n.1, p.4956-4960, 2000.

PEREIRA, M. P. et al. Cadmium tolerance in *Schinus molle* trees is modulated by enhanced leaf anatomy and photosynthesis. **Trees**, v.30, n.3, p.807-814, 2016. doi:10.1007/s00468-015-1322-0.

PERRY, C.C.; KEELING-TUCKER, T. Aspects of the bioinorganic chemistry of silicon in conjunction with the biometals calcium, iron and aluminium. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v.69, n.5, p.181-191, 1998.

POBLACIONES, M. J. et al. Agronomic selenium biofortification in triticum durum under Mediterranean conditions: from grain to cooked pasta. **Food Chemistry**, London, v. 146, n.1, p. 378-384, 2014.

PRAUCHNER, C.A. **A importância do selênio para a agropecuária e saúde humana**. Ed. UFSM, v.1, n.1, p. 376, 2014.

REIS, A. R. et al. Biofortificação agrônômica com selênio no Brasil como estratégia para aumentar a qualidade dos produtos agrícolas. **Journal of Biosystems Engineering**, v. 8, n. 2, p. 128-138, 2014.

RICHMOND, K.E.; SUSSMAN, M. Got silicon? The non-essential beneficial plant nutrient. **Current Opinion in Plant Biology**, v.6, n.4, p.268-272, 2003.

ROGALLA, H.; ROMHELD, V. Role of leaf apoplast in silicon-mediated manganese tolerance of *Cucumis sativus* L. **Plant, Cell & Environment**, v.25, n. 2, p.549-555, 2002.

SALDANHA, C. W. et al. A CO₂-enriched atmosphere improves in vitro growth of Brazilian ginseng [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen]. **In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant**, v.49, n. 6, p.433-444, 2013.

SANITA DI TOPPI, L.; GABBRIELLI, R. Response to cadmium in higher plants. **Environmental and Experimental Botany**, v.41, n.1, p.105-130, 1999.

SANTOS, F.W. et al. Diphenyldiselenide reverses cadmium-induced oxidative damage on mice tissues. **Chemico-Biological Interactions**, v.15, n.2, p.159-165, 2005.

SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P.R. **Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos**. In: SIMÕES, M. O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 4 ed., p. 301-330, 2002.

SEPPANEN, M.; TURAKAINEN, M.; HARTIKAINEN, H. Selenium effects on oxidative stress in potato. **Plant Science**, v.165, n. 1, p.311-319, 2003.

SHI, X.H. et al. Effect of Si on the distribution of Cd in rice seedlings. **Plant and Soil**, v.272, n. 5, p.53-60, 2005.

SHIOBARA, Y. et al. A nortriterpenoid, triterpenoid and ecdysteroids from *Pfaffia glomerata*. *Phytochemistry*, v. 32, n. 6, p. 1527-1530, 1993.

SIQUEIRA, J.C.; GRANDI, T.S.M. O gênero *Pfaffia* Mart. (Amaranthaceae) nos cerrados e campos rupestres de Minas Gerais. **Acta Biológica Leopoldensia**, v.8, n.8, p.213-230, 1986.

SKREBSKY, E.C. et al. Effect of cadmium on growth, micronutrient concentration, and δ -aminolevulinic acid dehydratase and acid phosphatase activities in plants of *Pfaffia glomerata*. **Journal of Plant Physiology**, v.20, n. 13, p.285-294, 2008.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005.

SUN, H.Y. et al. Effect of exogenous glutathione, selenium on cadmium-induced changes in cadmium, mineral concentrations, antioxidative metabolism in maize seedlings. **Asian Journal of Chemistry**, v.25, n. 7, p.2970-2976, 2013.

TANAKA, N. et al. Clonal propagation of 20-hydroxyecdysone producing plant *Pfaffia iresinoides*. **Plant Tissue Culture Letters**, v.12, n.2, p.187-191, 1995.

TANIGUCHI, S.F. et al. Effect of *Pfaffia iresinoides* on the experimental inflammatory process in rats. **Phytotherapy Research Journal**, v.11, n. 1, p.568-571, 1997.

VASCONCELOS, J.M. et al. In vitro propagation of Brazilian ginseng [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen] as affected by carbon sources. **In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant**, v.50, n. 2, p.746–751, 2014. DOI 10.1007/s11627-014-9651-z

VIGO, C.L.S.; NARITA, E.; MARQUES, L.C. Influencias da variação sazonal e tipos de secagem nas características da droga vegetal – raízes de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen (Amaranthaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.14, n. 2, p.137-144, 2004.

WHITE, P.J. et al. Interaction between selenium and sulphur nutrition in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Experimental Botany**, v.55, n. 1, p.1927-1937, 2004.

WOJCIK, M.; TUKIENDORF, A. Cadmium uptake, localization and detoxification in *Zea mays*. **Biologia Plantarum**, v.49, n. 6, p.237-245, 2005.

XUE, T.; HARTIKAINEN, H.; PIIRONEN, V. Antioxidative and growth-promoting effect of selenium in senescing lettuce. **Plant and Soil**, v.237, n.1, p.55-61, 2001.

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. 9, p.320–326, 2013.

YASIN, M. et al. Seleniferous soils as a source for production of selenium-enriched foods and potential of bacteria to enhance plant selenium uptake. **Plant and Soil**, v.386, n.1, p.385-394, 2015.

YATHAVAKILLA, S.K.V.; CARUSO, J.A. A study of Se-Hg antagonism in *Glycine max* (soybean) roots by size exclusion and reversed phase HPLC–ICPMS. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.389, n. 4, p.715-723, 2007.

ZENG, F. et al. Alleviation of chromium toxicity by silicon addition in rice plants. **Agricultural Sciences in China**, v.10, n. 1, p.1188-1196, 2011.

ZHANG, F. et al. Response of antioxidative enzymes in cucumber chloroplasts to cadmium toxicity. **Journal of Plant Nutrition**, v.26, n. 3, p.1779- 1788, 2002.

ZIMMER, A.R. et al. HPLC method for the determination of ecdysterone in extractive solution from *Pfaffia glomerata*. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.40, n. 4, p.450-453, 2006.

APÊNDICES

Figura 1 - Plantas de *Pffafia glomerata* após 5 dias de aclimação, quando foram expostas aos diferentes tratamentos.



Fonte: Autor.

Figura 2 - Aspecto visual das plantas de *Pffafia glomerata*, após 14 dias de exposição aos tratamentos.



Fonte: Autor.

Figura 3 - Aspecto apresentado pelas plantas em cada um dos tratamentos (T1: 0 μM Cd + 0 mM Se; T2: 0 μM Cd + 2,5 mM Se; T3: 50 μM Cd, T4: 50 μM Cd + 2,5 mM Se, T5: 0 μM Cd + 2,5 mM Si, T6: 50 μM Cd + 2,5 mM Si) ao final do experimento.



Fonte: Autor.

Capítulo II

Tabela 1 - Condições de operação do espectrômetro de ICP-MS.

Potência RF	1400 W
Vazão de Ar: principal	15 L min ⁻¹
Intermediário	1,2 L min ⁻¹
Nebulizador	1,15 L min ⁻¹
“Sampler” e “Skimmer”	Pt
Resolução	0,7 u
m/z monitorado	¹¹¹ Cd, ¹¹² Cd
Varreduras/leitura	10
Replicatas	5
Leituras/replicata	5
“Dwell time”	20 ms
Lente iônica	“Auto lens” on
Modo de medida	“Peak hopping”
Modo de operação do detector	“Dual”
Modo de operação do instrumento	Sem DRC (standard)

Fonte: Fabricante