

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SOLOS E QUALIDADE DE**  
**ECOSSISTEMAS**

**TOXIDEZ DE CADMIO INIBE O CRESCIMENTO E ALTERA A**  
**ABSORÇÃO DE NUTRIENTES DO GIRASSOL**

**MIRIÃ MARIA ALMEIDA DE ABREU SILVA FERREIRA**

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA**  
**ABRIL- 2013**

**TOXIDEZ DE CADMIO INIBE O CRESCIMENTO E ALTERA A  
ABSORÇÃO DE NUTRIENTES DO GIRASSOL**

**MIRIÃ MARIA ALMEIDA DE ABREU SILVA FERREIRA**

Bacharel em biologia

Universidade Estadual de Feira de Santana, 2010

Dissertação submetida ao curso de Pós-Graduação em Solos e Qualidade de Ecossistemas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia como requisito parcial para a obtenção do grau de mestre em Solos e Qualidade de Ecossistemas, Área de concentração: solos e nutrição de plantas.

**ORIENTADOR: PROF. DR. JORGE ANTONIO GONZAGA SANTOS (UFRB)**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA, SOLOS E QUALIDADE  
DE ECOSISTEMAS, CRUZ DAS ALMAS, BAHIA - 2013**

## FICHA CATALOGRÁFICA

F383	<p data-bbox="630 763 1157 801">Ferreira, Miriã Maria Almeida de Abreu Silva.</p> <p data-bbox="630 801 1356 929">Toxidez de cádmio inibe o crescimento e altera a absorção de nutrientes do girassol / Miriã Maria Almeida de Abreu Silva Ferreira. _ Cruz das Almas, BA, 2013. 45f.; il.</p> <p data-bbox="662 963 1157 996">Orientador: Jorge Antonio Gonzaga Santos.</p> <p data-bbox="630 1030 1356 1131">Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.</p> <p data-bbox="630 1153 1356 1288">1. Girassol – Cultivo. 2. Girassol – Hidroponia. 3. Cádmio – Metais pesados. I. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II. Título.</p> <p data-bbox="1093 1310 1268 1355">CDD: 635.953</p>
------	---

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas - UFRB.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SOLOS E QUALIDADE DE  
ECOSSISTEMAS**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE  
MIRIÃ MARIA ALMEIDA DE ABREU SILVA FERREIRA**

---

Dr. Jorge Antonio Gonzaga Santos  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB  
(Orientador)

---

Prof. Dr. Paula Ângela Umbelino Guedes Alcoforado  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB

---

Dra. Adriana Maria de Aguiar Accioly  
Embrapa Mandioca e Fruticultura

Dissertação homologada pelo Colegiado do Curso de Mestrado em Solos e Qualidade de Ecossistemas Conferindo o Grau de Mestre em Solos e nutrição de plantas no dia 29/04/2013

## SUMÁRIO

	PÁGINA
RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO GERAL.....	8
TOXIDEZ DE CADMIO INIBE O CRESCIMENTO E ALTERA A ABSORÇÃO DE NUTRIENTES DO GIRASSOL.....	17
INTRODUÇÃO .....	18
MATERIAL E MÉTODOS.....	20
RESULTADOS.....	22
DISCUSSÃO.....	33
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	40
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	40

## TOXICITY DE CADMIO INIBE O CRESCIMENTO E ALTERA A ABSORÇÃO DE NUTRIENTES DO GIRASSOL

Autor: Miriã Maria Almeida de Abreu Silva Ferreira

Orientador: Jorge Antonio Gonzaga Santos

### RESUMO:

Estudo hidropônico em casa de vegetação avaliou o efeito do cádmio no crescimento, na nutrição e na distribuição do elemento no genótipo H-250 do girassol. Os tratamentos foram estabelecidos em delineamento experimental inteiramente casualizado com cinco tratamentos, doses de cádmio (0, 2,5  $\mu\text{M}$ ; 5,0  $\mu\text{M}$ ; 7,5  $\mu\text{M}$  ou 10,0  $\mu\text{M}$ ) adicionados como  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ , com quatro repetições. Plantas expostas a doses crescentes de Cd apresentaram clorose e necrose foliar. A exposição das plantas a concentrações crescentes de cádmio reduziu a massa seca total (40%), a massa seca das folhas (29,39%), a massa do caule (47%) e das raízes (39%) do girassol quando comparado ao controle. A exposição das plantas ao Cd também reduziu os teores de Mn (35%) e Fe (84,4%) nas folhas micronutrientes. Como os teores de N, K e P nas folhas aumentaram com as doses de exposição de Cd, atribuiu-se a clorose e a necrose das folhas dos diferentes tratamentos de Cd à deficiência de Fe e Mn nas folhas. O fator de bioacumulação em folhas e raízes a 2,5  $\mu\text{M}$  Cd foi superior às demais concentrações. O teor de Mg na folha e nas raízes reduziu com a dose de Cd adicionada. Os teores de Ca não foram alterados com a concentração do metal tóxico. Os teores de Mn nas raízes reduziram em 22% e o Zn em 15% a 10,0  $\mu\text{M}$  Cd quando comparado ao controle. O aumento da exposição das plantas ao Cd alterou a absorção e translocação de nutrientes e inibiu o crescimento das plantas. As relações hídricas da planta não foram afetadas pelo Cd. O cádmio se concentrou preferencialmente nas raízes. Houve aumento da partição do elemento no caule.

Palavras-chave: Girassol, cultivo, hidroponia e cádmio

## **CADMIUM TOXITY INHIBES GROWTH AND DISTURBS SUNFLOWER NUTRIENT UPTAKE**

Autor: Miriã Maria Almeida de Abreu Silva Ferreira

Orientador: Jorge Antonio Gonzaga Santos

### **ABSTRACT:**

A hydroponic greenhouse study evaluated the effect of cadmium on growth, nutrition and distribution Cd in sunflower genotype H-250. The treatments were arranged as a completely randomized design with five cadmium doses 0, 2.5  $\mu\text{M}$ , 5.0  $\mu\text{M}$ , 7.5  $\mu\text{M}$ , or 10.0  $\mu\text{M}$  added as  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ , with four replications. Plants exposed to increasing doses of Cd presented foliar chlorosis and necrosis. Exposure of plants to increasing cadmium concentrations reduced the sunflower total dry matter (40%), dry weight of leaves (29,39%), mass stem (47%) and roots (39%) as compared to the control. The exposure of plants to Cd also reduced the leaves concentration of Mn (35%) and Fe (84.4%). The chlorosis and necrosis symptoms were attributed to Fe and Mn deficiencies since the N, P and K concentrations in the leaves increased with plant exposure to Cd. The leaves and roots bioaccumulation factors in 2.5  $\mu\text{M}$  Cd concentration were higher than in the other concentrations. The leaves and roots concentration reduced with the dose of Cd added. The Ca concentration did not change with the toxic metal concentration. The roots Mn (22%) and Zn (15%) content reduced at 10  $\mu\text{M}$  Cd as compared to the control. Increased exposure of plants to Cd altered the pattern of nutrient uptake and translocation and inhibited plant growth. The plant water content was not affected by cadmium exposure concentration. Cadmium was preferential concentrated in sunflower roots. The Cd stem partition increased with Cd dose.

Key-words: Sunflower, cultivation, hydroponics and cadmium

## INTRODUÇÃO

O cádmio (Cd) é um metal pesado (número atômico 48 e densidade de 8,65 g m<sup>-3</sup>) de alta toxicidade, solúvel em água e, relativamente mais biodisponível no solo do que outros metais pesados. A concentração de cádmio no ambiente natural é baixa, mas tende a acumular de forma exponencial em ambiente antropizado por atividade de mineração, como subproduto do processamento de minérios de zinco, cobre, níquel e chumbo; em ambientes em que resíduos industriais, principalmente da indústria de ferro e aço, e urbanos são despejados como efluentes; em subprodutos de fertilizantes minerais; em ambientes que o lodo de esgoto é aplicado para adubação (biossólidos); e em locais de descarte de pigmentos de tintas, plásticos e baterias de celulares (Ramalho, 2000; Camargo et al., 2001; Benavides et al., 2005; Single et al., 2008; Castillo-Michel, 2009; Freitas, 2009).

O enriquecimento do solo por cádmio representa um potencial perigo agrícola, para produção de alimentos e ambiental em todo o mundo (François, 2009; Chen et al., 2010; Römkens 2011). O uso de fertilizantes fosfatados (François, 2009; Grant, 2011) constitui uma das fontes mais importantes de contaminação de Cd na agricultura. As rochas fosfatadas contêm concentrações variadas de metais pesados, como o Cd (Gonçalves, 2008; Bizarro et al., 2008), os quais são concentrados no processo de produção de fertilizantes fosfatados concentrados (Freitas et al., 2009).

Por não possuir função biológica conhecida (Chien, 2001; Dong et al., 2007) e apresentar alta mobilidade na planta o cádmio é bastante deletério a vários



processos fisiológicos (Guimarães et al., 2008). Mesmo em baixas concentrações o cádmio pode reduzir a produtividade (Gill e Tuteja, 2011) das plantas.

Esse elemento pode ser encontrado na solução do solo, na forma de íons solúveis ou complexos inorgânicos e organometálicos; como íons adsorvidos; associados a hidróxidos de ferro, manganês e alumínio; na matéria orgânica do solo; na forma de precipitado sólido (exs. sulfetos, fosfatos e carbonatos); e minerais em fase sólida, como greenockita (CdS) e a octavita (CdCO<sub>3</sub>) (Singh et al., 2008).

A absorção de Cd pela planta é influenciada pela concentração do metal no meio, pH, presença de outros íons, composição mineralógica, teor de matéria orgânica, temperatura, espécie cultivada, microorganismos, potencial redutor da rizosfera (Eh), liberação de exsudatos orgânicos e inorgânicos pelas raízes (Das et al., 1997; Dias et al., 2003; Benavides et al., 2005; Dong et al., 2007; Schwab 2008; Castillo-Michel, 2009, Sarwar et al., 2010). Em ambiente oxidante o Cd<sup>+2</sup> é, geralmente, adsorvido com intensidade média pelos colóides; e em ambientes redutores este elemento é adsorvido com baixa intensidade (Dias et al., 2003, Römkens, 2011). A formação de quelatos com ácidos húmicos e a adsorção pelas argilas são barreiras que limitam a absorção de Cd pelas plantas (Reimann & Caritat, 1998).

A presença de Cd na rizosfera inibe a elongação radicular e influencia na anatomia da raiz (Lux et al., 2010). Os exsudatos radiculares modificam o pH e Eh (potencial redutor) da rizosfera e aumentam a concentração de agentes quelantes que afetam a adsorção, a solubilidade e a mobilidade de metais pesados. Em valores de pH > 8 o Cd precipita como sulfeto ou fosfato ou forma Cd(OH)<sub>2</sub> e CdCO<sub>3</sub>. Em pH < 8 o Cd está dissolvido no solo na forma de íon divalente Cd<sup>+2</sup> (Schwab et al., 2008).

A capacidade da planta de absorver, acumular e transportar cádmio varia entre espécies e mesmo entre genótipos da mesma espécie (Popova et al., 2008). O Cd é facilmente absorvido pelas raízes e chega ao xilema, via apoplasto ou simplasto, onde é translocado para parte aérea da planta por meio da transpiração (Prasad, 1995; Salt et al., 1995, Povova et al., 2008). Alta concentração do metal no tecido vegetal afeta primariamente as membranas e proteínas, embora diversos processos fisiológicos tais como respiração, fotossíntese, elongação celular, transporte da

água, absorção, transporte e uso de K, Fe, Mg, Ca, Mn, Zn, P, S, também são afetados (Benavides et al., 2005; Lindberg, 2007; Guimarães et al., 2008; López-Millán et al., 2009; Zhu et al., 2011).

Diversos estudos mostram que a toxidez por cádmio causa deficiência nos teores de macro e micronutrientes na planta. O apoplasto é uma região adensada por cargas negativas devido à presença dos grupos carboxílicos de pectinas (Guimarães et al., 2008). Esta região apresenta uma ampla capacidade de troca catiônica sendo fundamental à retenção de cátions como o  $\text{Cd}^{2+}$ . O aumento da saturação de  $\text{Cd}^{2+}$  nestes grupos funcionais reduz a capacidade de absorção de outros cátions. A inibição de canais iônicos e de transportadores nas membranas plasmáticas também pode ser a causa da redução da absorção de cátions (Sarwar et al., 2010, Nazar et al., 2012). O  $\text{Cd}^{2+}$  interage com a membrana plasmática bloqueando transportadores específicos de íons da raiz o que reduz a absorção de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$  pela planta (Nazar et al., 2012).

Os sintomas gerais causados pela toxicidade do cádmio são nanismo, clorose, necrose nas raízes e pontas de meristemas, epinastia e coloração amarronzada das nervuras (Das et al. 1997; Vassilev & Yordanov, 1997; Zhu et al., 2011). A clorose pode ser devido a deficiência de Fe, Mg, P ou redução no transporte de Mn (Mishra et al., 2006; Guimarães et al., 2008). A toxidez de cádmio inibe o crescimento das raízes; desorganiza as estruturas dos cloroplastos; reduz a biossíntese de clorofila (Somashekaraia et al., 1992); e interfere nas relações hídricas afetando a permeabilidade da membrana e causa mudanças nas organelas destruindo estrutura de membranas (Sandalio et al., 2001; Perfus-Barbeoch et al., 2002; Benavides et al., 2005), reduz o crescimento e biomassa das plantas e em casos extremos pode causar a morte dessas;

Entre os mecanismos potenciais de desintoxicação e tolerância das plantas ao estresse por metais pesados incluem a imobilização de metais pesados na parede celular, cuja significância na detoxificação ainda é controversa, ligação com grupos tiol em pequenos peptídeos ricos em cisteína; processos de transporte e compartimentalização; e o aumento da atividade de enzimas antioxidativas (Prasad, 1995; Gasic & Korban, 2006; Singh et al., 2008, Zhu et al., 2011). As fitoquelatinas e metalotioneínas são peptídeos importantes na defesa contra o Cd. Fitoquelatinas

são pequenos peptídeos sintetizados enzimaticamente a partir da GSH em uma reação catalizada pela enzima fitoquelatina sintase (Guimarães et al., 2008). A sintetase da fitoquelatina (PCS) é ativada somente na presença de íons de metais pesados, em especial Cd, Ag, Pb, Cu, Hg, Zn, Sn, Au, As (Benavides et al., 2005).

O girassol é uma cultura de grande importância comercial. Além de produzir um dos óleos vegetais de excelente qualidade nutricional (Fao, 2012) é uma planta com diversas utilidades. É a quinta oleaginosa em produção de matéria prima, ficando atrás somente das culturas de soja, colza, algodão e amendoim, e é a segunda mais importante ao lado da soja na produção de óleo. O girassol vem ganhando destaque com o Programa Nacional do Biodiesel criado pela lei 11.097/2005 ampliando a produção de biodiesel oriundo de óleos vegetais no mercado. A multiplicidade funcional do girassol faz da cultura um importante objeto de estudo com metais pesados como o Cd, uma vez que está sujeita a contaminação via adubos fosfatados como relatado para diversas culturas (Gajdos, 2012; Grani, 2010). A quantidade e diversidade de genótipos do girassol conferem a espécie uma grande plasticidade para responder a diversas condições (Capone et al., 2012) inclusive a estresse ambiental, o que confere a cultura um grande potencial para produção de biodiesel. A literatura mostra diferentes respostas do girassol ao cádmio (Zou et al., 2008; Chaves et al., 2011; Ullah et al., 2011; Gajdos et al., 2012), mas muitos genótipos ainda não foram explorados. o efeito do cádmio no crescimento, na nutrição e na distribuição do elemento no genótipo H-250 do girassol.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKHTER, M.F & MACFIE, S.M. 2012. Species-Specific Relationship between Transpiration and Cadmium Translocation in Lettuce, Barley and Radish. **J. Plant Stud.**, 1(1).

BENAVIDES, M.P; GALLEGO, S.M. & TOMARO, M.L. 2005. Cadmium toxicity in plants. **Braz. J. Plant Physiol.**, 17:21-34.

BIZARRO, V.G.; MEURER, E.J.; TATSCH, F.R.P. 2008. Cadmium contents of phosphate fertilizers marketed in Brazil. **Ciência Rural**, 38(1): 247-250.

CAMARGO, O.A.; ALLEONI, L.R.F.; CASAGRANDE, J.C. 2001. **Reações dos micronutrientes e elementos tóxicos no solo**. In: Ferreira, M.E.; Cruz, M.C.P.; Raij, B.; Abreu, C.A. Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura. Jaboticabal: Legis Summa,. p.89-124.

CASTILLO-MICHEL, H.A; HERNANDEZ, N.; MARTINEZ-MARTINEZ, A; PARSONS, J.G; PERALTA-VIDEA, J.R; GARDEA-TORRESDEY, J.L. 2009. Coordination and speciation of cadmium in corn seedlings and its effects on macro- and micronutrients uptake. **Plant Physiol. Biochem.**, 47: 608-614.

CHAVES, L.H.G; ESTRELA, M.A AND SOUZA, R.S DE. 2011. Effect on plant growth and heavy metal accumulation by sunflower. **J. Phytol.**, 3(12): 04-09.

CHEN, F., WANG, F., WU, F., MAO, W., ZHANG, G., ZHOU, M. 2010. Modulation of exogenous glutathione in antioxidant defense system against Cd stress in the two barley genotypes differing in Cd tolerance. **Plant Physiol. Biochem.**, 48: 663-672.

CHIEN, H; LIN, C.C; WANG, J, CHEN , C.T AND KAO, C.H. 2000.Changes in ammonium ion content and glutamine synthetase activity in rice leaves caused by

excess cadmium are a consequence of oxidative damage. **Plant Growth Reg.**, 00: 1–7.

DAS, P; SAMANTARAY, S; ROUT, G.R. 1997. Studies on cadmium toxicity in plants: a review. **Environ. Pollut.**, 98: 29- 36.

DONG, J; MAO, W.H; ZHANG, G.P; WU, F.B; CAI, Y. 2007. Root excretion and plant tolerance to cadmium toxicity – a review. **Plant soil environ.**, 53(5): 193-200.

FRANÇOIS, M; GRANT, C; LAMBERT, R; SAUVÉ, S. 2009. Prediction of cadmium and zinc concentration in wheat grain from soils affected by the application of phosphate fertilizers varying in Cd concentration. **Nut. Cycl. in Agroec.**, 83 (2): 125-133.

FREITAS, E. V. S; NASCIMENTO, C. W. A; GOULART, D. F; SILVA, J. P. S. 2009. Disponibilidade de cádmio e chumbo para milho em solo adubado com fertilizantes fosfatados. **Rev. Bras. Ciênc. Solo.**, 33: 1899-1907.

GAJDOS, E; LÉVAI, L; VERES, S AND KOVÁCS, B. 2012. Effects of Biofertilizers on Maize and Sunflower Seedlings under Cadmium Stress. **Comm Soil Sci Plant Anal.**, 43: 272-279.

GHANI, A. 2010. Effect of Cadmium Toxicity on the Growth and Yield Components of Mungbean [*Vignaradiata (L.)Wilczek*]. **World Appl. Sci. J**, 8: 26-29.

GILL, S.S AND TUTEJA, N. 2011. Cadmium stress tolerance in crop plants. **Plant Sig. & Behav.**, 6: (2): 215-222.

GONÇALVES, V.C.; CARVALHO, S.A.; TATSCH, F.R.P.; NETO, O.A.S.; MEURER, E.J. 2008. Adsorção de cádmio em solos cauliniticos. **Revista da ZVA**. Uruguaiana. 15(2): 01-10.

GRANT, C.A. 2011. Influence of Phosphate Fertilizer on Cadmium in Agricultural Soils and Crops. **Pedologist**, 143-155.

GUIMARÃES, M.A; SANTANA, T.A; SILVA, E.V; ZENZEN, I.L; LOUREIRO, E. M. 2008. Toxicidade e tolerância ao cádmio em plantas. **Rev. Trópic.**, (3): 58-68.

HASAN, S. A; FARIDUDDIN, Q; ALI, B; HAYAT, S; AHMAD, A. 2009. Cadmium: toxicity and tolerance in plants. **J. environ. biol.** 30 (2): 165-174.

LINDBERG S, LANDBERG T, GREGER, M .2007. Cadmium uptake and interaction with phytochelatin in wheat protoplasts. **Plant Physiol. Biochem.**, 45: 47-53.

LÓPEZ-MILLÁN, A; SAGARDOY, R; SOLANAS, M; ABADÍA, A; ABADÍA, J. 2009. Cadmium toxicity in tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants grown in Hydroponics. **Environ. Exp. Bot.**, 65: 376-385.

LUX, A; MARTINKA, M; VACULÍK, M AND WHITE, P.J. 2010. Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review. **J. Exp. Bot.**, 1-17.

MISHRA, S.; SRIVASTAVA, S; TRIPATHI R.D; GOVINDARAJAN, R; KURIAKOSE, S.V; PRASAD, M.N. 2006. Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L. **Plant Physiol. Biochem.**, 44: 25-37.

NAZAR, R; IQBAL, N; MASOOD, A; IQBAL, M; KHAN, R; SYEED, S; KHAN, N. 2012. Cadmium Toxicity in Plants and Role of Mineral Nutrients in Its Alleviation. **Americ. J. Plant Sci.**, 3:1476-1489.

PERFUS-BARBEOCH, L; LEONHARDT, N; VAVASSEUR, A. & FORESTIER, C. 2002. Heavy metal toxicity: cadmium permeates through calcium channels and disturbs the plant water status. **Plant J.**, 32:539-48.

POPOVA, L; MASLENKOVA, L; YORDANOVA, R; KRANTEV, A; SZALAI, G; JANDA, T. 2008. Salicylic Acid Protects Photosynthesis Against Cadmium Toxicity In Pea Plants. **Gen. Appl. Plant Physiol.**, 34 (3-4), 133-148.

PRASAD, M.N.V. 1995. Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants. **Environ. Exp. Bot.**, 35 (4): 525-545.

RAMALHO, J. F. G. P.; AMARAL SOBRINHO, N. M. B.; VELLOSO, A. C. X. 2000. Contaminação da microbacia de Caetés com metais pesados pelo uso de agroquímicos. **Pesq. Agrop. Bras.**, Brasília, 35 (7): 1289-1303.

REIMANN, C & CARITAT, P DE. 1998. **Chemical elements in the environment: factsheets for the geochemist and environmental scientist.** Springer – Verlag Berlin Heidelberg, 398pp.

RÖMKENS, P.F.A.M; BRUS, D.J; GUO, H.Y; CHU, C.L; CHIANG, C.M; KOOPMANS, G.F. 2011. Impact of model uncertainty on soil quality standards for cadmium in rice paddy fields. **Sci. Total Environ.**, 409: 3098–3105.

SALT, D.E.; PRINCE, R.C.; PICKERING, I.J. AND RASKIN, I.1995. Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian Mustard. **Plant Physiol.**, 109: 1427-1433.

SANDALIO L.M; DALURZO H.C; GÓMEZ, M; ROMERO-PUERTAS, M.C; DELRÍO, L. A. 2001. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. **J. Exp. Bot.**, 52 (364): 2115-2126.

SARWAR, N; SAIFULLAH, SUKHDEV, S.M; MUNIR, H.Z; ASIF, N; SADIA B; GHULAM F. 2010. Role of mineral nutrition in minimizing cadmium accumulation by plants (Review). **J. Sci. Food Agric.**, 90: 925-937.

SCHWAB, A.P; ZHU, D.S; BANKS, M.K. 2008. Influence of organic acids on the transport of heavy metals in soil. **Chemosphere**, 72: 986–994.

SINGH, S; NAFEES, A.K; RAHAT, N; NASER, A.A. 2008. Photosynthetic Traits and activities of antioxidant enzymes in blackgram (*Vignamungo* L. Hepper) under cadmium stress. **Am. J. Plant Physiol.**, 3(1):25-32.

SOMASHEKARAIHAH, B.V; PADMAJA, K; PRASAD, A.R.K. 1992. Phytotoxicity of cadmium ions on germinating seedlings of mungbean (*Phaseolus vulgaris*): involvement of lipid peroxides in chlorophyll degradation. **Plant Physiol.**, 85: 85-89.

ULLAH, R; BAKHT, J; SHAFI, M; IQBAL, M; KHAN, A AND SAEED, M. 2011. Phyto-accumulation of heavy metals by sunflower (*Helianthus annuus* L.) grown on contaminated soil. **Afric. J. Biotechnol.**, 10(75):17192-17198.

VASSILEV, A AND YORDANOV, I. 1997. Reductive analysis of factors limiting growth of cadmium –treated plants: A Review: Bulg. **J. Plant Physiol.**, 23(3-4): 114-133.

ZHU, X.F; ZHENG, C; HU, Y.T; JIANG, T; LIU, Y; DONG, N.Y; YANG, J. L & ZHENG, S.J. 2011. Cadmium-induced oxalate secretion from root apex is associated with cadmium exclusion and resistance in *Lycopersicon esculentum*. **Plant, Cell and Environ.**, 34:1055-1064.

ZOU, J; XU, P; LU, X; JIANG, W. AND LIU, D. 2008. Accumulation of cadmium in three sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars. **Pak. J. Bot.**, 40(2):759-765.



## **CAPÍTULO 1**

**TOXIDEZ DE CADMIO INIBE O CRESCIMENTO E ALTERA A ABSORÇÃO  
DE NUTRIENTES DO GIRASSOL**

## Introdução

O cádmio é um metal pesado sem função biológica conhecida com alta toxicidade para plantas e animais (Dong et al., 2007). A toxicidade do cádmio (Cd) é um problema que afeta a produtividade das culturas em todo o mundo. A toxicidade do Cd causa estresse em muitos processos fisiológicos da planta, incluindo o metabolismo do nitrogênio, fotossíntese, metabolismo de carboidratos, assimilação de minerais, e as relações hídricas da planta (Gajdos et al., 2012).

Em solos não contaminados, o cádmio está presente em concentrações geralmente inferior a  $0,5 \text{ mg Kg}^{-1}$  (Naszar et al., 2012) mas atividades antrópicas, tais como uso de fertilizantes fosfatados concentrados, resíduos industriais e urbanos aumentam as concentrações do elemento no solo (Benavides et al., 2005). A concentração de Cd absorvido por plantas superiores é determinada pela concentração e pela biodisponibilidade de Cd no solo. A biodisponibilidade do elemento é influenciada pela presença de matéria orgânica, exsudatos de raízes, micorriza, pelo pH, potencial redox e temperatura do solo, além da concentrações de outros cations (Pál et al, 2006). Em condições normais plantas de genótipos de girassol podem apresentar diferentes concentrações de cádmio que podem variar de  $15,8 \text{ } \mu\text{g Cd g}^{-1}$  de massa seca a  $0,8 \text{ } \mu\text{g Cd g}^{-1}$  MS total (Zou et al, 2008). O Cd é tóxico para a maioria das plantas em concentrações superior a  $5\text{-}10 \text{ } \mu\text{g Cd g}^{-1}$  MS folha (Lux et al., 2010).

O Cd absorvido pelo sistema radicular da planta chega ao xilema via apoplásto e/ou simplásto por onde atinge a parte aérea. Plantas expostas a concentrações de Cd entre  $5\text{-}200 \text{ } \mu\text{M}$  ou mais podem sofrer danos oxidativos, devido a geração de espécies ativas de oxigênio afetando sobretudo o crescimento (Zhang

et al. 2009, Hasan et al., 2009). Em espécies não tolerantes, concentrações a partir de 2,0  $\mu\text{M}$  Cd pode induzir estresse oxidativo (Smeets et al., 2005), podendo causar efeitos tóxicos ou morte da planta (Hasan et al., 2009, Redjala, et al., 2009; 2010). A intensidade do efeito do  $\text{Cd}^{2+}$  depende da idade da planta, do tempo de exposição e da concentração do metal (Akhter et al., 2012).

O Cd presente na planta em concentração tóxica interfere na produtividade das culturas (Ghani, 2010; Shekar et al., 2011) através do seu impacto na respiração, fotossíntese, alongação celular, transporte da água, e absorção, transporte e uso de K, Fe, Mg, Ca, Mn, Zn e P (Benavides et al., 2005). Os efeitos de altas concentrações nas plantas são expressos em termos de inibição do crescimento da parte aérea, nanismo, clorose, necrose de pontas de meristemas, coloração amarronzada das nervuras das folhas e epinastia (Das et al., 1997; Benavides et al., 2005; Smeets et al., 2005). A clorose pode ser atribuída a deficiência de Fe, Mg, P ou redução no transporte de Mn (Guimarães et al., 2008).

As plantas desenvolveram vários mecanismos para restringir o acúmulo de Cd nos tecidos aéreos. Para evitar o movimento do Cd para o simplasto, as plantas produzem fitoquelatinas e seqüestram o Cd-quelado para os vacúolos; enquanto que para restringir o movimento aploplástico inclui o desenvolvimento da exoderme, endoderme e outras barreiras extracelulares (Lux et al., 2011).

A nutrição vegetal é uma estratégia que pode ser utilizada para minimizar a entrada Cd na cadeia alimentar (Sarwar et al, 2010). O aumento da disponibilidade de N, P, S,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Fe}^{++}$ ,  $\text{Zn}^{++}$  e  $\text{Mn}^{++}$  reduz a absorção de Cd através da competição por adsorção dos íons da solução do solo; e por absorção pela planta pelos mesmos transportadores de membrana, por exemplo, Zn, Fe e Mn. Alguns nutrientes participam de enzimas que atuam na defesa da planta contra o estresse oxidativo, aumentando as reações bioquímicas e processos fisiológicos nas plantas (Sarwar et al, 2010, Nazar et al., 2012). É o caso do enxofre que favorece a formação de composto como CdS, que é insolúvel, e ao, aumento da síntese de fitoquelatina-PCs (Guimarães et al., 2008). O cálcio ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) aumenta o pH do solo e compete com Cd ( $\text{Ca}/\text{Cd}$ ) no complexo de troca (Zorrig et al., 2012). O zinco inibi a absorção de Cd pela raiz, compete com os mesmos transportadores de membranas, ameniza o estresse oxidativo e reduz o dano nas membranas e biomoléculas. O ferro é Co-fator

de enzimas antioxidantes (CAT e APX), compete com Cd pelos mesmos transportadores de membrana. O manganês também compete pelos mesmos transportadores de membranas, restaura os danos a estrutura da clorofila e aumenta a produção de biomassa (Sarwar et al., 2010).

O girassol (*Helianthus annuus*) é uma cultura de crescimento rápido que apresenta uma certa tolerância a metais pesados (Gajdos et al., 2012). Entre as oleaginosas, o girassol é a quinta maior produtora de óleo, atrás da soja, canola, algodão e amendoim (Chaves et al., 2011).

A quantidade e diversidade de genótipos do girassol conferem a espécie uma grande plasticidade para responder a diversas condições (Capone et al., 2012) inclusive a estresse ambiental, o que confere a cultura um grande potencial para produção de biodiesel. O conhecimento das respostas de genótipos a estresse ambiental com bases fisiológicas e bioquímicas ainda é indispensável para o bom uso dos genótipos e melhoramento genético da espécie, gerando modelos importantes para compreensão dos mecanismos que levam ao estresse por contaminação.

Os objetivos deste trabalho foram estudar os efeitos de doses crescentes de Cd no crescimento, na nutrição das plantas e na distribuição do metal nas diferentes partes do girassol, genótipo H-250.

## **Material e Método**

### ***Preparo de plantas, condições de crescimento, e exposição ao Cd***

O experimento foi conduzido no período de março a junho de 2011 em casa de vegetação da UFRB. Copos plásticos (200 mL) contendo areia lavada foram semeados com uma semente de girassol (*Helianthus annuus* L.) do genótipo H-250 por vaso. Os copos foram molhados diariamente com água destilada. Cinco dias após a emergência, as plântulas foram aclimatadas por sete dias em bacias plásticas, contendo 12 L de solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) a meia força e mantida a pH entre 5,5 e 6,5. A partir da solução estoque 1 M da solução nutritiva foram adicionados os seguintes volumes em cada unidade experimental: 30

ml de  $\text{KNO}_3$ ; 24 ml de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ; 12 ml de  $\text{MgSO}_4$ ; 6 ml de  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ; 3 ml de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ; 6 ml de Fe-EDTA; e 6 ml de uma mistura de micronutrientes  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{ZnCl}_2$ ;  $\text{CuCl}_2$ ;  $\text{H}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (6 ml). Durante o período de aclimação as plantas foram aeradas por 15 minutos a cada três horas utilizando um compressor Resun Modelo: GF-180; vazão: 900 litros de ar por minuto (brutos) Pressão: > 1200mm H<sub>2</sub>O) de ar acoplado a um temporizador carga máxima 127, potencia resistiva 2000W e Indutiva 100 W modelo: FDP-60/SB2). Decorrido o período da aclimação, as soluções nutritivas foram trocadas e os tratamentos foram dispostos em delineamento experimental inteiramente casualizado com cinco doses de cádmio (0  $\mu\text{M}$ , 2,5  $\mu\text{M}$ , 5,0  $\mu\text{M}$ , 7,5  $\mu\text{M}$  e 10,0  $\mu\text{M}$ ) aplicado como  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  e com quatro repetições. O tratamento controle, 0  $\mu\text{M}$ , foi constituído da solução nutritiva sem  $\text{Cd}^{2+}$ . O volume inicial da solução foi mantido durante o estudo pela adição diária de água destilada para recompor a água transpirada e evaporada em cada vaso.

### ***Parâmetros de crescimento***

Sete dias após a aplicação dos tratamentos, as plantas foram colhidas e segmentadas em folha, raiz e caule e avaliadas para massa fresca, massa seca e área foliar. A massa fresca e seca foram determinadas por meio de uma balança analítica AW-220 de precisão de 0,0001 g. A área foliar foi analisada através de um sistema de imagem WinDIAS, modelo W-C110-PC (Delta-TDevices Ltd, Cambridge, UK). Após a determinação da massa fresca e área foliar o material fresco foi transferido para estufa com circulação forçada de ar por 72 h a 65°C, para determinação da massa seca. A partir desses dados calculou-se a suculência foliar  $\text{SUC} = \text{MFF} - \text{MSF} / \text{A}$ , a: MFF=massa fresca foliar; MSF=massa seca foliar; e A= área foliar (Mantovani, 1999).

### ***Cádmio e nutrientes***

O tecido vegetal seco foi triturado em moinho tipo Wiley com peneira de 20 mesh. Cerca de 0,200 g do material vegetal seco das raízes, caule e folha de cada tratamento foi digerido em uma mistura ácida de 3,5 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$ (conc) e 2ml  $\text{H}_2\text{O}_2$  a 30% em bloco digestor. O material digerido foi diluído para 100 mL com água

deionizada para as determinações espectrofotométricas. O teor de Cd, Ca, K, Mg, Mn, Fe, Zn e Cu nas raízes, caules e folhas dos tratamentos foram quantificados por espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES, Varian VISTA-PRO Simultaneous) no Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia (UFBA) nas seguintes linhas de emissão: Cd 228,802 nm; Ca 393,366 nm; Mg 280,270 nm; K 769,897 nm; Mn 257,610 nm; Fe 259,940 nm; Zn 213,857 nm; e Cu 213,598 nm. A determinação de nitrogênio foi realizada pelo método de Kjeldahl, em extratos preparados por digestão sulfúrica (Sarruge & Haag 1974), seguido do método fenol-hipoclorito com leitura realizada em espectrofotômetro de absorção molecular a 630nm (Wetherburn 1967). As determinações de fósforo foram realizadas pelo método colorimétrico do molibdo-vanadato de amônio, em extrato aquoso e sulfúrico, as leituras feitas em espectrofotômetro de absorção molecular a 420 nm (Malavolta et al., 1989). O fator de bioacumulação (FB) de Cd na planta foi calculado segundo Shah et al.(2008) pela razão entre a concentração do elemento no tecido e a concentração do elemento na solução nutritiva. O fator de translocação (FT) foi calculado pela razão do teor de Cd na parte aérea pelo teor do Cd nas raízes) (Marchiol et al., 2004).

### ***Análise estatística***

Os resultados obtidos foram submetidos às análises de variância e de regressão utilizando o programa estatístico SAS (Statistical Analysis System),  $p < 0,05$ .

## **Resultados**

### ***Efeito do Cd no crescimento***

Durante os sete dias de exposição do girassol ao Cd as plantas apresentaram sintomas de toxidez indicado por clorose, iniciando nas folhas mais jovens de plantas expostas a concentrações iguais ou superiores a 2,5  $\mu\text{M}$  Cd (Figura 1). A clorose foi mais intensa em plantas expostas as maiores concentrações de cádmio, reduzindo a área fotossinteticamente ativa da folha. Essa perda funcional de área foliar teve impacto direto sobre a fotossíntese.



Figura 1. Clorose foliar em plantas de girassol cultivadas por sete dias em casa de vegetação expostas a doses crescentes de cádmio em solução nutritiva.

Plantas expostas a concentração igual ou superior a 5,0  $\mu\text{M}$  Cd apresentaram além da clorose, necrose foliar (Figura 2).



Figura 2. Necrose foliar em plantas de girassol cultivadas por sete dias em casa de vegetação a 5  $\mu\text{mol}$  Cd.

A exposição do girassol a concentrações crescentes de Cd reduziu a massa seca das folhas, caule e raiz e conseqüentemente, a massa seca total (Figura 3 a, 3b, 3c e 3d). Para cada  $\mu\text{M}$  de Cd adicionado houve uma redução de 0,145g a biomassa da matéria seca total. A folha contribuiu para a redução da massa seca da planta de 0,057g MS  $\mu\text{M}$  Cd<sup>-1</sup>, do caule de 0,045g MS  $\mu\text{M}$  Cd<sup>-1</sup> e da raiz 0,044g MS por  $\mu\text{M}$  Cd<sup>-1</sup> (Figuras 3a, 3b, 3c e 3d).

A massa seca total das plantas de girassol foi reduzida em 28 % a 2,5  $\mu\text{M}$  Cd e 40 % na concentração mais elevada de Cd, comparado ao controle. O efeito do cádmio sobre o crescimento foi mais pronunciado no caule, com redução de 47% de massa seca a 10,0  $\mu\text{M}$  Cd. A massa seca de raiz do tratamento 10,0  $\mu\text{M}$  Cd foi 39% e das folhas 29,39% comparado ao controle.

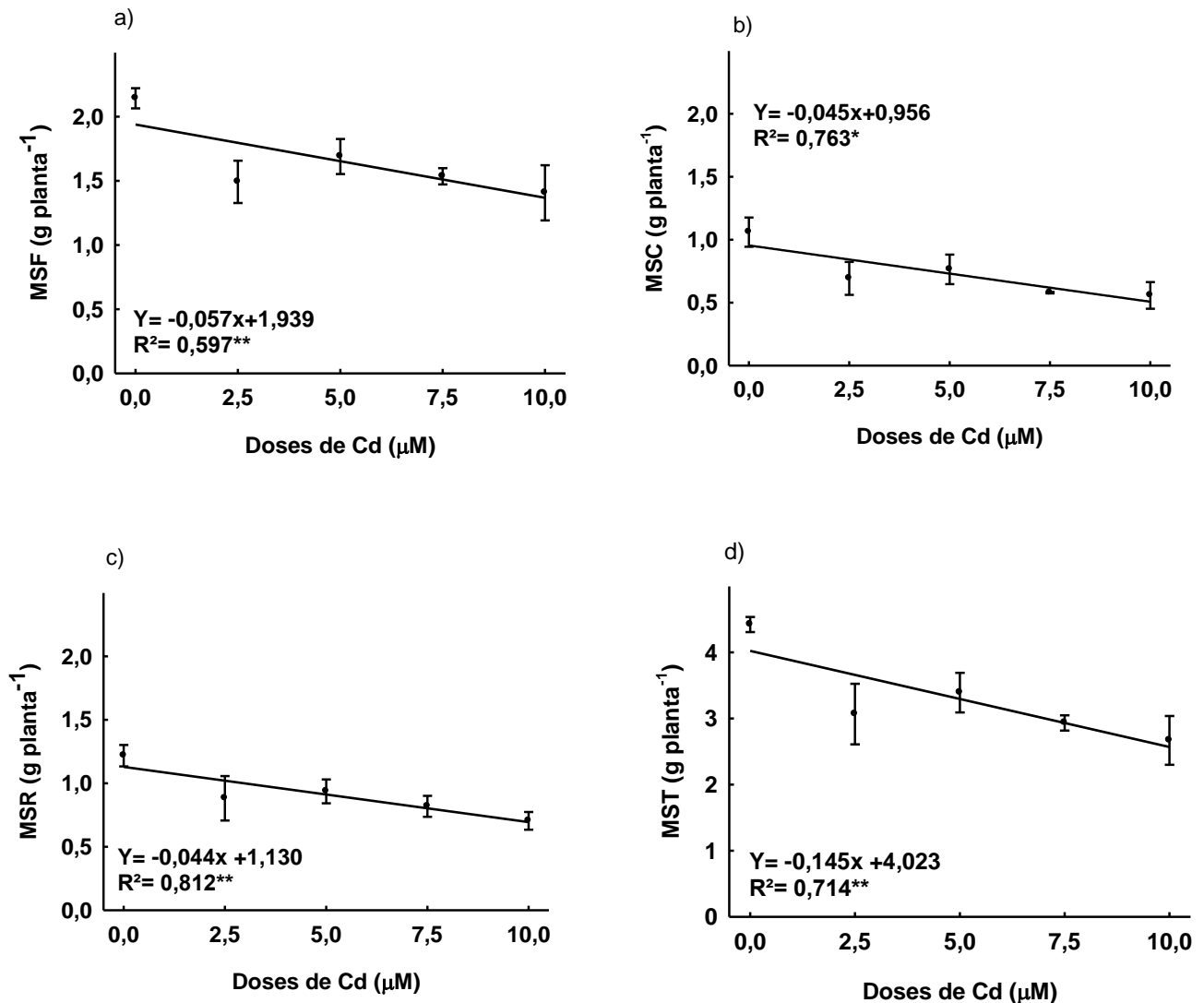


Figura 3. Massas secas da folha (MSF), caule (MSC), raiz (MSR), e total (MST) de plantas de girassol cultivadas por sete dias em casa de vegetação, expostas a doses crescentes de cádmio na solução nutritiva.

A exposição das plantas ao Cd teve um efeito direto na redução da área foliar (cerca de 2% por  $\mu\text{M}$  de Cd adicionado) e conseqüentemente na capacidade fotossintética da planta (Figura 4). Na concentração mais elevada de cádmio, a área foliar reduziu em torno de 26% quando comparada com o controle. A produção de biomassa está diretamente relacionada a fotossíntese da planta, desse modo, a



redução da produção de biomassa da planta deveu-se em parte à redução da área foliar e a clorose as quais reduziram a atividade fotossintética da planta.

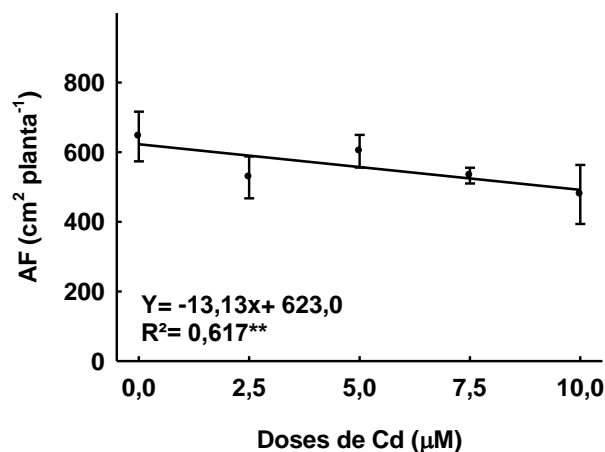


Figura 4. Área foliar (AF) em plantas de girassol cultivadas por sete dias em casa de vegetação, expostas a doses crescentes de cádmio na solução nutritiva.

A suculência foliar foi o único parâmetro avaliado que não foi afetado pela exposição da planta a doses crescentes de cádmio na solução. A concentração média de água na planta ficou em torno de 31,05 g H<sub>2</sub>O cm<sup>2</sup>.

### ***Concentração e distribuição de cádmio na planta***

Durante o período experimental, a concentração de Cd na folha, no caule e nas raízes do girassol aumentou linearmente com a dose de Cd aplicada (Figura 5a, 5b e 5c) respectivamente. Comparativamente, o girassol concentrou mais cádmio nas raízes do que no caule e nas folhas.

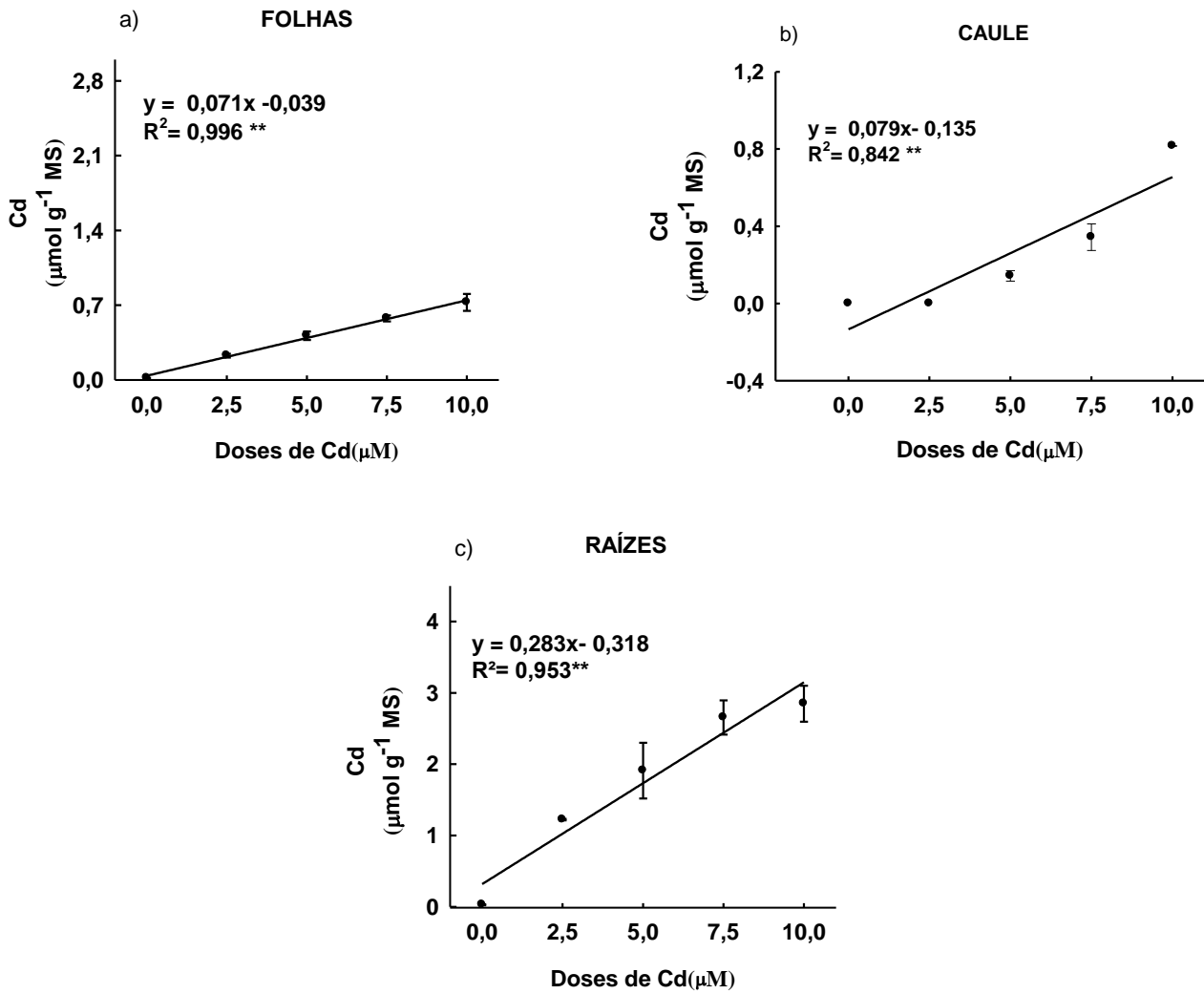


Figura 5. Concentração de cádmio em folhas, caules e raízes de girassol cultivados por sete dias em casa de vegetação, expostas a doses crescentes de cádmio na solução nutritiva.

A partição do Cd na planta dependeu da concentração de exposição do girassol ao contaminante. No tratamento controle, 46,9% do Cd da planta estava concentrado na raiz e 53% na folha; já na concentração 2,5  $\mu\text{M}$  a porcentagem de Cd absorvido da raiz aumentou para 75,9% e a porcentagem do Cd absorvido na folha reduziu para 24,1%. Concentrações de exposição de Cd > 2,5  $\mu\text{M}$  mantiveram os teores de Cd na folha em torno de 27%, os teores de Cd na raiz ficaram em torno de 64% e quantidades crescentes (4,3% a 13,0%) de Cd passaram a se acumular no caule (Figura 6).

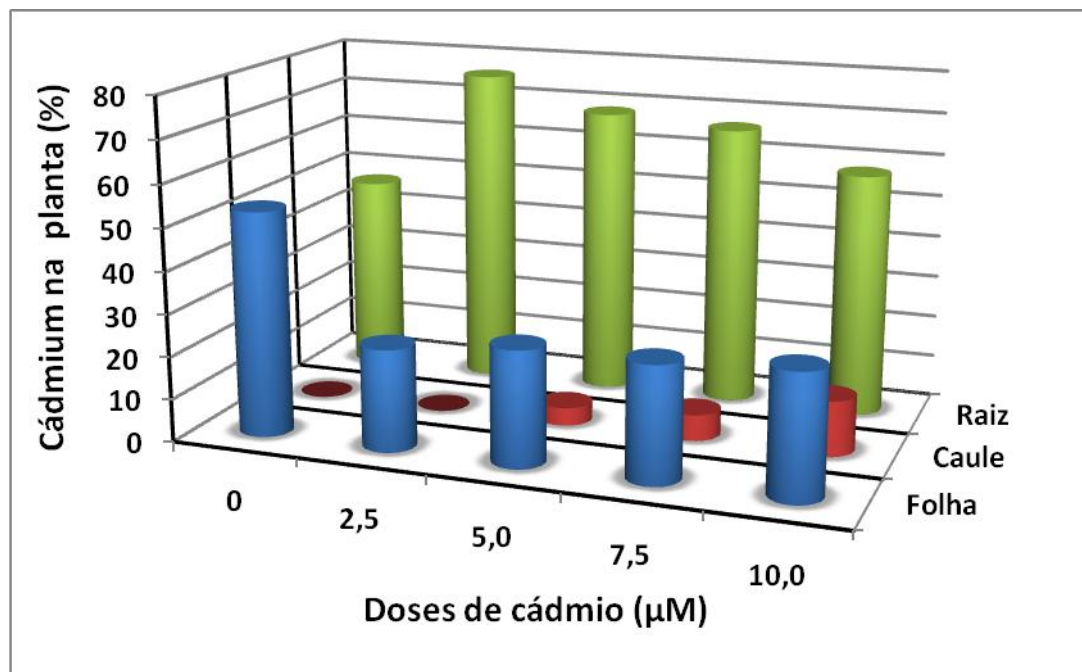


Figura 6. Partição do cádmio na folha, caule e raiz do girassol sob diferentes doses de exposição da planta ao cádmio.

O fator de translocação de Cd para o caule aumentou em até três vezes na concentração mais elevada de cádmio quando comparado à dose 5,0  $\mu\text{M}$  Cd. A 2,5  $\mu\text{M}$  Cd o fator de translocação de Cd no caule foi nulo, pois o Cd absorvido pelo girassol estava todo concentrado na raiz ou na folha (Figura 7). O aumento de cádmio acumulado no caule é uma evidência da resistência da planta em limitar a translocação de Cd para as folhas. No entanto este mecanismo não foi o bastante para impedir a redução do crescimento.

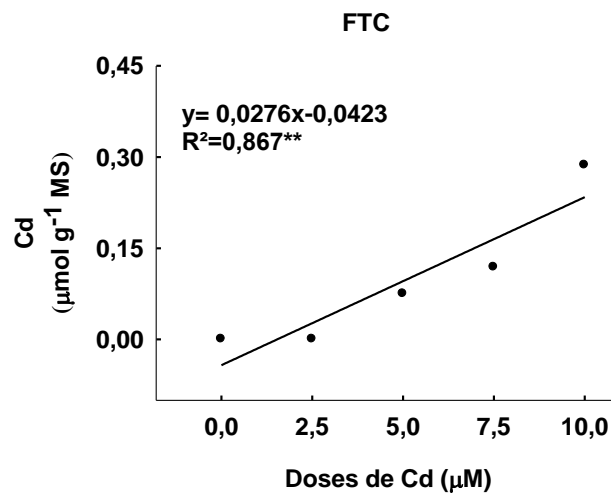


Figura 7. Fator de translocação para o caule (FTC) em plantas de girassol cultivadas por sete dias em casa de vegetação, expostas a doses crescentes de cádmio na solução nutritiva.

A bioconcentração de Cd do genótipo H-250 do girassol foi tanto menor quanto maior a concentração de exposição, Figura 8. As plantas expostas a menores doses de Cd foram mais saudáveis e apresentaram menor desequilíbrio nutricional. A bioacumulação de Cd na raiz e na folha reduziu com o aumento da concentração de exposição das plantas ao Cd. Esses resultados foram diferentes dos encontrados para o caule onde o FB do Cd aumentou linearmente com o aumento das doses de exposição da planta ao metal na solução, Figura 8.

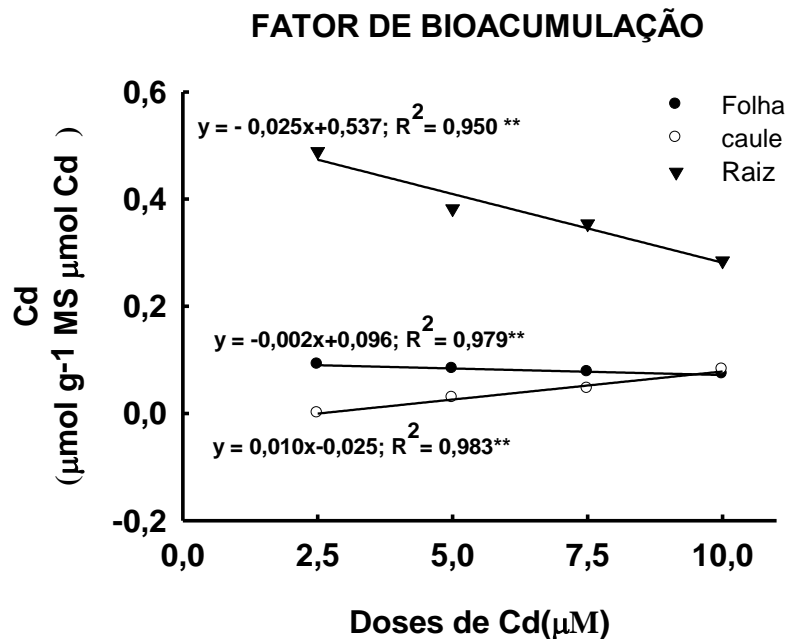


Figura 8. Fator de bioacumulação em plantas de girassol cultivadas por sete dias em casa de vegetação, expostas a doses crescentes de cádmio na solução nutritiva.

### ***Cádmio e nutrição do girassol***

A aplicação de doses crescentes de cádmio aumentou a concentração dos macronutrientes primários N e K nas folhas do girassol. Não houve efeito de concentração desses nutrientes com a redução do crescimento das plantas. Em contraste, a concentração do Mg diminuiu na folha e na raiz, com a concentração de Cd, Figuras 9 e 10. O Mg, metal que ocupa o centro da molécula de clorofila, foi o único macronutriente cuja a concentração na folha apresentou resposta quadrática negativa. Os teores de cálcio nas folhas não alteraram com as doses de Cd e foi em média  $0,285 \text{ mmol Ca g}^{-1} \text{ MS}$ . O teor de P nas folhas de girassol aumentou cerca de  $0,010 \text{ mmol P g}^{-1} \text{ MS}$  por Cd enquanto o teor de potássio aumentou  $0,053 \text{ mmol g}^{-1} \text{ MS}$  por unidade de Cd na solução hidropônica. Comparado com o controle, o aumento do teor de N na folha variou de 1,1 % ( $2,5 \text{ } \mu\text{M Cd}$ ) a 11,7 % ( $5,0 \text{ } \mu\text{M Cd}$ ); a concentração de P aumentou entre 10 % ( $2,5 \text{ } \mu\text{M Cd}$ ) e 49 % ( $7,5 \text{ } \mu\text{M Cd}$ ); e o K aumentou entre 36 % ( $2,5 \text{ } \mu\text{M Cd}$ ) e 56 % ( $10,0 \text{ } \mu\text{M Cd}$ ). A redução de Mg nas folhas variou de 9 % ( $10,0 \text{ } \mu\text{M Cd}$ ) a 16 % ( $2,5 \text{ } \mu\text{M Cd}$ ); e a redução de Ca reduziu entre 6 % ( $10,0 \text{ } \mu\text{M Cd}$ ) e 13 % ( $2,5 \text{ } \mu\text{M Cd}$ ).

O teor de potássio na raiz de girassol aumentou de forma linear ( $K = 0,0026x + 1,426$   $R^2 = 0,725$ ) com o aumento de Cd na solução hidropônica. Semelhante ao comportamento na folha, a concentração de Mg na raiz ( $Mg = -0,006x + 0,109$   $R^2 = 0,567$ ) reduziu com o aumento da concentração de Cd na solução nutritiva, Figura 10. O teor médio de N ( $2,827 \text{ mmol N g}^{-1} \text{ MS}$ ), P ( $0,337 \text{ mmol P g}^{-1} \text{ MS}$ ) e Ca ( $0,109 \text{ mmol g}^{-1} \text{ MS}$ ) na raiz do girassol não alterou com a concentração de Cd na solução hidropônica.

Com relação ao controle, houve a redução do teor de Mg (9 % a 16 %) na raiz com as doses de Cd na solução. Em contraste a concentração de K (12 % a 23 %) na raiz aumentou com relação ao controle, Figura 10. O teor de Ca, N na raiz não sofreu alteração significativa.

No caule o Mg e o fósforo aumentaram ( $0,334x^2 - 2,00x + 41,25$   $R = 0,88^{**}$ ;  $2,347x + 33,46$   $R = 0,88^{**}$ ) com a concentração de Cd em solução. Não houve alteração nos teores de K no caule das plantas expostas ao Cd quando comparado ao controle, que apresentaram em média  $506,58 \text{ mmol K g}^{-1} \text{ MS}$ .

## FOLHAS

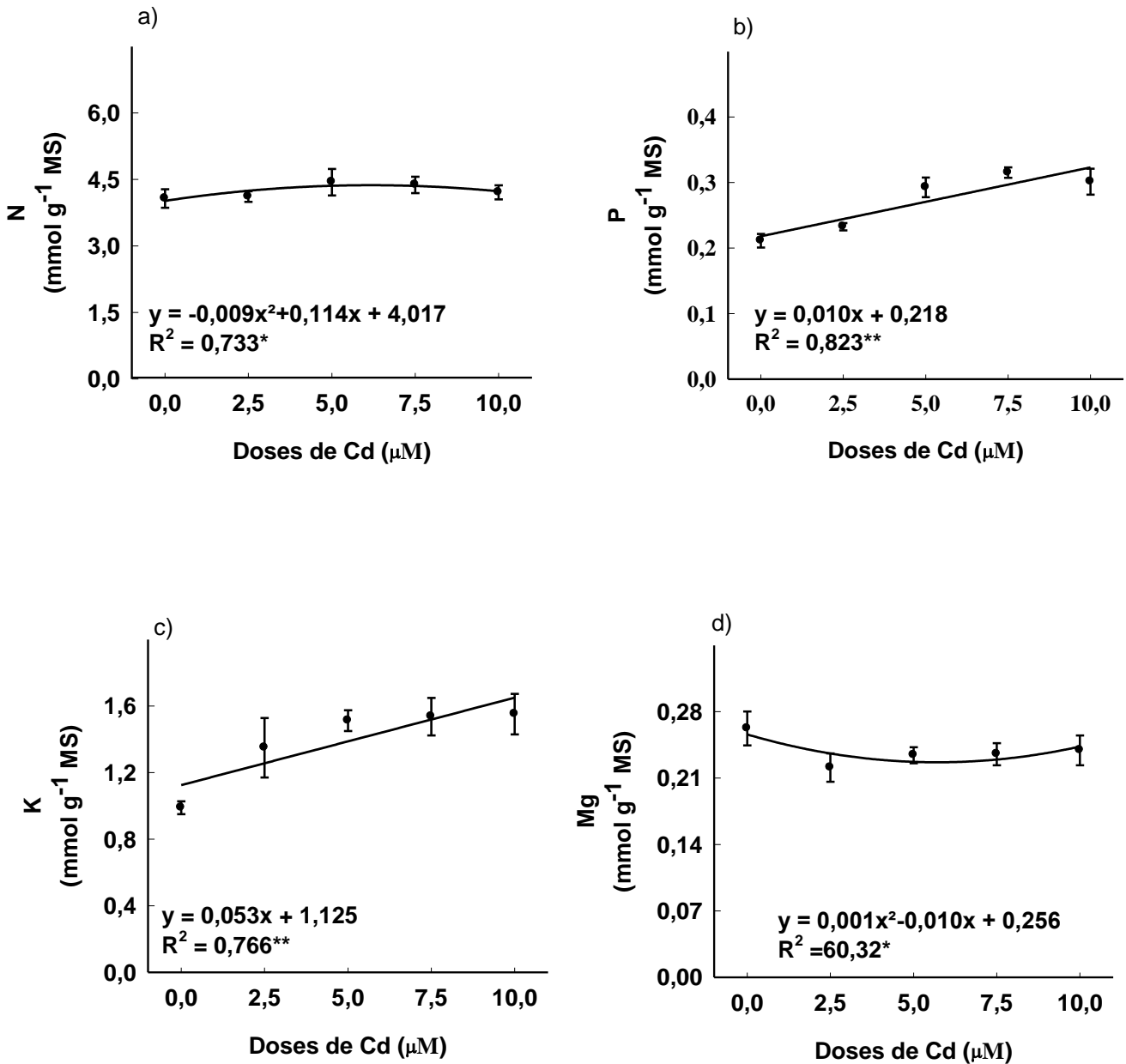


Figura 9. Macronutrientes (N, P, K, e Mg) em plantas de girassol cultivadas por sete dias em casa de vegetação, expostas a doses crescentes de cádmio na solução nutritiva.

## RAÍZES

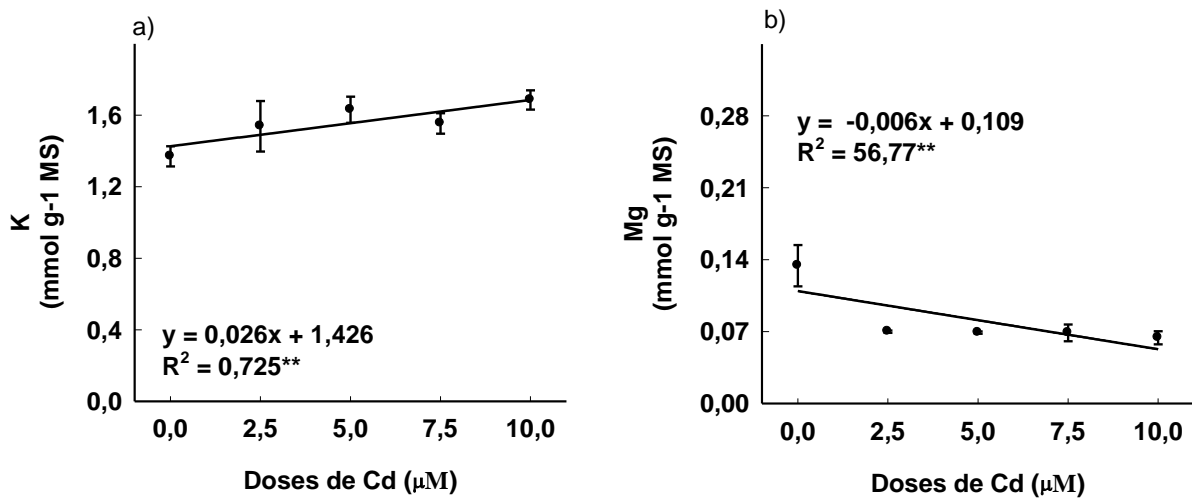


Figura10. Teores de potássio e magnésio na raiz do girassol cultivado por sete dias em casa de vegetação, exposto a doses crescentes de cádmio na solução nutritiva.

Entre os micronutrientes avaliados o Fe foi o que apresentou a maior redução nas folhas ou seja 0,497 μmol para cada unidade de Cd adicionado (Figura 11). A clorose apresentada nas folhas de girassol apresenta grande possibilidade de estar relacionada à deficiência desse elemento que é indispensável para fotossíntese. O teor de Fe nas raízes não alterou com as doses e foi em média 20,39 μmol Fe g<sup>-1</sup> MS. Quando comparado com o controle a adição de doses crescentes de Cd reduziu o teor de Fe na folha entre 67 % (2,5 μmol Cd) a 85 % (10,0 μmol Cd). A redução de Fe no caule e na raiz foi 42 % a 74 % menor nos tratamentos com Cd do que no controle.

Os teores de Mn nas folhas também foram bastante influenciados pela exposição das plantas ao Cd. A Figura 10 mostra a redução linear de 35% de Mn nas folhas a 10 μmol Cd comparado com o controle. Ou seja, a concentração de Cd nas folhas teve um efeito antagônico ao das concentrações de Fe e Mn nas folhas.

A concentração de Zn na folha aumentou linearmente (0,036 μmol Mn g<sup>-1</sup> MS) com o aumento de Cd na solução (Figura 10). Na menor concentração de cádmio houve um incremento de 56% de Zn nas folhas em relação ao controle e na concentração mais elevada de cádmio o aumento chegou a 67 % comparado ao controle.



A concentração de cobre na raiz aumentou linearmente ( $0,075 \mu\text{mol Mn g}^{-1} \text{MS}$ ) com a concentração de cádmio chegando a mais de 100% na concentração mais elevada deste elemento em solução comparado ao controle. O aumento dos teores de Cu nas raízes não foi acompanhado de uma redução nos teores das folhas. Os teores de Mn e Zn na raiz reduziram ( $0,760 \mu\text{mol Mn g}^{-1} \text{MS}$  e  $0,020 \mu\text{mol Mn g}^{-1} \text{MS}$ ) linearmente com o aumento de Cd, Figura 11.

### FOLHAS

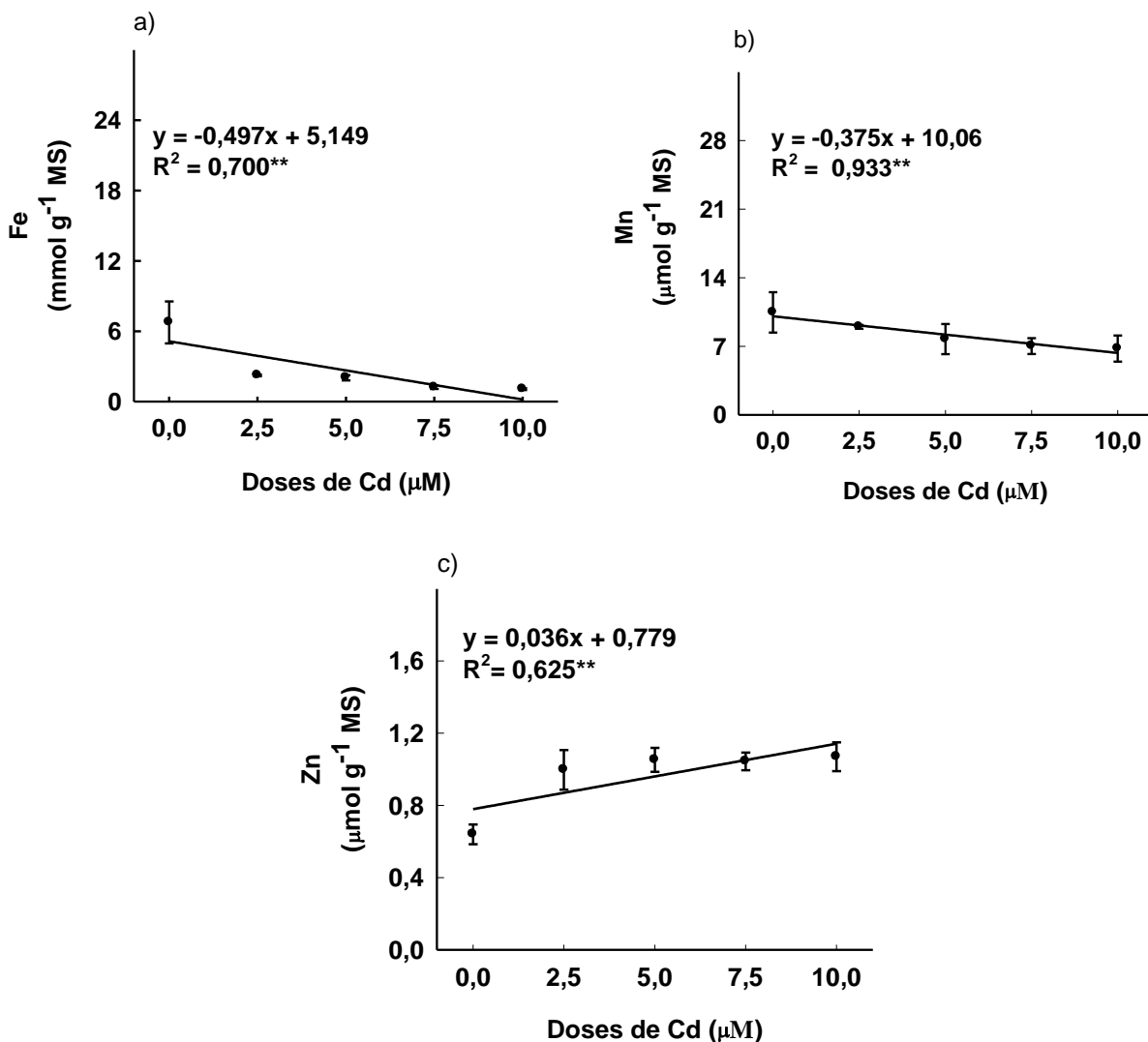


Figura11. Micronutrientes (Fe, Mn,Zn) em plantas de girassol cultivadas por sete dias em casa de vegetação, expostas a doses crescentes de cádmio na solução nutritiva.

## RAIZES

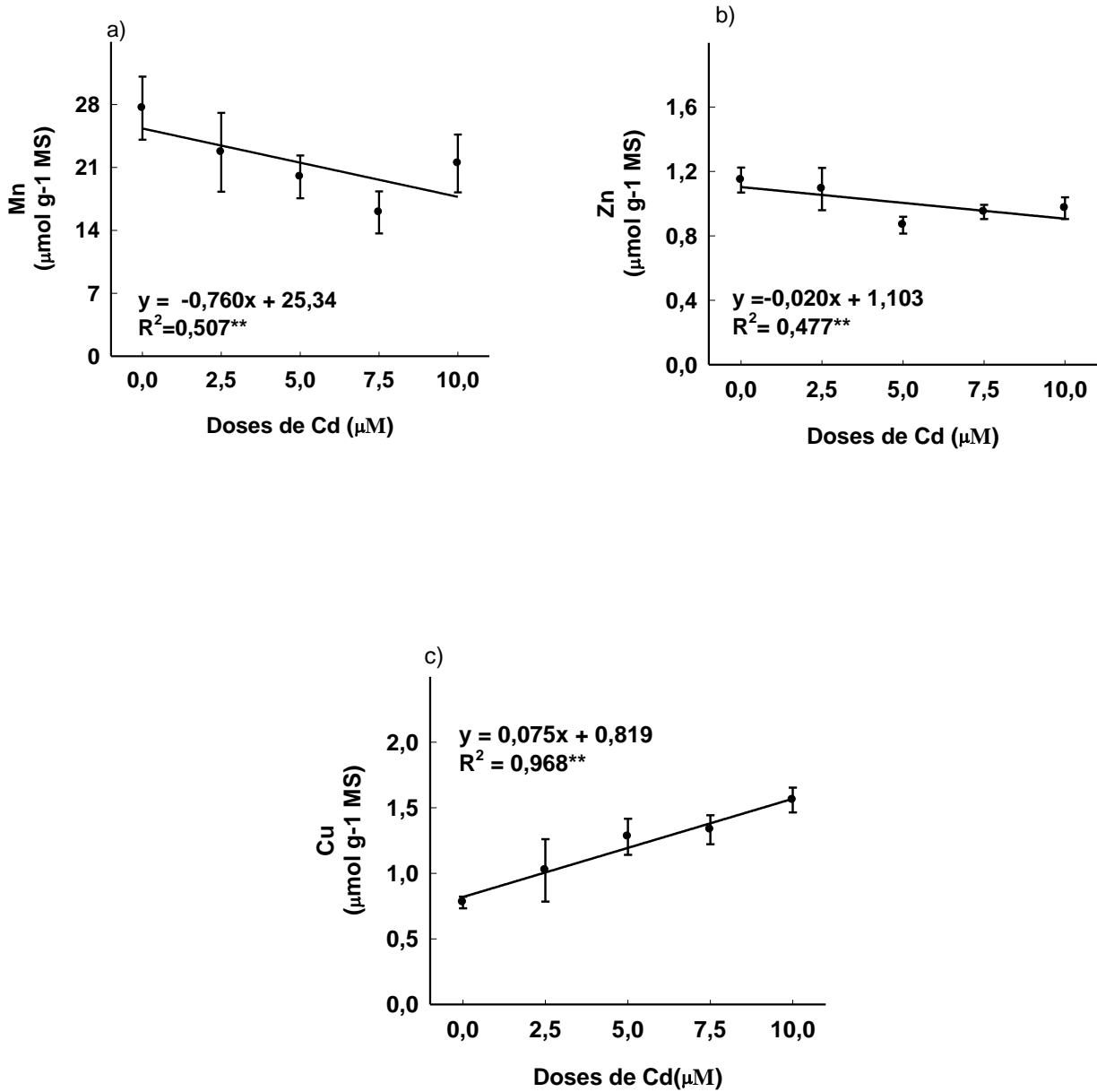


Figura 12. Micronutrientes (Mn, Zn e Cu) em plantas de girassol cultivadas por sete dias em casa de vegetação, expostas a doses crescentes de cádmio na solução nutritiva.

A concentração de Fe no caule, na dose mais elevada de cádmio foi 42% menor do que no tratamento controle, enquanto a concentração de Zn no caule aumentou 30%. O teor de Mn no caule não alterou com o aumento de Cd em solução, quando comparado ao controle.

## **Discussão**

### ***Efeito do Cadmio no Crescimento do Girassol***

Estudos com girassol mostram que o cádmio afeta negativamente o crescimento das plantas (Zou et al., 2008; Chaves et al., 2011). A redução de crescimento do caule e da planta como um todo pode ser atribuída a redução da área foliar, aumento da clorose e necrose nas folhas e pela redução do sistema radicular das plantas. Tais sintomas são reflexos da concentração e distribuição de cádmio na planta e das interações desse elemento junto ao complexo de troca nas raízes do girassol. O efeito inibitório do Cd no crescimento de raízes é atribuído, em parte, à redução da mitose, danos no aparelho de Golgi, a síntese reduzida de componentes de parede celular e alterações no metabolismo de polissacarídeo. Em espécies como o milho (Pál et al., 2006), a presença do Cd não parou a divisão celular mas inibiu o alongamento das células (Vassilev & Yordanov 1997; Lux et al., 2010).

### ***Concentração e distribuição de Cadmio na planta***

A capacidade de retenção de Cd nas diferentes partes da planta está relacionada ao complexo sistema que envolve adsorção, quelação e compartimentalização, limitando a translocação de Cd da raiz para a parte aérea (Nocito et al., 2011). As raízes servem de barreira contra a translocação do Cd para a parte aérea, pela imobilização de íons tóxicos na parede celular (Single et al., 2008).

A partição do Cd na planta variou com a concentração de exposição do girassol ao contaminante. Quando a concentração de exposição de Cd a planta é

não tóxica ou baixa, o elemento absorvido particiona na raiz e na folha. A retenção do Cd no caule do girassol aumentou com o nível de exposição das plantas ao contaminante. A absorção do Cd compete com elementos essenciais pelos transportadores de membrana. O aumento da concentração de Cd na solução nutritiva aumentou a competitividade de absorção de Cd em relação a absorção de Fe, Mn e Ca pelos transportadores.

As raízes são os órgãos da planta em contato direto com os íons do solo. Através do transporte apoplástico, o Cd passa do solo para interior da planta onde é acumulado (Drażkiewicz et al., 2003; Lux et al., 2010). O apoplasto é uma região adensada de cargas negativas devido à presença de grupos carboxílicos de pectinas (Guimarães et al., 2008). Por apresentar uma alta capacidade de troca catiônica, o apoplasto é fundamental à retenção de cátions como  $\text{Cd}^{2+}$ . Provavelmente, o principal mecanismo atuante na retenção de cádmio na raiz do girassol é o seqüestro para o vacúolo por meio de fitoquelatinas que permite armazenamento de grandes quantidades de Cd aliado a retenção em grupos funcionais no apoplasto cuja contribuição para retenção de Cd pode ser variável. No caso de um aumento anormal de cobre na raiz a contribuição do apoplasto na retenção do cádmio pode aumentar, uma vez que o cobre e o cádmio competem para acumulação nos vacúolos das células da raiz.

No presente estudo, ficou demonstrado que o caule também tem um papel fundamental na distribuição do elemento com o aumento das concentrações de exposição do Cd. Quanto maior a concentração de exposição maior foi a quantidade de Cd retido na raiz e menor a transferência do elemento para as folhas. Eventos bioquímicos ou fisiológicos, como o transporte de Cd para os vacúolos, que controlam a homeostase do íon metálico-sistêmico, tornam-se limitantes à translocação quando em concentrações crescentes de Cd (Nocito et al., 2011). Esse fato também explica a menor bioacumulação de Cd com o aumento da concentração de Cd (Figura 8). Quando exposta a baixa concentração ( $\leq 2,5 \mu\text{M}$  Cd), a translocação do elemento do caule para as folhas ocorreu com mais facilidade do que em concentração mais alta. Essa tendência também foi relatada por Lin et al. (2003) e López-Millán et al. (2009) em plantas de tomate e girassol.

Nesse estudo não foi encontrado nenhuma relação entre estresse da planta ao Cd e alteração da suculência foliar do girassol. No entanto, a relação entre o estresse hídrico e a suculência foliar tem sido demonstrada em outros estudos de fisiologia de plantas (Shi & Cai, 2008). A manutenção da suculência foliar observada nesse estudo pode ser uma característica do genótipo do girassol usado nesse estudo.

### ***Efeito do Cd na nutrição***

Diversos estudos mostram que a toxidez por cádmio causa deficiência nos teores de macro e micronutrientes (Ciecko et al., 2004, López-Millán et al., 2009, Sarwar et al., 2010; Dias et al., 2012) devido a inibição de canais iônicos e a competição de Cd pelos mesmos transportadores nas membranas plasmáticas radicular (Sarwar et al., 2010), também pode ser a causa da redução da absorção de cátions (Dias et al., 2012, Nazar et al., 2012) com o aumento da concentração de Cd na solução.

Os aumentos de concentração de N, P e K observados na folha de girassol obtido nesse estudo diferem de dados encontrados em outros estudos que relatam decréscimo das concentrações de nitrogênio na planta sob estresse por cádmio (Guimarães et al., 2008; López-Millán et al., 2009). O aumento no teor de N pode ser resultado de um mecanismo complexo de absorção do elemento pelas raízes e das sinergias e antagonismos de elementos como o potássio, fósforo e até microelementos (Ciecko et al., 2004).

O metabolismo do nitrogênio é importante na síntese de proteínas e clorofila, é fundamental na resposta das plantas ao cádmio. O N aumenta a polarização da membrana, o conteúdo de proteína, a troca de cátions, a biossíntese de lipídios, a biomassa da planta, diminui o P-rizosférico e, diminui a translocação do Cd (Sarwar et al., 2010). No presente estudo verificou-se que o aumento na concentração de N nas folhas do girassol não foi devido a efeito de concentração desse nutriente com a redução do crescimento da planta. Estudos têm demonstrado a existência de interações antagônicas entre o  $\text{N-NH}_4^+$  e o  $\text{Cd}^{2+}$  e interações sinérgicas entre o N na forma de  $\text{NO}_3^-$  e Cd. Como o  $\text{NO}_3^-$  é responsável por cerca de 50% do total de ânions absorvidos pelas plantas, é provável que o aumento da concentração de N

na planta, deva ter ocorrido na forma de  $N-NO_3$  para balancear as cargas elétricas da planta, interferindo dessa forma na regulação e absorção de outros nutrientes. O  $N^-$  além de ser um nutriente essencial, regula a arquitetura da raiz, e interfere na regulação da absorção de muitos nutrientes (Luo et al., 2012). Plantas nutridas com  $NO_3^-$  acumulam Cd nas raízes devido a mecanismos de desintoxicação (Sarwar et al., 2010).

A absorção de P influencia a biomassa da planta, reduz a quantidade de Cd livre na planta pela formação de fosfato de Cd e aumenta a superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e a atividade da catalase (CAT) aumenta, o fosfato insolúvel de Cd (Sarwar et al., 2010). A adição de doses crescentes de cádmio na solução nutritiva aumentou o teor de P nas folhas em até 49% quando comparada ao controle. No caule, o aumento de foi de 2, 347  $mm P g^{-1} MS \mu M Cd$ . Resultado similar foi encontrado em estudo com plantas de cedro (Paiva et al., 2001). A maior absorção de P pelas plantas de girassol pode ter ajudado a reduzir os efeitos do Cd por meio do seu seqüestro no vacúolo e na parede celular (Zhimin et al., 1999; Belleghem et al., 2006).

O potássio é o principal regulador iônico importante na manutenção do pH no citoplasma e nos cloroplastos (Meurer 2006). O conteúdo de potássio em plantas expostas a ambientes contaminados por cádmio pode ser maior ou menor, dependendo da espécie de planta e do órgão avaliado (Ciećko et al., 2004). A aplicação de doses crescente de cádmio aumentou a concentração de K nas folhas do girassol em 20% a 5  $\mu M Cd$ , no caule não houve alteração na concentração deste elemento. A manutenção de potássio nas folhas do girassol deve ter favorecido a regulação do turgor e abertura dos estômatos das folhas do girassol em doses de Cd mais elevadas, contribuindo dessa forma para regulação do potencial osmótico das folhas, controle das trocas gasosas e relações hídricas da planta durante o estresse.

Os resultados obtidos para K nesse estudo diferem aos obtidos por Simon (1998) com girassol, por Paiva et al.,(2001) com cedro e por Ciećko et al., (2004) com milho, onde se verificou uma redução nos teores de K. No estudo com plantas de cedro e milho foi observado que o tempo de exposição das mudas ao cádmio, a idade das plantas e as doses foram superior a do presente estudo. O efeito da

concentração tem sido relatado em outros estudos influenciando a absorção de K (Hansa et al, 2009).

O teor de Mg nas raízes e folhas de girassol reduziu com a dose de cádmio adicionada enquanto que no caule o Mg aumentou  $0,334 \text{ mm Mg g}^{-1} \text{ MS } \mu\text{M Cd}$ . As folhas e raízes são os órgãos metabolicamente mais importantes para a planta. A redução de Mg na folha foi pequena e a  $2,5 \mu\text{M Cd}$ . O aumento de Mg no caule torna-se importante na transfência do elemento para as folhas e manutenção dos processos metabólicos. O magnésio é um elemento fundamental no metabolismo da planta, a redução da concentração de Mg nas folhas de girassol possivelmente afetou enzimas fosforilativas que apresentam como co-fator o Mg, como a carboxilase da rubisco que atua na regeneração da rubisco (Vitti et al., 2006). O Mg é o maior ativador enzimático da célula e elemento ponte para agregação das subunidades dos ribossomos e importante para formação da clorofila (Marschner, 1995).

O teor de cálcio na raiz e nas folhas do girassol foi relativamente constante nas diferentes doses de Cd. O cálcio é um elemento fundamental na manutenção da integridade celular, pois a maioria das funções do Ca estão ligadas à composição estrutural de macromoléculas e relacionadas à sua capacidade de coordenação, principalmente nas paredes celulares e na membrana plasmática (Vitti et al., 2006). Em estudos com tomate, López-Millán et al., (2009) e; Haouari et al., (2012) também não encontraram alterações de Ca nas raízes a  $10 \mu\text{M Cd}$ . Cálcio e Cd competem pelos os mesmos canais de transporte de Ca nas raízes.

O cádmio influencia no teor de micronutrientes de diversas plantas (Sandalio et al., 2001, Azevedo et al., 2005, Skrebsky 2008). Dos micronutrientes o Fe foi que apresentou maior redução, 84,4% nas folhas, seguido de 42% no caule sem alterações significativas nas raízes. Como obtido no nosso trabalho, tem sido relatado na literatura (Pál et al., 2006) que os sintomas mais perceptíveis do estresse causado por cádmio são a clorose foliar e a inibição do crescimento das plantas. A clorose observada, principalmente nas folhas mais novas, deve ser atribuída ao efeito direto do Cd na biossíntese de clorofila na qual o Fe é um elemento chave como catalizador (Benavides et al., 2005). O Fe catalisa a biossíntese de clorofila, a conversão do Mg protoporfirina em protoclorofila e o efeito

mais característico da sua deficiência é a incapacidade de folhas jovens sintetizar clorofila, tornando-se cloróticas (Marschner, 1995). A clorose apresentada nas folhas de girassol observada nesse estudo foi atribuída à deficiência do ferro na folha do girassol, desde que os teores de N na folha ou se mantiveram ou aumentaram com o aumento da dose de Cd. O Fe também tem um papel destacado na ativação de enzimas, atuando como grupo prostético. Participa em reações fundamentais de oxiredução, tanto em hemoproteínas como citocromos, leghemoglobina, catalase, peroxidase, superóxido dismutase; como em proteínas não-hemicas com ligação Fe-S, como ferredoxina e enzima redutase, nitrogenase redutase e sulfato redutase (Benavides et al., 2005; Dechen & Nachtigall, 2006). O efeito do Cd na clorose foi maior em doses igual ou superior a 2,5  $\mu\text{M}$  de Cd, faixa de concentração onde as concentrações de Fe na folha atingiram as concentrações mais baixas. A junção dos efeitos do Cd na clorose, necrose e área foliar contribuiu para reduzir a atividade fotossintética da planta as quais teve efeito no crescimento do girassol.

Na literatura tem sido relatados efeitos antagônicos, e sinérgicos entre o Cd e o Mn (Sarwar et al. 2010). No presente estudo os dois elementos tiveram efeitos antagônicos. O teor de Mn nas folhas reduziu linearmente, e nas raízes, quadraticamente, com a dose de exposição do Cd. A deficiência de Mn influencia o conteúdo de carboidratos não-estruturais, sendo essa diminuição particularmente evidente nas raízes (Dechen & Nachtigall, 2006). O Mn participa do fotossistema II, sendo responsável pela fotólise da água, interferindo dessa forma no fluxo de elétrons para a produção de ATP e NADPH para fixação de  $\text{CO}_2$  na fase bioquímica (Marschner, 1995). O Mn também atua na restauração da estrutura da clorofila (Sarwar et al. 2010).

O Zn é um nutriente importante na manutenção de biomembranas. Os íons de Cd tendem a competir com os íons de Zn para acumulação na parte aérea da planta (Nocito et al., 2011). O Zn atua como co-fator enzimático e é essencial para a atividade, regulação e estabilização da estrutura protéica; constituinte (estrutural) de enzimas desidrogenases, como álcool, lactato, malato e glutamato desidrogenase; amilase proteinases, peptidases e fosfohidrogenase, superóxido dismutase; e anidrase carbônica (Dechen & Nachtigall 2006, Guimarães et al., 2008).



A redução da capacidade de absorção de cátions como Fe, Mg, Mn e Zn pelo Cd deve ser atribuído à competição pelos ânions presente no apoplastos em grupos carboxílicos de pectinas. O ferro é Co-factor de enzimas antioxidantes (CAT e APX), compete com Cd pelos mesmos transportadores de membrana. O manganês também compete pelos mesmos transportadores de membranas, restaura os danos a estrutura da clorofila e aumenta a produção de biomassa (Sarwar et al., 2010).

O Cd induz um aumento no teor radicular de Cu em diferentes espécies, porém, inibe seu transporte para a parte aérea (Obata e Umebayashi, 1997). Essa inibição do transporte de cobre para aérea pode estar relacionado com a toxidez desse elemento nas folhas, que pode resultar na peroxidação lipídica e destruição de membranas (Marschner, 1995). O aumento de Cu nas raízes do girassol no presente estudo pode ter contribuído para o aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS) através de reações Fenton que inclui oxidação do oxigênio molecular, oxidação do metal de transição, redução do metal de transição e formação de  $\text{HO}^\bullet$  e  $\text{HO}^-$ . As ROS inibem o crescimento da planta e impedem importantes processos celulares, causando danos ao DNA, lipídios, proteínas e outras biomoléculas (Yruela, 2005). De acordo com Paiva et al. (2001) a aplicação de doses crescentes de Cd em plantas de Cedro aumentou, de forma linear, o teor radicular de Cu, enquanto o teor foliar foi decrescente. A exposição de Cd ao tomate e ervilha também aumentou o teor de cobre na raiz (Sandálio et al., 2001; López-Millán et al., 2009).

O aumento de Zn e a estabilização do cobre nas folhas favorecem o mecanismo de defesa da planta pela formação de CuZn-SOD nas folhas. Já a redução do Mn provoca a redução de enzimas antioxidativas específicas.

### **Considerações finais**

A exposição do girassol a doses crescentes de cádmio reduziu a biomassa das diferentes partes da planta (folha, caule e raiz), mas não alterou a turgidez da planta. A redução do crescimento da planta deveu-se a redução da área foliar e aumento de clorose e necrose nas folhas das plantas devido as baixas concentrações de Fe e Mn na folha. O girassol apresentou redução da MSR associado deficiência Mn. A exposição do girassol a doses crescentes de Cd aumentou a partição do elemento no caule. O cádmio se concentrou preferencialmente nas raízes.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKHTER, M.F & SHEILA, MACFIE, M. 2012. Species-specific relationship between transpiration and cadmium translocation in lettuce, barley and radish. **J. Plant Studies**, 1(1): 1-13.

BELLEGGHEM, F.V; CUYPERS, A; SEMANE, B; SMEETS, K; VANGRONSVELD, J; D'HAEN, J AND VALCKE,R. 2007. Subcellular localization of cadmium in roots and leaves of *Arabidopsis thaliana*. **New Phytol.**, 173(3): 495-508.

BENAVIDES, M.P; GALLEGO, S.M & TOMARO, M.L. 2005. Cadmium toxicity in plants. **Braz. J. Plant Physiol.**, 17(1): 21-34.

CHAVES, L.H.G; ESTRELA, M.A AND SOUZA, R.S DE. 2011. Effect on plant growth and heavy metal accumulation by sunflower. **J. Phytol.**, 3(12): 04-09.

CAPONE, A; SANTOS, E.R DOS; FERRAZ, E.C; SANTOS, A.F DOS; OLIVEIRA, J.L E BARROS,H.B. 2012. Desempenho agronômico de cultivares de girassol no sul do Estado de Tocantins. **J. Biotechnol. Biodiversity**, 3 (3):13-23.

CIÉCKO, Z; KALEMBASA, S; WYSZKOWSKI, M; AND ROLKA, E. 2004. Effects of soil contamination by cadmium on potassium uptake by planta. **Polish. J. Environ. Stud.**, 13(3): 333-337.

CIECKO, Z; KALEMBASA, S; WYSZKOWSKI, M; ROLKA, E. 2004.The effect of elevated cadmium content in soil on the uptake of nitrogen by plants. **Plant Soil Environ.**, 50 (7): 283-294

DAS, P; SAMANTARAY, S; ROUT, G.R. 1997. Studies on cadmium toxicity in plants: a review. **Environ. Pollut.**, 98(1): 29-36.

DECHEN, A.R & NACHTIGALL, G.R. **Micronutrientes**. 2006. In: Fernandes, M.S; ed. Nutrição mineral de plantas. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 1: 328-352.

DONG, J; MAO, W.H; ZHANG, G.P; WU, F.B; CAI, Y. 2007. Root excretion and plant tolerance to cadmium toxicity – a review. **Plant Soil Environ.**, 53 (5): 193-200.

DRAKIEWICZ, M; TUKENDORF, A AND BASZYŃSKI, T. 2003. Age dependent response of maize leaf segments to cadmium treatment: effect on chlorophyll fluorescence and phytochelation accumulation. **J. Plant Physiol.**, 160:247-254

FAO. Food and agriculture organization of the United Nations. 2012. Banco de dados. [http://www.fao.org/nr/water/cropinfo\\_sunflower.html](http://www.fao.org/nr/water/cropinfo_sunflower.html)

FINGER-TEIXEIRA, A; FERRARESE, M.L.L; SOARES, A.R; SILVA, D; FERRARESE-FILHO, O. 2010. Cadmium-induced lignification restricts soybean root growth. **Ecotoxicol. Environ. Safety**, 73(8):1959-1964.

GAJDOS, E; LÉVAI, L; VERES, S AND KOVÁCS, B. 2012. Effects of biofertilizers on maize and sunflower seedlings under cadmium stress. **Commun. Soil Sci. Plant Anal.**, 43(1-2): 272-279.

GHANI, A. 2010. Effect of cadmium toxicity on the growth and yield components of mungbean [*Vignaradiata (L.)Wilczek*]. **World Appl. Sci. J.**, 8: 26-29.

GUIMARÃES, M.A; SANTANA, T.A; SILVA, E.V; ZENZEN, I.L; LOUREIRO, E. M. 2008. Toxicidade e tolerância ao cádmio em plantas. **Rev. Tróp.**, 1(3): 58-68.

HAMMAMI, S.S; CHAFFAI, R; FERJANI, E.E. 2004. Effect of cadmium on sunflower growth, leaf pigment and photosynthetic enzymes. **Pak. J. Biol. Sci.**, 7: 1419-1426.

HAOUARI, C.C; NASRAOUI, A.H; BOUTHOUR,D; HOUDA, M.D; CHIRAZ BEN DAIEB, C.B; MNAI, J AND GOUIA, H. 2012. Response of tomato (*Solanum lycopersicon*) to cadmium toxicity: Growth, element uptake, chlorophyll content and photosynthesis rate. **Afr. J. Plant Sci.**, 6(1):1-7.

HASAN, S.A; FARIDUDDIN, Q; ALI, B; HAYAT, S; AHMAD, A. 2009. Cadmium: toxicity and tolerance in plants. **J. Environ. Boil. Acad. Environ. Biol. India**, 30(2): 165-174.

LIN, J.X; JIANG, W.S AND LIU, D.H. 2003. Accumulation of copper by roots, hypocotyls, cotyledons and leaves of sunflower (*Helianthus annuus*L.). **Bioresource Technol.**, 86: 151-155.

LÓPEZ-MILLÁN, A; SAGARDOY, R; SOLANAS, M; ABADÍA, A; ABADÍA, J. 2009. Cadmium toxicity in tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants grown in Hydroponics. **Environ. Exp. Bot.**, 65: 376-385.

LUO, B.F; DU, S.T; LU, K.X; LIU, W.J; LIN, X.Y AND JIN, C.W. 2012. Iron uptake system mediates nitrate-facilitated cadmium accumulation in tomato (*Solanum lycopersicum*) plants. **J. Exp. Bot.**, 63 (8): 3127-3136.

LUX, A; MARTINKA, M; VACULÍK, M AND WHITE, P.J. 2010. Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review. **J. Exp. Bot.**, 1-17.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. 1989. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Potafos, 201p.

MANTOVANI, A. 1999. A method to improve leaf succulence quantification. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, 42(1): 0-0.

MARSCHNER, H. 1995. **Mineral nutrition of higher plants**. 2.ed. New York: Academic Press,.889p.

MEURER, E.J. **Potássio**. 2006. In: Fernandes, M.S., ed. Nutrição mineral de plantas. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo 1: 282-298.

NAZAR, R; IQBAL, N; MASOOD, A; KHAN, M.I.R; SYEED, S; KHAN, N.A. 2012. Cadmium toxicity in plants and role of mineral nutrients in its alleviation. **American Journal of Plant Sciences**, 3:1476-1489.

NOCITO, F.F; LANCILLI, C; DENDENA, B; LUCCHINI, B & SACCHI, G. 2011. Cadmium retention in rice roots is influenced by cadmium availability chelation and translocation. **Plant, Cell and Environment**, 34: 994-1008.

OBATA, H; UMEBAYASHI, M. 1997. Effects of cadmium on mineral nutrient concentrations in plants differing tolerance for cadmium. **J. Plant Nutr.**, 20 (1): 97-105.

PAIVA, H.N DE; CARVALHO, J.G DE; SIQUEIRA, J.O. 2001. Effect of the cadmium application on nutrients content in cedro (*Cedrela fissilis* VELL.) seedlings. **Ciência Florestal**, Santa Maria, 11 (2): 153-162.

PAL, M., E. HORVATH, T. JANDA, E. PALDI AND SZALAI, G 2006. Physiological changes and defense mechanisms induced by cadmium stress in maize. **J. Plant Nutr. Soil Sci.**, 169: 239-246

PRADO, R.M & LEAL, R.M. 2006. Desordens nutricionais por deficiência em girassol var. Catissol-01. **Pesq. Agrop. Tropical**, 36 (3): 187-193.

PRASAD, M.N.V. 1995. Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants. **Environ. Exp. Bot.**, 35(4): 525-545.

REDJALA, T; STERCKEMAN, T AND MOREL, J.L. 2010. Determination of the different components of cadmium short-term uptake by roots. **J. Plant Nutr. Soil Sci.**, 173: 935-945.

REDJALA, T; STERCKEMAN, T, MOREL, J.L. 2009. Cadmium uptake by roots: Contribution of apoplast and of high and low-affinity membrane transport systems. **Environ. Exp. Bot.**, 67: 235-242.

REDJALA, T; ZELKOA, I; STERCKEMAN, T; LEGUEC, V, LUX, A. 2011. Relationship between root structure and root cadmium uptake in maize. **Environ. Exp. Bot.**, 71:241-248.

SANDALIO L.M; DALURZO H.C; GÓMEZ, M; ROMERO-PUERTAS, M.C; DEL RÍO, L. A. 2001. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. **J. Exp. Bot.**, 52(364): 2115-2126.

SARWAR, N; SAIFULLAH, MALHI, S.S; ZIA, M.H, NAEEN, A; BIBI, S; FARID, G. 2010. Role of mineral nutrition in minimizing cadmium accumulation by plants (Review). **J Sci Food Agric**, 90: 925-937.

SHI, G.R., CAI, Q.S. 2008. Photosynthetic and anatomic responses of peanut leaves to cadmium stress. **Photosynthetica**, 46(4): 627-630.

SHEKAR, C.C; SAMMAIAH, D; RAMBABU, M AND . REDDY. K.J. 2011. Effect of cadmium on tomato growth and yield attributes. **J. Microbiol. Biotech. Res.**, 1 (3):109-112.

SIMON, L.1998. Cadmium accumulation and distribution in sunflower plant. **J. Plant Nutrit.**, 21(2), 341.

SMEETS, K; CUYPERS, A; LAMBRECHTS, A; SEMANE, B; HOET, P; LAERVE, AV; VANGRONSVELD, J. 2005. Induction of oxidative stress and

antioxidative mechanisms in *Phaseolus Vulgaris* after Cd application. **J. Plant Physiol. Biochem.**, 43: 437-444.

VASSILEV, A. AND I. YORDANOV. 1997. Reductive analysis of factors limiting growth of cadmium–treated plants: A Review: Bulg. **J. Plant Physiol.**, 23(3-4): 114-133.

VITTI, G.C; LIMA, E & CICARONE, F. 2006. Cálcio, magnésio e enxofre. In: Fernandes, M.S., ed. **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. p.328-352.

YRUELA, I. 2005. Copper in plants. **Braz. J. Plant Physiol.**, 17:145-146.

ZOGLAMI, B. L; DJEBALI, W; ABBES, Z; HEDIJI, H; MAUCOURT, M; MOING, A; BROUQUISSEAND, R; CHAÏBI, W. 2011. Metabolite modifications in *Solanum lycopersicum* roots and leaves under cadmium stress. **Afr. J. Biotechnol.**, 10(4): 567-579.

ZOU, J; XU, P; LU, X, JIANG, W AND LIU, D. 2008. Accumulation of cadmium in three sunflower (*Helianthus Annuus*L.) Cultivars. **Pak. J. Bot.**, 40(2): 759-765.

ZHANG, S; ZHANG, H; QIN, R; JIANG, W; LIU D. 2009. Cadmium induction of lipid peroxidation and effects on root tip cells and antioxidant enzyme activities in *Vicia faba* L. **Ecotoxicology**, 18: 814-823.

ZORRIG, W; SHAHZAD, Z; ABDELLY C; AND BERTHOMIEU, P. 2012. Calcium enhances cadmium tolerance and decreases cadmium accumulation in lettuce (*Lactuca sativa*). **Afr. J. Biotechnol.**, 11(34):8441-8448.

WEATHERBURN, M.W. 1967. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. **Analytical Chemistry**, 39: 971-974.