



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**JESSICA SUELLEN SILVA TEIXEIRA**

**SELÊNIO COMO AMENIZADOR DO ESTRESSE INDUZIDO POR CÁDMIO EM  
MILHO (*Zea mays* L.)**

**BELÉM -PA**  
**2020**

**JESSICA SUELLEN SILVA TEIXEIRA**

**SELÊNIO COMO AMENIZADOR DO ESTRESSE INDUZIDO POR CÁDMIO EM  
MILHO (*Zea mays* L.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como exigência do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção de título de Mestre.

**Área de concentração:** Agronomia.

**Orientador:** Dr. Ricardo Shigueru Okumura

**BELÉM -PA  
2020**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Bibliotecas da Universidade Federal Rural da Amazônia  
Gerada automaticamente mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

T266s Teixeira, Jessica Suellen Silva  
SELÊNIO COMO AMENIZADOR DO ESTRESSE INDUZIDO POR CÁDMIO  
EM MILHO (*Zea mays* L.) / Jessica Suellen Silva Teixeira. - 2020.  
52 f.: il. color.

Dissertação (Mestrado) - Programa de PÓS-GRADUAÇÃO em Agronomia (PPGA),  
Campus Universitário de Belém, Universidade Federal Rural Da Amazônia, Belém, 2020.  
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Shigueru Okumura

1. Crescimento. 2. Fisiologia. 3. Atenuação. 4. Metais pesados.. I. Okumura, Ricardo Shigueru, *orient.* II. Título

---

CDD 631.4

**JESSICA SUELLEN SILVA TEIXEIRA**

**SELÊNIO COMO AMENIZADOR DO ESTRESSE INDUZIDO POR CÁDMIO EM  
MILHO (*Zea mays* L.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção de título de Mestre. Área de concentração: Agronomia.

27/02/2020

**Data da Aprovação**

BANCA EXAMINADORA

---

**Prof. Dr. Ricardo Shigueru Okumura – Orientador**  
**Universidade Federal Rural da Amazônia**

---

**Dr. Waldemar Viana de Andrade Júnior - 1º Examinador**  
**Instituto de Desenvolvimento Florestal e da Biodiversidade do Estado do Pará**

---

**Prof. Dr. Cândido Ferreira de Oliveira Neto - 2º Examinador**  
**Universidade Federal Rural da Amazônia**

---

**Prof. Dr. Glauco André dos Santos Nogueira - 3º Examinador**  
**Universidade Federal Rural da Amazônia**

### **Dedico**

Aos meus pais, Jardel Roge Gomes Teixeira e Leila Cristina dos Santos Silva, por serem meu alicerce.

Às minhas irmãs, Bárbara Teixeira e Keila Teixeira e ao meu namorado, Alyson Carvalho Cardoso, por todo apoio e compreensão.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela dádiva da vida, por me proteger e me iluminar sempre.

Aos meus familiares, meus pais, padrasto, avós, tios e irmãs pelo apoio e incentivo incondicional, pelo carinho, compreensão e por não medirem esforços para me ajudarem a alcançar os meus objetivos.

A minha irmã Keila Beatriz Silva Teixeira, por toda ajuda e apoio.

Ao meu namorado, melhor amigo e companheiro, Alyson Carvalho Cardoso, por toda paciência, apoio, carinho, amor, compreensão, confiança e ajuda durante a realização deste trabalho.

À Universidade Federal Rural da Amazônia, por ter me recebido e me proporcionado dias de aprendizagem, tornando-se minha 2ª casa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de estudo durante o curso de mestrado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pela oportunidade de ingressar no curso de mestrado.

Ao meu orientador o Prof. Dr. Ricardo Shigueru Okumura, pelo aprendizado e orientação.

Aos meus amigos do Grupo de Estudos da Biodiversidade em Plantas Superiores, Diana Souza, Juscelino Palheta, Andressa Paiva, Luciana Sousa, Gerson Albuquerque, Ana Ecídia, Evelyn Souza, Gabriel Monteiro, que não mediram esforços para me ajudar nessa caminhada, de maneira direta ou indireta me ajudaram e me apoiaram, fazendo dos meus dias melhores.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

## RESUMO

O cádmio (Cd) é em um dos metais pesados mais tóxicos que ocorre no meio ambiente, é facilmente absorvido pelas plantas, mesmo em baixas concentrações pode provocar o comprometimento da fotossíntese e a inibição do crescimento. Dentre as alternativas para solucionar os problemas induzidos pela contaminação com Cd, encontra-se o uso de atenuadores como o selênio (Se) que é considerado um elemento benéfico para as plantas, podendo aumentar sua tolerância aos diversos estresses bióticos e abióticos. O objetivo do estudo foi avaliar o efeito do Se sobre o crescimento, os aspectos bioquímicos e as respostas fisiológicas de milho em condições de estresse por Cd. Foram utilizadas sementes de milho híbrido (K9606 VIP 3) tratadas com selenito de sódio ( $\text{Na}_2\text{O}_3\text{Se}$ ) nas concentrações de 0,0; 1,5; 3,0 e 5,0  $\text{mg L}^{-1}$  Se e submetidas a dois diferentes experimentos contendo dosagens de Cd (0,0; 1,3; 3,0 e 4,5  $\text{mg L}^{-1}$ ). No primeiro, foram avaliados: o comprimento da raiz (CR); o comprimento da parte aérea (CPA); a matéria seca da raiz (MSR), a matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca total (MST) e as concentrações de carboidratos solúveis totais (CST), sacarose e prolina em folhas e raízes. No segundo, avaliou-se: a taxa de assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  ( $A$ ); condutância estomática ( $g_s$ ); transpiração ( $E$ ); concentração de  $\text{CO}_2$  intercelular ( $C_i$ ); eficiência instantânea de carboxilação ( $E_iC A/C_i$ ); eficiência instantânea de uso da água (EUA); teores de carotenoides; clorofila  $a$  (Chl  $a$ ),  $b$  (Chl  $b$ ) e total (Chl). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 4, com quatro repetições. A presença de 4,5  $\text{mg L}^{-1}$  Cd reduziu o CR, CPA, MSR, CST,  $A$ ,  $E_iC$ , os teores de Chl  $a$ , Chl  $b$  e Chl e promoveu acréscimos nas concentrações de prolina e sacarose nas raízes e folhas, e nos teores de carotenoides. Em geral, o pré-tratamento com Se antes da exposição ao Cd promoveu aumento no CR, CPA, na produção de MSR e MSPA, amenizou dos efeitos deletérios induzido pelo Cd, através de incrementos nos teores de prolina, sacarose e CST nas folhas, Chl  $a$ , Chl  $b$  e Chl e redução nos carotenoides, principalmente, na dose de 5  $\text{mg L}^{-1}$  de Se.

**Palavra-chave:** Crescimento, fisiologia, atenuação, metais pesados.

## ABSTRACT

Cadmium (Cd) is one of the most toxic heavy metals that occurs in the environment, is easily absorbed by plants, even at low concentrations is able to cause impaired photosynthesis and inhibition of growth. Among the alternatives to solve the problems induced by Cd contamination, there is the use of attenuators such as selenium (Se), which is considered a beneficial element for plants, which can increase their tolerance to various biotic and abiotic stresses. The aim of this study was to evaluate the effect of Se on growth, biochemical aspects and physiological responses of corn under stress conditions by Cd. Hybrid corn seeds (K9606 VIP 3) were treated with sodium selenite ( $\text{Na}_2\text{O}_3\text{Se}$ ) in concentrations of 0.0; 1.5; 3.0 and 5.0  $\text{mg L}^{-1}$  Se and subjected to two different experiments containing Cd dosages (0.0; 1.3; 3.0 and 4.5  $\text{mg L}^{-1}$ ). In the first, the following were evaluated: the root length (RL); the aerial part length (APL); dry root matter (DRM), dry shoot matter (DSM), dry total matter (DTM and concentrations of total soluble carbohydrates (TSC), sucrose and proline in leaves and roots. In the second, it was evaluated: the net  $\text{CO}_2$  assimilation rate ( $A$ ); stomatal conductance ( $g_s$ ); sweating ( $E$ ); intercellular  $\text{CO}_2$  concentration ( $C_i$ ); instant carboxylation efficiency ( $\text{EiC } A / C_i$ ); instant water use efficiency (USA); carotenoid contents; chlorophyll a (Chl a), b (Chl b) and total (Chl). The experimental design was completely randomized in a 4 x 4 factorial scheme, with four replications. The presence of 4.5  $\text{mg L}^{-1}$  Cd reduced RL, APL, DRM, TSC,  $A$ ,  $\text{EiC}$ , the levels of Chl a, Chl b and Chl and promoted increases in the concentrations of proline and sucrose in the roots and leaves and in the levels of carotenoids. In general, the pretreatment with Se before exposure to Cd promoted an increase in RL, APL, in the production of DRM and DSM, mitigated the deleterious effects induced by Cd, through increases in the levels of proline, sucrose and TSC in the leaves, Chl a, Chl b and Chl and reduction in carotenoids, mainly at the dose of 5  $\text{mg L}^{-1}$  of Se

**Keyword:** Growth, physiology, attenuation, heavy metals.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> – Implantação do experimento por meio da disposição das sementes (A), distribuição entre o papel germitest (B), formação dos rolos (C) e acondicionamento em sacos plásticos (D). .....	25
<b>Figura 2</b> - Comprimento da raiz e parte aérea em função das concentrações de cádmio (A e B) e selênio (C e D). .....	28
<b>Figura 3</b> - Massa seca da raiz (A) e massa seca total (B) de plântulas de milho em função da combinação entre os níveis de cádmio e selênio. ....	30
<b>Figura 4</b> – Concentração de prolina nas folhas (A) e raízes (B), concentração de sacarose nas folhas (C) e raízes (D) e concentração de carboidratos solúveis totais nas folhas (E) de plântulas de milho em função das concentrações de cádmio e selênio. ....	33
<b>Figura 5</b> – Distribuição (A) e processo de embebição (B) das sementes de milho com concentrações de selênio. ....	41
<b>Figura 6</b> – Semeadura (A) e primeiro desbaste (B) aos 7 DAS.....	43
<b>Figura 7</b> - Taxa de assimilação líquida de CO <sub>2</sub> – A (A) e eficiência instantânea de carboxilação - A/Ci (B) de plantas de milho em função das concentrações de cádmio. ....	46
<b>Figura 8</b> – Teores de clorofila a (A), clorofila b (B), clorofila total (C) e carotenoides (D) de plantas de milho em função da combinação dos níveis de cádmio e selênio. ....	48

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Resumo da análise de variância em relação ao comprimento da raiz, comprimento da parte aérea e comprimento total de plântulas de milho em função dos níveis de cádmio e selênio.....	27
<b>Tabela 2</b> - Resumo da análise de variância em relação massa seca da raiz, massa seca da parte aérea e massa seca total de plântulas de milho em função dos níveis de cádmio e selênio. ....	29
<b>Tabela 3</b> - Resumo da análise de variância em relação concentrações de prolina, sacarose e carboidratos solúveis totais (CST) em folhas e raízes de plântulas de milho em função dos níveis de cádmio e selênio.....	30
<b>Tabela 4</b> – Atributos químicos do solo utilizado como substrato no experimento <sup>1</sup> . ....	42
<b>Tabela 5</b> - Resumo da análise de variância em relação a taxa de assimilação líquida de CO <sub>2</sub> (A); condutância estomática (gs), transpiração (E), concentração de CO <sub>2</sub> intercelular (Ci), eficiência instantânea de carboxilação (EiC) e eficiência do uso da água (EUA) de plantas de milho em função dos níveis de cádmio e selênio. ....	45
<b>Tabela 6</b> - Resumo da análise de variância em relação aos teores de Clorofila a, b, total e carotenoides de plantas de milho em função dos níveis de cádmio e selênio. ....	46

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- A** – Taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub>
- ALA-desidratase** - ácido δ-aminolevulínico desidratase
- CdCl<sub>2</sub>** – Cloreto de cádmio
- Chl *a*** – Teor de clorofila *a*
- Chl *b*** – Teor de clorofila *b*
- Chl** – Teor de clorofila total
- C<sub>i</sub>** – Concentração de CO<sub>2</sub> intercelular
- COT** – carbono orgânico trocável
- CPA** – Crescimento da parte aérea
- CR** – Crescimento da raiz
- CST** – Carboidratos solúveis totais
- CT** – Crescimento total
- CTC** – capacidade de troca de cátions
- EiC (A/C<sub>i</sub>)** – Eficiência Instantânea de Carboxilação
- DC** – Diâmetro do colmo
- E** – Transpiração
- EBPS** – Estudos da Biodiversidade em Plantas Superiores
- EROS** – Espécies reativas de oxigênio
- EUA (A/E)** – Eficiência instantânea de uso da água
- g<sub>s</sub>** – Condutância estomática
- m%** – saturação por alumínio
- M.O.** – matéria orgânica
- MSPA** – Massa seca da parte aérea
- MSR** – Massa seca da raiz
- MST** – Massa seca total
- Na<sub>2</sub>O<sub>3</sub>Se** – Selenito de sódio
- NF** – Número de folhas
- NPQ** – Coeficiente de extinção não-fotoquímico
- PEPCase** – Fosfoenolpiruvato carboxilase
- pH** – potencial hidrogeniônico
- RuBPCase** - Ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase
- SB** – soma de bases

**Se0** – selênio elementar, seleneto

**Se2** – seleneto

**SeCys** - selenocisteína

**SeMet** – selenometionina

**SeMSC** – selênio-metil-seleno-sisteína

**SeO3<sup>2-</sup>** - selenito

**SeO4<sup>2-</sup>** - selenato

**UFRA** – Universidade Federal Rural da Amazônia

**V%** – saturação por bases

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	<b>7</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>8</b>
<b>1 CONTEXTUALIZAÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>1.1 Objetivos</b> .....	<b>12</b>
1.1.1 Objetivo geral .....	12
1.1.2 Objetivos específicos .....	12
<b>1.2 Revisão de literatura</b> .....	<b>13</b>
1.2.1. Descrição da espécie e importância econômica.....	13
1.2.2. Cádmio.....	14
1.2.3. Selênio .....	15
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>17</b>
<b>2 SELÊNIO COMO ATENUADOR DO ESTRESSE POR CÁDMIO EM PLÂNTULAS DE MILHO</b> .....	<b>21</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>22</b>
<b>2.1 Introdução</b> .....	<b>23</b>
<b>2.2 Materiais e Métodos</b> .....	<b>24</b>
<b>2.3 Resultados e discussão</b> .....	<b>27</b>
<b>2.4 Conclusão</b> .....	<b>34</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>35</b>
<b>3 SELÊNIO NA FISIOLÓGIA DE PLANTAS DE MILHO SUBMETIDAS AO ESTRESSE POR CÁDMIO</b> .....	<b>38</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>39</b>
<b>3.1 Introdução</b> .....	<b>40</b>
<b>3.2 Materiais e Métodos</b> .....	<b>41</b>
<b>3.3 Resultados e discussão</b> .....	<b>45</b>
<b>3.4 Conclusão</b> .....	<b>48</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>49</b>

## 1 CONTEXTUALIZAÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é um produto fundamental para a agricultura brasileira, sendo cultivado em todas as regiões, é uma das culturas mais importantes para a economia do país, constituindo-se como a segunda cultura com maior produção de grãos no território nacional e com grande participação nas exportações (CONAB, 2019). O uso contínuo de adubação fosfatada em virtude do aumento de áreas plantadas e produção, permitem a acumulação de variadas concentrações de metais nos solos.

Nas últimas décadas, a contaminação dos solos agrícolas por metais pesados tornou-se uma grave questão ambiental em todo o mundo e atualmente tem se tornado a mais séria ameaça de impacto ambiental que vem crescendo com ritmo inevitável (LIU et al. 2014).

Entre os metais, o cádmio (Cd) é considerado como um dos poluentes agrícolas mais difundidos e prejudiciais, consistindo em um dos mais tóxicos que ocorre no meio ambiente (CLEMENS et al., 2013). O Cd é facilmente absorvido pelas plantas e mesmo em baixas concentrações pode provocar o comprometimento da fotossíntese, inibição do crescimento e da absorção de nutrientes e diminuição da biomassa seca das plantas (HE et al. 2011; ANDOSCH et al., 2012; LIU et al. 2013).

A translocação de Cd em partes comestíveis das plantas é uma das principais fontes de exposição em seres humanos e animais, e por não ser um nutriente essencial para organismos vivos a ingestão prolongada deste elemento pode causar doenças crônicas por toxicidade em seres humanos (KUBO et al. 2016). Nesse sentido, tem-se a necessidade de desenvolver estratégias que resultem em uma menor absorção do Cd presentes no solo, otimizando assim, o uso dos recursos naturais e a produção de alimentos seguros.

Em um método alternativo que tenta solucionar os problemas induzidos pela contaminação por Cd está o uso de atenuadores, ou seja, a utilização de elementos até então considerados benéficos, que podem amenizar os efeitos deletérios desse metal quando usados em baixas concentrações. Portanto, o selênio (Se) vêm sendo utilizados por pesquisadores, devido seu reconhecido benefício para o crescimento de algumas plantas, podendo em baixas concentrações aumentar a tolerância destas às diversas condições de estresse (FENG, et al. 2013; PROIETTI et al. 2013; HAWRYLAK-NOWAK, 2013; YAO et al., 2013).

Desta forma, tem-se como hipótese que o pré-tratamento de sementes de milho híbrido com Se proporcionará uma melhoria sobre o desempenho inicial, a osmorregulação e a fisiologia do milho, devido a amenização dos efeitos deletérios do Cd.

## 1.1 **Objetivos**

### 1.1.1 Objetivo geral

Avaliar o Se sobre o crescimento, aspectos bioquímicos e fisiológicos de milho (*Zea mays* L.) em condições de estresse por Cd.

### 1.1.2 Objetivos específicos

Verificar a capacidade do Se em amenizar os efeitos tóxicos do Cd sobre o desempenho inicial (comprimento da parte aérea, comprimento de raiz, matéria seca da raiz, matéria seca da parte aérea e matéria seca total) de plântulas de milho híbrido K9606 VIP3;

Constatar a capacidade do Se em atenuar os efeitos tóxicos do Cd sob os parâmetros bioquímicos (prolina, sacarose e carboidratos solúveis totais) de plântulas de milho híbrido K9606 VIP3.

Avaliar o Se sobre os aspectos fisiológicos (taxa de assimilação fotossintética líquida, condutância estomática, taxa de transpiração, eficiência do uso da água e eficiência instantânea de carboxilação) em plantas de milho híbrido K9606 VIP3 submetidas ao estresse por Cd;

Analisar o Se sobre os pigmentos fotossintéticos (clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e carotenoides) em plantas da variedade de milho híbrido K9606 VIP3 sob toxidez por Cd.

## 1.2 Revisão de literatura

### 1.2.1. Descrição da espécie e importância econômica

O milho (*Zea mays* L.) pertence à família Poaceae (também conhecida como Gramineae), tem origem mexicana e americana, com os primeiros registros datando entre 7 a 10 mil anos, sendo encontrado em pequenas ilhas próximas ao litoral mexicano, teve origem do Teosinte (*Zea mexicana* L.), uma gramínea anual originária do México e da Guatemala. De acordo com Guimarães (2007) ele é considerado uma das plantas cultivadas mais antiga e mais estudada, possuindo caracterização genética mais detalhada dentre as espécies cultivadas.

Apresenta grande adaptabilidade, sendo produzido em quase todos os continentes, desde o Equador até ao limite das terras temperadas, encontrando-se, assim, em climas tropicais, subtropicais e temperados, consistindo na terceira maior produção mundial de grãos, perdendo apenas para o trigo e o arroz (SILVA, 2013).

A importância econômica do milho é caracterizada pelas diversas formas de sua utilização, tanto no aspecto securitário alimentar, na alimentação humana e, principalmente, animal, devido suas elevadas qualidades nutricionais, quanto a possibilidade de ser utilizado em uma infinidade de produtos, tais como combustíveis, bebidas, polímeros, produção de filmes e embalagens biodegradáveis (PAES, 2006; MIRANDA, 2018). Devido à capacidade de gerar emprego e renda, torna-se uma das principais alternativas para o agricultor, proporcionando desenvolvimento social e cultural em várias regiões do país (SOUZA et al., 2012; SILVA et al., 2014).

Atualmente, o Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho ficando atrás somente dos Estados Unidos e da China (USDA, 2019). No Brasil, os estados de Mato Grosso, Paraná e Goiás, são os maiores produtores de milho, responsáveis por mais de 60% da produção nacional; o estado do Pará se encontra na 14.<sup>a</sup> posição desta classificação, sendo os municípios de Santana do Araguaia, Paragominas e Dom Eliseu os maiores produtores do estado (CENSO AGROPECUÁRIO, 2017).

A produção de milho no Brasil ocorre em diferentes épocas, devido, principalmente, às condições climáticas das regiões. O cultivo de verão, também denominado primeira safra, ocorre predominante na maioria das regiões produtoras, com exceção das regiões norte e nordeste, em que, pela época de maior concentração de chuvas ser a partir do mês de janeiro, o período de semeadura é denominado segunda safra ou safrinha, sendo este período representado por cerca de 70% da produção total de milho (CONAB, 2019).



Devido ao crescente aumento de áreas plantadas com milho no país, tem-se utilizado cada vez mais fertilizantes e insumos para aumentar a sua produção, apesar de as exigências em fósforo pelo milho serem bem menores que as quantidades de nitrogênio e potássio, normalmente, as doses recomendadas são altas, devido à baixa eficiência de aproveitamento desse nutriente pela cultura (20 a 30%) (BASTOS, 2010).

Adubações fosfatadas sucessivas podem incrementar as quantidades de Cd em solos e plantas, devido à matéria-prima para a obtenção dos fertilizantes fosfatados serem as rochas fosfáticas que apresentam em sua composição, além do P, diversas impurezas, dentre elas o Cd, em variada concentração (MARCHIORI JR., 2003).

### 1.2.2. Cádmio

Nas últimas décadas, principalmente como consequência de atividades antrópicas, o aumento da concentração de metais pesados no solo, na água e no ar, tem prejudicado não apenas às plantas, mas a todos os organismos vivos (MOŹDZIERZ et al., 2014). A característica comum entre esses elementos é que possuem peso específico maior que  $5 \text{ g cm}^{-3}$  ou número atômico maior que 20 (MALAVOLTA, 1994). Os metais pesados causam alterações metabólicas nas plantas, induzindo vários efeitos bioquímicos diferentes levando à perda da homeostase celular e até mesmo à morte de plantas (OVES et al., 2016).

No Brasil, os problemas relacionados com o aumento da concentração de metais pesados nos solos têm relação, principalmente, com a adição de compostos, pesticidas e fertilizantes, rejeitos orgânicos e industriais, mineralização, queima de combustíveis, irrigação e deposição atmosférica (KAVAMURA; ESPOSITO, 2010). O Conselho Nacional de Meio Ambiente, CONAMA, em sua resolução 420 determina como prevenção que a concentração máxima de Cd no solo não seja superior a  $1,3 \text{ mg kg}^{-1} \text{ MS}$  e para áreas agrícolas, como critério de investigação, o valor máximo permitido é de  $3 \text{ mg kg}^{-1} \text{ MS}$  (BRASIL, 2009).

A translocação de Cd em partes comestíveis das plantas é uma das principais fontes de exposição de Cd em seres humanos e animais, e por não ser um nutriente essencial para organismos vivos a ingestão prolongada de Cd pode causar doenças crônicas por toxicidade (KUBO et al. 2016).

Um dos principais efeitos deletérios do Cd foi evidenciado em moradores da região do rio Jinzu na Província de Toyama, Japão, por volta dos anos 1950, ao desenvolverem a doença de *itai-itai*, o modo mais severo de intoxicação crônica por Cd causada por ingestão prolongada deste metal (INABA et al., 2005).

O Cd é continuamente adicionado ao solo por várias fontes naturais, estando presente normalmente em baixas concentrações no ambiente, entretanto, devido, principalmente, as atividades antropogênicas, sua concentração aumentou na atmosfera e se tornou um contaminante de água superficiais e subterrâneas, solo e alimentos (WHO, 2010).

O Cd é liberado na metalúrgica, instalações de incineração de resíduos, tráfego, fábrica de cimento, mineração, queima de carvão, irrigação de águas residuais, baterias níquel-cádmio, aplicação de pesticidas, lodo de esgoto, fertilizantes fosfatados, resultando em uma ampla poluição do solo agrícola (LIAO et al., 2005; KHAN et al., 2015; AHMAD et al. 2015a; LI et al. 2017).

Os sintomas de sua toxicidade são devidos a uma variedade de interações no nível celular, podendo inibir a absorção de nutrientes essenciais para as plantas e o desenvolvimento delas (HALL, 2002; NAZAR et al., 2012). Plantas afetadas pelo Cd apresentam comprometimento da fotossíntese, inibição do crescimento e da absorção de nutrientes, diminuição da biomassa seca, clorose e atrofia foliar, podendo causar ainda, o enrolamento das folhas e desequilíbrio hídrico (HE et al. 2011; ANDOSCH et al., 2012; LIU et al. 2013).

### 1.2.3. Selênio

O Selênio (Se) pertence à classe dos calcogênios e encontra-se na crosta terrestre geralmente associado as partículas de argila. Os níveis médios de Se nos solos do mundo são estimados em  $0,44 \text{ mg kg}^{-1}$ , podendo variar conforme as categorias de solo e regiões (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2001). São conhecidos quatro estados de oxidação do Se, como selênio elementar ( $\text{Se}_0$ ), seleneto ( $\text{Se}_2$ ), selenito ( $\text{SeO}_3^{2-}$ ), selenato ( $\text{SeO}_4^{2-}$ ) e em formas orgânicas (levedura selenizada). As formas mais encontradas no ambiente são o selenito e selenato. As proporções das formas de Se na solução do solo são governadas por diferentes propriedades físico-químicas, incluindo potencial de oxidação, pH e processos biológicos (KABATA-PENDIAS; MUKHERJEE, 2007; JEŽEK et al., 2012).

O Se é um oligoelemento requerido por ambos os seres humanos e animais. Apesar de não ser um nutriente essencial para as plantas é um elemento benéfico quando aplicado em dose adequada (FENG et al. 2013; SUN et al. 2016; TAMAOKI; MARUYAMA-NAKASHITA, 2017). Após sua absorção, o Se entra na cadeia alimentar, sendo então transferido à dieta humana através de produtos de origem animal e vegetal (RAYMAN, 2008).

Nos organismos vivos, o Se desempenha um papel no equilíbrio hormonal e antioxidante, bem como é componente das selenotRNAs e vários seleno-aminoácidos, como

SeMet (seleno-metionina), SeCys (selenocisteína) e SeMSC (selênio-metil-seleno-cisteína), que compõem selenoproteínas possuem atividade de glutathione peroxidase e tioredoxina reductase que são capazes de neutralizar espécies reativas de oxigênio (EROS), protegendo contra os danos oxidativos induzidos por metais (OGASAWARA; LACOURCIERE; STADTMAN, 2001; VALKO et al. 2006).

Estudos demonstraram que o Se pode aumentar a tolerância das plantas à deficiência hídrica (HASANUZZAMAN; FUJITA, 2011; AHMAD et al., 2015b), aos metais pesados (KUMAR et al., 2012; GHORABA et al., 2015; PANDEY; GUPTA, 2015) como Cd (FILEK, 2008, 2010) e a outros fatores ambientais, podendo reduzir os danos causados por vários estresses e conferir diversos benefícios fisiológicos aos vegetais incluindo aumentos no crescimento (HARTIKAINEN et al., 2000).

Fertilizantes à base de Se têm sido utilizados para a biofortificação de algumas culturas, podendo ser aplicado diretamente ao solo, via *spray* foliar ou *priming* em sementes (AHMAD et al., 2015b). Em sementes, o *priming* consiste na hidratação controlada capaz de promover atividades metabólicas antes mesmo da protusão da radícula (NAWAZ et al., 2013), podendo ser realizado a partir da imersão das sementes em soluções contendo compostos naturais e/ou sintéticos (JISHA; VIJAYAKUMARI; PUTHUR, 2013). O *priming* em sementes caracteriza-se por ser fácil, prático e de baixo custo, sendo considerado um mecanismo promissor para o aumento dos níveis de Se, aumentando desta forma a resistência das plantas às diversas condições de estresse (AHMAD et al., 2015b).

## REFERÊNCIAS

- AHMAD, *et al.* Alleviation of cadmium toxicity in *Brassica juncea* L. (Czern. & Coss.) by calcium application involves various physiological and biochemical strategies. **PLoS One**, v. 10(1), 2015a.
- AHMAD, R. *et al.* Selenium (Se) improves drought tolerance in crop plants– a myth or fact?. **Journal of the science of food and agriculture**, v. 96, p. 372-380, 2015b.
- ANDOSCH, A. *et al.* freshwater green alga under cadmium stress: ameliorating calcium effects on ultrastructure and photosynthesis in the unicellular model *Micrasterias*. **Journal of Plant Physiology**, v. 169, p. 1489–1500. 2012.
- BASTOS, A. L. *et al.* Resposta do milho a doses de fósforo. **Revista brasiceira de engenharia agrícola e ambiental**. vol.14 (5), p. 485-491, 2010.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Resolução no 420, de 28 de dezembro de 2009**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil: Brasília, DF, n. 249, p. 81-84, 2009. Seção 1.
- CENSO AGROPECUÁRIO 2017: 6. *In:* IBGE. **Sidra: sistema IBGE de recuperação automática**. 2017. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/6958#resultado> . Acessado em: 17 de janeiro de 2020.
- CLEMENS, S. *et al.* Plant science: the key to preventing slow cadmium poisoning. **Trends in Plant Science**, v. 18(2), p. 92-99, 2013.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos** | v. 7 - Safra 2019/20, n.1 - Primeiro levantamento, Brasília, p. 1-47, outubro, 2019.
- FENG, R. W. *et al.* A dual role of Se on Cd toxicity: evidences from the uptake of Cd and some essential elements and the growth responses in paddy rice. **Biological Trace Element Research**, v. 151, p. 113–121, 2013.
- 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.
- GALLEGO, S. M. *et al.* Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: insight into regulatory mechanisms. **Environmental Experimental Botany**, v. 83, p. 33–46, 2012.
- GHORABA, W. F.; MOHSEN, A. A. Role of selenium on *Vicia faba* seedlings subjected to mercury and cadmium Stress. **Integrated Journal of British**, v.2, p. 16-44, 2015.
- GUIMARÃES, P. S. **Desempenho de híbridos simples de milho (*Zea mays* L.) e correlação entre heterose e divergência genética entre as linhagens parentais**. 2007. 132f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical). Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas-SP, 2007.

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

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

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

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 (7), p.149-157. 2013.

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

INABA, T. *et al.* Estimation of cumulative cadmium intake causing Itai-itai disease. **Toxicology Letters**, v. 159(2), p. 192-201, 2005.

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.

JISHA, K. C.; VIJAYAKUMARI, K.; PUTHUR, J. T. Seed priming for abiotic stress tolerance: Na overview. **Acta Physiology Plantarum**, v. 35, p. 1381–1396, 2013.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. CRC, Boca Raton, 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 (1), p. 61-69, 2010.

KHAN, A. *et al.* The uptake and bioaccumulation of heavy metals by food plants, their effects on plants nutrients, and associated health risk: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22(18), p. 13772-13799, 2015

KUBO, K. *et al.* Varietal differences in the absorption and partitioning of cadmium in common wheat (*Triticum aestivum* L). **Environmental Experimental Botany**. v. 124, p. 79–88, 2016.

KUMAR, M. *et al.* Selenium and spermine alleviates cadmium induced toxicity in the red seaweed *Gracilaria dura* by regulating antioxidant system and DNA methylation. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 51, p. 129–138, 2012.

LI, H. *et al.* Cadmium in rice: transport mechanisms, influencing factors, and minimizing measures. **Environmental Pollution**, v. 224, p. 622–630, 2017.

LIAO, X. Y. *et al.* Soil As contamination and its risk assessment in areas near the industrial districts of Chenzhou City, Southern China. **Environmental International**, v. 31(6), p. 791-798, 2005.

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

LIU, H. *et al.* Potentially toxic elements concentration in milled rice differ among various planting patterns. **Field Crops Research**. v. 168, p.19–26. 2014.

LIU, Y. *et al.* Complex II of the mitochondrial respiratory chain is the key mediator of divalentmanganese-induced hydrogen peroxide production in microglia. **Toxicology Science**, v. 132, p. 298–306. 2013.

MALAVOLTA, E. **Fertilizantes e seu impacto ambiental: micronutrientes e metais pesados – mitos, mistificação e fatos**. Piracicaba: Produquímica, 1994. 153p.

MARCHIORI JR., M. **Levantamento inicial de chumbo, cádmio, níquel, cromo e cobre em pomares de produção comercial no Estado de São Paulo**. Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003. 138p. (Tese de Doutorado)

MIRANDA, R. A. de. Uma história de sucesso da civilização. **A Granja**, v. 74 (829), p. 24-27, 2018.

MOŹDZIERZ, A.; JUSZKO-PIEKUT, M.; STOJKO, J. Cadmium contamination of atmospheric air in the Silesian cities. **Environmental Medicine**. v. 17(1), p. 25-33, 2014.

NAWAZ, F. *et al.* Selenium (Se) seed priming induced growth and biochemical changes in wheat under water deficit conditions. **Biological Trace Elements Research**, v. 151, p. 284–293, 2013.

NAZAR, R. *et al.* Cadmium toxicity in plants and role of mineral nutrients in its alleviation. **American Journal of Plant Sciences**, v. 3(10), p. 1476-1489, 2012.

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 (17), p. 9494–9498, 2001.

OVES, M. *et al.* Heavy metals: biological importance and detoxification strategies. **Journal of Bioremediation and Biodegradation**. v.7(2), p. 1-15, 2016.

PAES, M. C. D. **Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos do Grão de Milho**. Sete Lagoas, MG, 2006. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica 75)

PANDEY, C.; GUPTA, M. Selenium and auxin mitigates arsenic stress in rice (*Oryza sativa* L.) by combining the role of stress indicators, modulators and genotoxicity assay. **Journal of Hazardous Materials**, v. 287, p. 384–391, 2015.

PROIETTI, P. *et al.* Selenium protects olive (*Olea europaea* L.) from drought stress. **Scientia Horticultura-Amsterdam**, v. 164, p. 165–171, 2013.

RAYMAN, M. P. Food-chain selenium and human health: emphasis on intake. **British Journal of Nutrition**. v. 1, p. 254–268, 2008.

SOUZA, H. A.; *et al.* Avaliação da eficiência agrônômica de fontes e doses de nitrogênio na cultura do milho em região Semiárida. *In.*: **FERTBIO**, Maceió (AL), 2012.

SILVA, G. F. **Adubação nitrogenada e fosfatada para produção de milho verde e de grãos na Chapada do Apodi-RN**. 121f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Mossoró, 2013.

SILVA, G. R. *et al.* Doses de nitrogênio e fósforo para produção econômica de milho na Chapada do Apodi, RN. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, v. 18 (12), p. 1247–1254, 2014.

SUN, H. Y. *et al.* Physiological and proteomic analysis of selenium-mediated tolerance to Cd stress in cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 133, p. 114–126, 2016.

TAMAOKI, M.; MARUYAMA-NAKASHITA, A. Molecular mechanisms of selenium responses and resistance in plants. *In.*: **Selenium in plants**. Springer International Publishing, p. 35–51, 2017.

TEMPLETON, D. M.; LIU, Y. Multiple roles of cadmium in cell death and survival. **Chemico-Biological Interactions**, p. 188:267–75, 2010.

USDA. United States Department of Agriculture. **Grain: world markets and trade**. Disponível em: <https://www.fas.usda.gov/data/grain-world-markets-and-trade>. Acesso em: 29 out. 2019.

VALKO, M. *et al.* Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced câncer. **Chemico-Biological Interactions**, v. 160 (1), p. 1-40, 2006.

WHO. World Health Organization. Preventing disease through healthy environments. *In.*: **Exposure to cadmium: A major public health concern**. Geneva, Switzerland: International Programme On Chemical Safety. 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 (9), p.320–326, 2013.

## 2 SELÊNIO COMO ATENUADOR DO ESTRESSE POR CÁDMIO EM PLÂNTULAS DE MILHO

**Resumo:** O cádmio (Cd) é considerado como um dos poluentes agrícolas mais difundidos e prejudiciais, e, devido sua alta mobilidade e fácil absorção pelas plantas, provoca, principalmente, a inibição do crescimento destas. Dentre as alternativas que visam solucionar os problemas induzidos pela contaminação com Cd em plantas, está o uso de atenuadores como o selênio (Se) que é considerado um elemento benéfico para estas, podendo aumentar sua tolerância aos diversos estresses bióticos e abióticos. Nesse sentido, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito do Se, no tratamento de sementes, sobre o desempenho inicial e a osmorregulação de plântulas de milho, em condições de estresse por Cd. Utilizou-se sementes de milho híbrido (K9606 VIP 3) tratadas com selenito de sódio nas concentrações de 0,0; 1,5; 3,0 e 5,0 mg L<sup>-1</sup> de Se e submetidas a diferentes dosagens de Cd (0,0; 1,3; 3,0 e 4,5 mg L<sup>-1</sup>). Foram avaliados: comprimento da raiz (CR); comprimento da parte aérea (CPA); matéria seca da raiz (MSR), matéria seca da parte aérea (MSPA); matéria seca total (MST) e as concentrações de carboidratos solúveis totais (CST), sacarose e prolina em folhas e raízes. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 × 4, com quatro repetições, compostas por 25 subamostras cada. A presença de Cd reduziu o CR, CPA, MSR, MST e CST; provocou acréscimo nos teores de prolina e sacarose nas raízes e folhas. Em geral, o pré-tratamento com Se antes da exposição ao Cd promoveu aumento no CR, CPA, na produção de MSR e MSPA, com mitigação acentuada dos efeitos deletérios induzido pelo Cd, através de incrementos na prolina, sacarose e CST nas folhas, principalmente, na dose de 5 mg L<sup>-1</sup> de Se.

**Palavra-chave:** Crescimento, osmorreguladores, estresse abiótico, mitigação.



### ABSTRACT

Cadmium (Cd) is considered one of the most widespread and harmful agricultural pollutants, and, due to its high mobility and easy absorption by plants, it mainly causes the inhibition of their growth. Among the alternatives that aim to solve the problems induced by Cd contamination in plants, there is the use of attenuators such as selenium (Se), which is considered a beneficial element for plants and can increase their tolerance to various biotic and abiotic stresses. The objective of this study was to evaluate the effect of Se, in seed treatment, on the initial performance and osmoregulation of corn seedlings, under Cd stress conditions. Seeds of hybrid corn (K9606 VIP 3) treated with sodium selenite at concentrations of 0.0; 1.5; 3.0 and 5.0 mg L<sup>-1</sup> of Se and submitted to different dosages of Cd (0.0; 1.3; 3.0 and 4.5 mg L<sup>-1</sup>). The following were evaluated: root length (RL); above-ground length (AL); root dry matter (RDM), above-ground dry matter (ADM); total dry matter (TDM) and the concentrations of total soluble carbohydrates (TSC), sucrose and proline in leaves and roots. The experimental design was entirely randomized in a 4 × 4 factorial scheme, with four repetitions, composed of 25 subsamples each. The presence of Cd reduced the RL, AL, RDM, TDM, and TSC; it caused an increase in proline and sucrose contents in the roots and leaves. In general, the pre-treatment with Se before exposure to Cd promoted an increase in RL, AL, DMR and ADM production, with significant mitigation of the deleterious effects induced by Cd, through increments in proline, sucrose, and TSC in leaves, especially at the dose of 5 mg L<sup>-1</sup> of Se.

**Keyword:** Growth, osmoregulators, abiotic stress, mitigation.

## 2.1 Introdução

O incremento de metais pesados no ambiente tem ocorrido nas últimas décadas principalmente como consequência de atividades antrópicas, sendo motivo de grande preocupação mundial, especialmente por não serem biodegradáveis, se acumulam no solo, água, ar e na cadeia trófica (MOŹDZIERZ et al., 2014).

O cádmio (Cd), é um poluente traço tóxico para humanos, animais e plantas, devido sua alta mobilidade nos solos, é facilmente absorvido pelas raízes e transportado para outras partes da planta, resultando em toxicidade mesmo em concentrações muito baixas (TEMPLETON; LIU, 2010; GALLEGO et al., 2012; LI et al., 2017).

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., 2015). Após a exposição ao Cd, as plantas quando afetadas apresentam inibição do crescimento e da absorção de nutrientes, provocando diminuição da biomassa seca, clorose e atrofia foliar (LIU et al. 2013, AHMAD et al., 2015; LI et al., 2017).

Desta forma, têm-se procurado alternativas para a produção em solos com alta concentração de Cd, buscando-se diminuir os efeitos deletérios deste metal nas culturas, dentre estas estratégias, encontra-se a utilização de atenuadores e o selênio (Se) vêm sendo empregado devido seu reconhecimento como elemento benéfico para o crescimento de algumas plantas, podendo aumentar a tolerância destas ao estresse.

Evidências demonstram que o tratamento de sementes, com uso de soluções contendo Se, parece também uma abordagem eficaz para melhorar a tolerância de plantas a diversos estresses ambientais, entre eles o de Cd (NAWAZ et al., 2013).

Estudos demonstraram que o Se pode aumentar a tolerância das plantas à deficiência hídrica (HASANUZZAMAN; FUJITA, 2011; AHMAD et al., 2015b), aos metais pesados (KUMAR et al., 2012; GHORABA et al., 2015; PANDEY; GUPTA, 2015) como Cd (FILEK, 2008, 2010) e a outros fatores ambientais, podendo reduzir os danos causados por vários estresses e conferir diversos benefícios fisiológicos aos vegetais incluindo aumentos no crescimento (HARTIKAINEN et al., 2000).

O milho (*Zea mays* L.) apresenta grande adaptabilidade, sendo produzido em quase todos os continentes, decido sua importância econômica que é caracterizada pelas diversas formas de sua utilização, proporcionando desenvolvimento social e cultural em várias regiões do país, devido à sua capacidade de geração de emprego e renda, sendo uma das principais alternativas para o agricultor (SOUZA et al., 2012; SILVA et al., 2014).

Nesse sentido, necessita-se desenvolver estratégias que resultem em menor absorção do Cd presentes no solo pelas plantas diminuindo os efeitos tóxicos deste metal, e otimizando assim, o uso dos recursos naturais e a produção de alimentos seguros, principalmente quando se trata do milho, uma cultura mundialmente consumida.

Diante do exposto, o objetivo foi avaliar o efeito do Se, no tratamento de sementes, sobre o desempenho inicial e a osmorregulação de plântulas de milho, em condições de estresse por Cd.

## 2.2 Materiais e Métodos

### 2.2.1. Local do experimento

O experimento foi conduzido no Laboratório de Estudos em Biodiversidades de Plantas Superiores (EBPS) do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) em Belém — Pará (01°27'21" S, 48°30'16" W). Conforme a classificação climática de Köppen, o clima é do tipo Af (Floresta tropical), com precipitação média anual de 2921,7 mm, temperatura média de 25,9 °C, umidade relativa média de 86.8% e velocidade do vento de 1,35 m s<sup>-1</sup>. (RAMOS, SANTOS, FORTES, 2009).

### 2.2.2. Tratamento das sementes

Foram utilizadas sementes de milho híbrido (K 9606 VIP 3), da empresa KWS sementes (KWS SAAT SE & Co. KGaA), que possui resistência a fusariose, a *Puccinia sorghi*, *Physopella zea* e a diplodia macrospora, além de apresentar alta estabilidade produtiva, alto rendimento, ciclo precoce de 820 GD (graus-dias) e a altura da planta variando entre 225 – 240 cm (KWS, 2019).

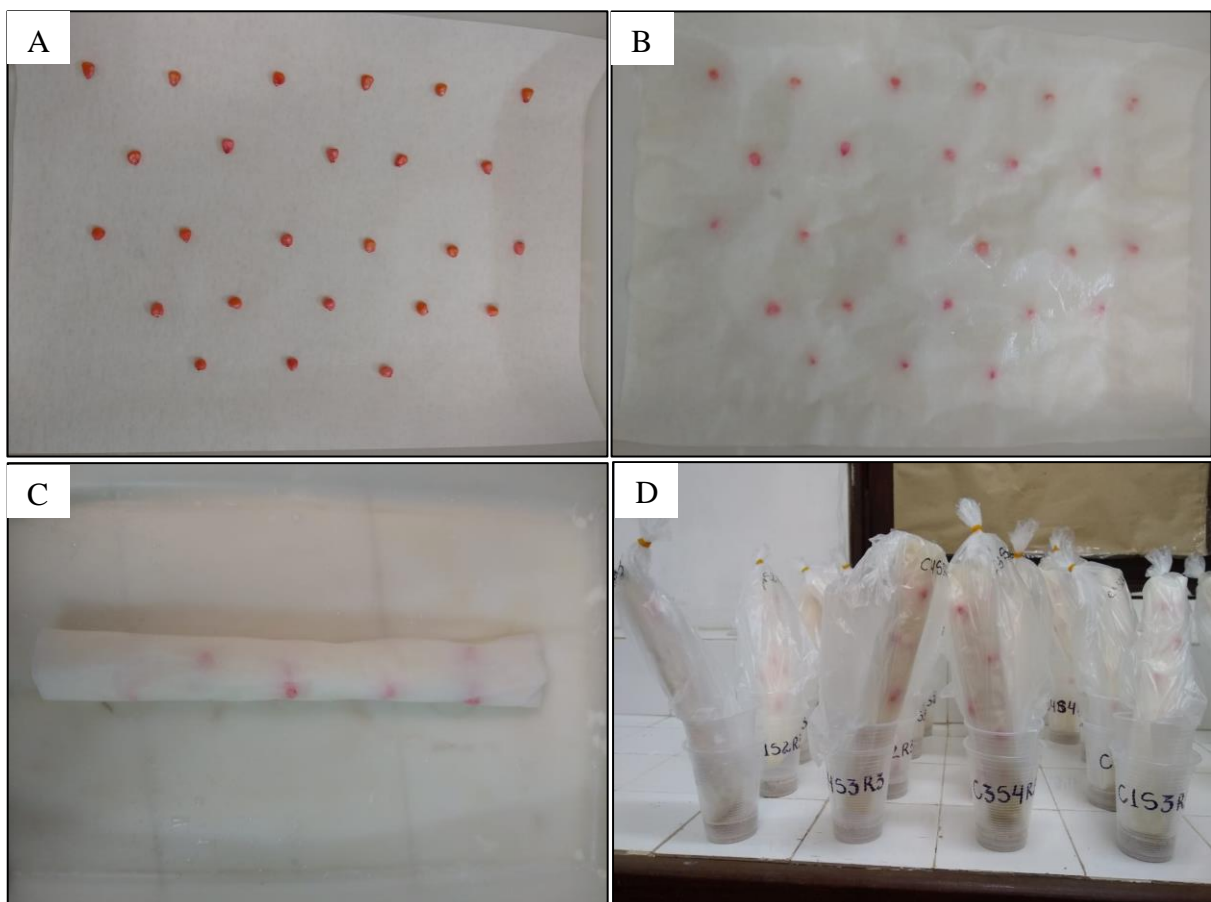
As sementes foram embebidas em solução de selenito de sódio (Na<sub>2</sub>O<sub>3</sub>Se) nas concentrações de 0 (controle); 1,5; 3,0 e 5,0 mg L<sup>-1</sup> de Se por um período de 6h a 25 ± 2 °C. Para o tratamento controle as sementes foram colocadas para embeber em água destilada por 6h na mesma temperatura.

### 2.2.3. Condução do experimento

O experimento foi conduzido em laboratório com regime de temperatura de  $25 \pm 2$  °C, com fotoperíodo de oito horas, foram utilizados papel germitest umedecidos com cloreto de cádmio ( $\text{CdCl}_2$ ) nas concentrações de 0 (controle); 1,3; 3,0 e 4,5 mg L<sup>-1</sup> de Cd na quantidade equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco (BRASIL, 2009).

Para cada tratamento utilizou-se 100 sementes, divididas em quatro repetições com 25 subamostras, as sementes foram posicionadas com a extremidade da radícula (hilo) para a parte inferior do papel (Figura 1A), as quais foram distribuídas entre duas folhas de papel germitest (Figura 1B), sendo, em seguida organizadas em forma de rolo (Figura 1C), onde permaneceram por sete dias, conforme o proposto por Brasil (2009). Os rolos foram acondicionados em sacos plásticos, transparentes, de 0,04 mm de espessura, com a finalidade de evitar a perda de água por evaporação (Figura 1D).

**Figura 1** – Implantação do experimento por meio da disposição das sementes (A), distribuição entre o papel germitest (B), formação dos rolos (C) e acondicionamento em sacos plásticos (D).



Fonte: A autora (2020).

#### 2.2.4. Comprimento da plântula

O comprimento de plântulas foi avaliado segundo procedimento descrito por NAKAGAWA (1999), realizando-se a medição do comprimento da parte aérea (CPA), partindo-se do meristema apical até a base do hipocótilo, enquanto o comprimento de raiz (CR) foi obtido medindo-se desde a base do hipocótilo até a extremidade da raiz primária. Para tanto, utilizaram-se, em cada tratamento, quatro repetições de 10 sementes, cujas medições foram efetuadas no sétimo dia após a semeadura, com auxílio de uma régua milimetrada, sendo os resultados expressos em cm plântula<sup>-1</sup>.

#### 2.2.5. Massa Seca da Plântula

Para obtenção do peso da matéria seca, no sétimo dia após a implantação do experimento as plântulas normais foram retiradas do substrato e seus cotilédones, restante de sementes e/ou qualquer tipo de reserva foram removidos, obtendo-se apenas as plântulas, posteriormente, separadas em raiz e parte aérea e acondicionadas em sacos de papel de massa conhecida e colocadas em estufa de ventilação forçada a 65°C até obtenção da massa constante, logo após, foram colocadas para resfriar em dessecador e pesadas em uma balança de precisão de 0,0001g, para determinação da matéria seca da raiz (MSR) e matéria seca da parte aérea (MSPA) e matéria seca total (MST), expressas em gramas.

#### 2.2.6. Variáveis bioquímicas

As análises bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Estudos em Biodiversidades de Plantas Superiores (EBPS), localizado na Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), Belém, Pará. Os parâmetros avaliados foram: Prolina (BATES; WALDREN; TEARE 1974), sacarose (VAN HANDEL 1968) e carboidratos solúveis totais (DUBOIS et al., 1956).

#### 2.2.7. Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 4 × 4, com quatro repetições, com os fatores compreendendo níveis de Se (0 (controle); 1,5; 3,0 e 5,0

mg L<sup>-1</sup>) e Cd (0 (controle); 1,3; 3,0 e 4,5 mg L<sup>-1</sup>). Os dados foram analisados, utilizando o software STATISTICA 12.0 (STATSOFT, 2014) e a equação de regressão adotada foi o modelo  $y(x_1, x_2) = b_0 + b_1x_1 + b_2x_1^2 + b_3x_2 + b_4x_2^2 + b_5x_1 * x_2$ . Os dados foram submetidos a análise de variância pelo teste F e realizou-se a análise de regressão polinomial (superfície de resposta) quando a interação entre os fatores se apresentou significativa ( $p < 0,05$ ).

## 2.3 Resultados e discussão

### 2.3.1 Comprimento da plântula

Os resultados da análise de variância indicaram que o comprimento da raiz (CR) e o comprimento da parte aérea (Tabela 1), foram influenciados significativamente pelos efeitos isolados de Se ( $p \leq 0,01$ ) e Cd ( $p \leq 0,01$ ). Entretanto, não sofreram efeitos da interação entre os fatores.

**Tabela 1** - Resumo da análise de variância em relação ao comprimento da raiz, comprimento da parte aérea e comprimento total de plântulas de milho em função dos níveis de cádmio e selênio.

Causas de variação	Comprimento da raiz (cm plântula <sup>-1</sup> )	Comprimento da parte aérea (cm plântula <sup>-1</sup> )
	Valores de F	
Cádmio	7.5963**	21.152**
Selênio	60.202**	5.2194**
Cádmio x Selênio	1.1439 <sup>ns</sup>	1.8870 <sup>ns</sup>
Média	20.12	5.00
CV (%)	0.7	8.3

<sup>ns</sup> não significativo pelo Teste F; \*\* significativo a 1% de probabilidade pelo Teste F.

Nas Figuras 2A e 2B, estão contidas as médias do CR e da CPA sob as concentrações de Cd. Através dos resultados, verificou-se que CR e CPA variaram de 19,47 a 20,53 e 4,70 a 5,23 cm, respectivamente, de tal forma que os menores valores resultaram da aplicação de 4,5 mg L<sup>-1</sup> Cd, ao passo que as maiores médias foram obtidas no tratamento controle.

Conforme o estudo de regressão, constatou-se que a aplicação de 4,5 mg L<sup>-1</sup> Cd provocou decréscimos lineares nos CR e CPA de 5,18 e 10,02%, respectivamente, em relação ao tratamento controle.

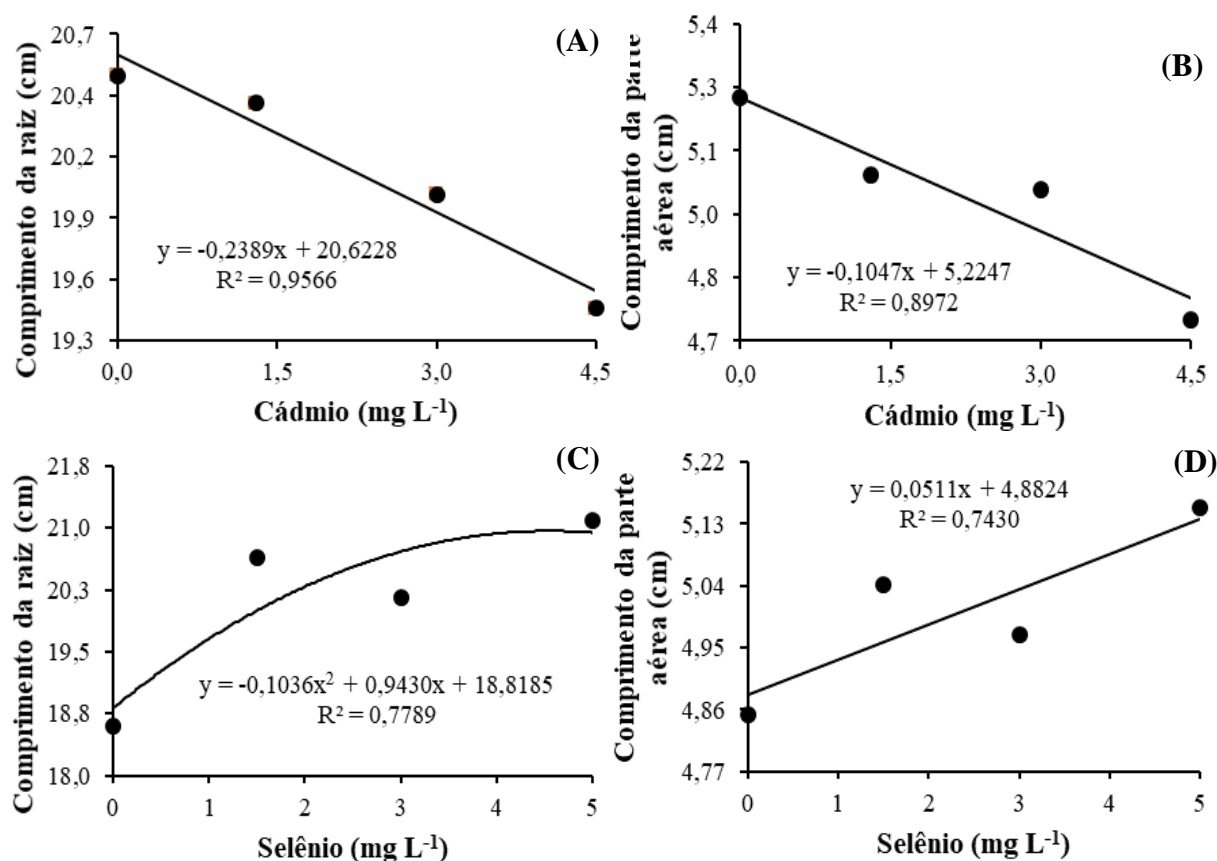
Esses resultados podem ser explicados levando-se em conta que a toxidez por Cd restringe, principalmente, o crescimento, devido à inibição da formação de raízes laterais e da

taxa de alongamento celular, e conseqüentemente a produção de biomassa (HASHIM et al. 2016). O efeito negativo do Cd sobre o CR e CPA de plântulas de milho, corroboram com os encontrados para milho e trigo (HUSSAIN et al., 2012; RIZWAN et al., 2016).

Constatou-se por meio dos resultados de CR (Figura 2C) e do CPA (Figura 2D) sob as concentrações de Se uma variação de 18,60 a 21,08 e 4,85 a 5,15 cm, respectivamente, de tal forma que os menores valores foram obtidos no tratamento controle, enquanto as maiores médias resultaram da aplicação de 5 mg L<sup>-1</sup> de Se. De acordo análise de regressão, verificou-se que a aplicação de 5 mg L<sup>-1</sup> Se proporcionou incrementos nos CR e CPA de 11,80 e 5,85%, respectivamente, em relação ao tratamento controle.

Esses resultados se devem, possivelmente, ao fato de que o Se em baixas concentrações, melhora a meiose dos meristemas celulares das raízes das plantas, resultando em aumento no comprimento (HAN-WENS et al., 2010).

**Figura 2** - Comprimento da raiz e parte aérea em função das concentrações de cádmio (A e B) e selênio (C e D).



Fonte: A autora (2020).

### 2.3.2 Massa Seca da Plântula

Conforme os resultados da ANOVA (Tabela 2), a acumulação de MSR, MSPA e MST, não foram influenciados pelos efeitos isolados das concentrações de Cd e Se. Sendo, a MSR e MST influenciadas pela interação entre esses fatores ( $p \leq 0,05$ ).

**Tabela 2** - Resumo da análise de variância em relação massa seca da raiz, massa seca da parte aérea e massa seca total de plântulas de milho em função dos níveis de cádmio e selênio.

Causas de variação	Massa seca da raiz (g plântula <sup>-1</sup> )	Massa seca da parte aérea (g plântula <sup>-1</sup> )	Massa seca total (g plântula <sup>-1</sup> )
	Valores de F		
Cádmio	2.6265 <sup>ns</sup>	0.8130 <sup>ns</sup>	2.6644 <sup>ns</sup>
Selênio	0.5903 <sup>ns</sup>	0.8434 <sup>ns</sup>	0.4551 <sup>ns</sup>
Cádmio x Selênio	2.3834*	1.6930 <sup>ns</sup>	2.2190*
Média	0.95	0.44	1.39
CV (%)	203.3	9.7	27.9

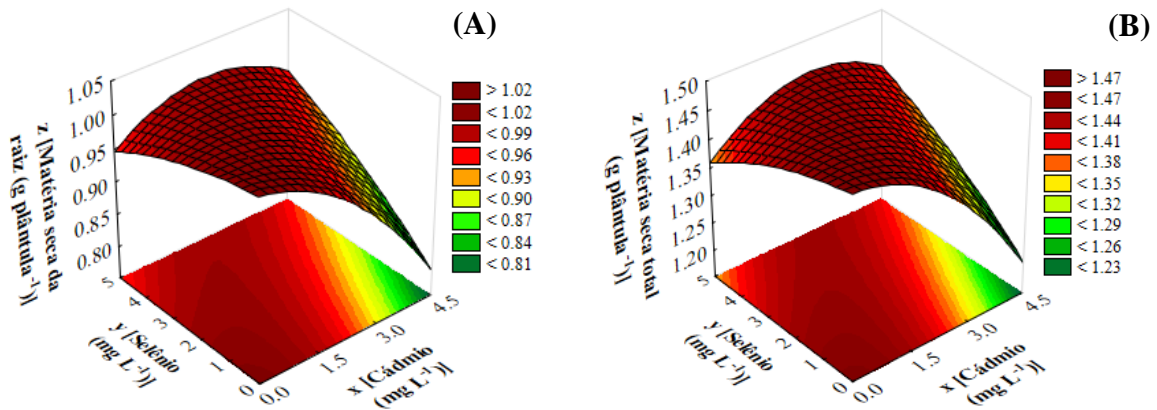
<sup>ns</sup> não significativo; \* significativo a 5% de probabilidade pelo Teste F.

Segundo os resultados observados de acumulação de MSR (Figura 3A) e MST (Figura 3B) em função da interação entre as concentrações de Cd e Se, observam-se que as aplicações de Cd diminuíram linearmente a acumulação de massa seca tanto da raiz quanto total em relação ao controle, sendo os menores valores de 0,78 e 1,21 g plântula<sup>-1</sup> para MSR e MST, respectivamente, ocorreram na maior dose aplicada de 4,5 mg L<sup>-1</sup> de Cd. A combinação entre 5 mg L<sup>-1</sup> de Se e 4,5 mg L<sup>-1</sup> de Cd, proporcionou valores de 0,98 e 1,43 g plântula<sup>-1</sup> para MSR e MST, respectivamente. De acordo análise de regressão, verificou-se que a aplicação de 5 mg L<sup>-1</sup> Se conseguiu mitigar o efeito tóxico do Cd, incrementando nas MSR e MST cerca de 25,64 e 18,18%, respectivamente, em relação ao tratamento que continha apenas 4,5 mg L<sup>-1</sup> de Cd.

A diminuição da massa seca nos tratamentos contendo somente Cd, possivelmente, ocorreu devido ao primeiro órgão a entrar em contato com este elemento tóxico ser a raiz, promovendo assim, a acumulação de Cd neste órgão, inibindo desta forma o crescimento e a diminuição da massa seca (HASSAN; MANSOOR, 2014). Entretanto, algumas características morfológicas como a biomassa seca e os sintomas foliares, de acordo com Xu et al. (2014), parecem ser insensíveis ao estresse de Cd o que justifica a falta de interação do Cd com a MSPA. O aumento da tolerância aos efeitos deletérios das concentrações de Cd pela aplicação de Se, que culminou em incrementos na acumulação da MSR e MST, deve-se ao fato do Se ser um elemento benéfico para as plantas, exercendo um efeito positivo no crescimento e na produção de biomassa das plantas em baixa concentração (HASANUZZAMAN et al., 2010).



**Figura 3** - Matéria seca da raiz (A) e matéria seca total (B) de plântulas de milho em função da combinação entre os níveis de cádmio e selênio.



$$z = 1.026 - 0.010x - 0.010x^2 - 0.006y - 0.020y^2 + 0.011xy \quad (R^2 = 0.82)$$

$$z = 1.475 - 0.004x - 0.012x^2 - 0.010y - 0.003y^2 + 0.014xy \quad (R^2 = 0.85)$$

Fonte: A autora (2020).

### 2.3.3 Variáveis bioquímicas

Os resultados da ANOVA apresentaram que os teores de prolina na folha ( $p \leq 0,01$ ); sacarose na folha ( $p \leq 0,05$ ) e CST nas folhas ( $p \leq 0,01$ ) foram influenciados pela interação entre os fatores de Cd e Se. Os teores de prolina na raiz ( $p \leq 0,01$ ) e sacarose na raiz ( $p \leq 0,05$ ) sofreram influência do efeito isolado da aplicação de Cd. Somente prolina na folha sofreu influência da aplicação isolada de Se ( $p \leq 0,01$ ). Enquanto, os teores de CST nas raízes não foram influenciados pelos efeitos isolados das concentrações de Cd e Se, nem pela interação entre os fatores (Tabela 3).

**Tabela 3** - Resumo da análise de variância em relação concentrações de prolina, sacarose e carboidratos solúveis totais (CST) em folhas e raízes de plântulas de milho em função dos níveis de cádmio e selênio.

Causas de variação	Prolina folha	Prolina raiz	Sacarose folha	Sacarose raiz	CST folha	CST raiz
	Valores de F					
Cádmio	4.2828**	5.0873**	2.0685 <sup>ns</sup>	3.8470*	8.8115**	0.7068 <sup>ns</sup>
Selênio	6.8984**	0.8070 <sup>ns</sup>	0.5717 <sup>ns</sup>	0.8961 <sup>ns</sup>	0.4598 <sup>ns</sup>	0.3578 <sup>ns</sup>
Cádmio x Selênio	4.8811**	1.2476 <sup>ns</sup>	2.4196*	1.9890 <sup>ns</sup>	7.4361**	1.7423 <sup>ns</sup>
Média	4.77	4.10	18.36	27.47	4.95	6.32
CV (%)	26.4	37.1	27.8	21.8	19.2	30.8

<sup>ns</sup> não significativo; \*\* significativo a 1% de probabilidade; \* significativo a 5% de probabilidade pelo Teste F.

Através dos resultados, verificou-se que houve variação de 3,41 a 4,71 mg PRO  $\text{g}^{-1}$  MS, dos teores de prolina na raiz sob as concentrações de Cd (Figura 4A), sendo o menor valor resultou da aplicação de 3 mg  $\text{L}^{-1}$  Cd, enquanto a maior média foi obtida por meio da aplicação

de 4,5 mg L<sup>-1</sup> Cd. Constatou-se que de 4,5 mg L<sup>-1</sup> Cd resultou em incrementos de 38% em relação ao tratamento com a aplicação de 3 mg L<sup>-1</sup> Cd. O valor obtido no tratamento controle foi de 4,39 mg PRO g<sup>-1</sup> MS e é possível observar por meio da análise de regressão que ocorreu uma diminuição linear nos teores de prolina na raiz até a aplicação de 3 mg L<sup>-1</sup> Cd, resultando em um decréscimo de 22,38% em relação ao controle.

Na Figura 4B, estão contidos os resultados observados para os teores de prolina nas folhas em função da interação entre as concentrações de Cd e Se, observa-se que as aplicações de Cd isoladamente aumentaram os teores de prolina em relação ao tratamento controle, sendo constatada uma variação de 4,81 a 5,83 mg PRO g<sup>-1</sup> MS para o tratamento controle e 5 mg L<sup>-1</sup> Cd, respectivamente, sendo este um incremento de 21,21%. Em relação às aplicações de Se, constatou-se que houve uma diminuição nos teores de prolina até a concentração 3 mg L<sup>-1</sup> Se e posteriormente houve um aumento quando aplicada a dose de 5 mg L<sup>-1</sup> Se, resultando em um acréscimo de 19,96% em comparação ao tratamento controle.

Conforme a análise de regressão, pode-se observar onde a aplicação de 4,5 mg L<sup>-1</sup> Cd combinada com 5 mg L<sup>-1</sup> Se apresentou valor de 4,79 mg PRO g<sup>-1</sup> MS, sendo este 17,84% menor que o encontrado na concentração de 4,5 mg L<sup>-1</sup> Cd isoladamente.

Neste estudo, a acumulação de prolina encontrados nas folhas e raízes de plântulas de milho quando aplicada a maior concentração de Cd, pode estar relacionada ao seu papel osmoprotetor, sendo uma estratégia adaptativa das plantas em manter o equilíbrio osmótico, eliminando o excesso de radicais livres e estabilizando a estrutura da membrana celular (SINGH et al., 2016). A aplicação de Se proporcionou o acúmulo de prolina nas folhas, devido este elemento estimular a atividade de enzimas do metabolismo da prolina, aumentando sua produção (ABBAS, 2012). O Se melhorou a tolerância ao Cd nas plântulas de milho, proporcionando um melhor mecanismo de defesa que pode ser constatado pela diminuição do conteúdo de prolina conforme ocorre a interação entre os fatores.

No que se refere aos teores de sacarose da raiz sob as concentrações de Cd (Figura 4C), foi observado uma variação de 23,54 a 29,90 mg sacarose g<sup>-1</sup> MS, a menor média foi obtida por meio da aplicação do tratamento controle, enquanto, o maior valor resultante da aplicação de 3 mg L<sup>-1</sup> Cd. Demonstrou-se que a aplicação de 3 mg L<sup>-1</sup> e 4,5 mg L<sup>-1</sup> Cd resultou em incrementos de 26,99 e 21,88%, respectivamente, em relação ao tratamento controle.

A interação entre 3 mg L<sup>-1</sup> de Se e 4,5 mg L<sup>-1</sup> de Cd, proporcionou a média de 22,4 mg sacarose g<sup>-1</sup> MS para o teor de sacarose na folha (Figura 4D). De acordo a análise de regressão, verificou-se que a aplicação de 3 mg L<sup>-1</sup> Se conseguiu mitigar o efeito tóxico do Cd,

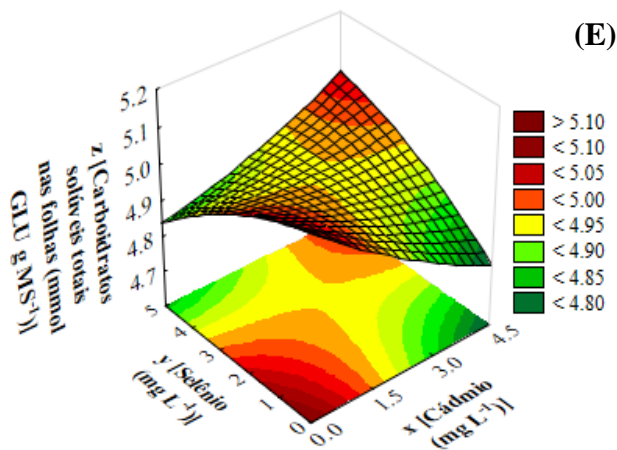
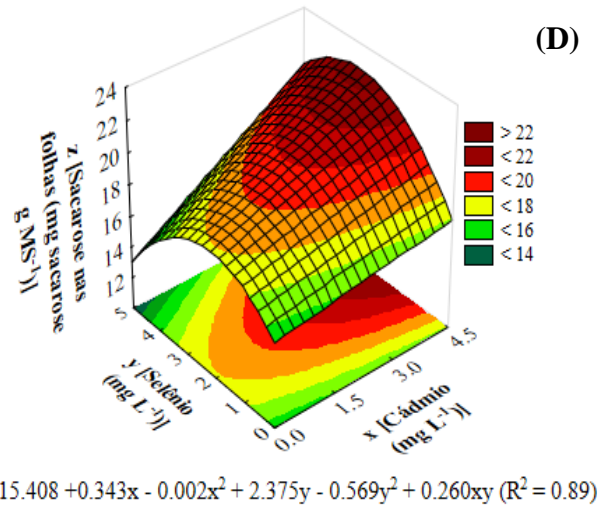
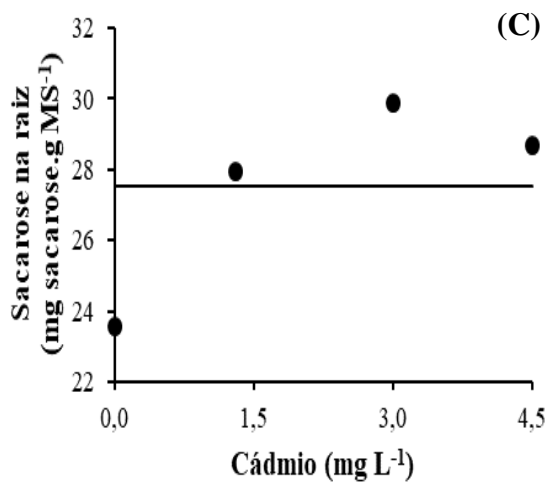
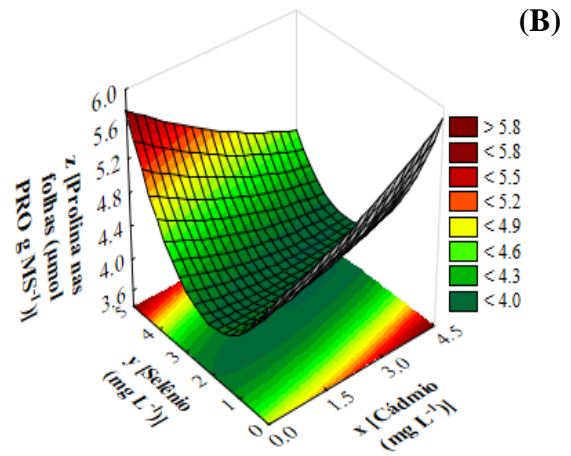
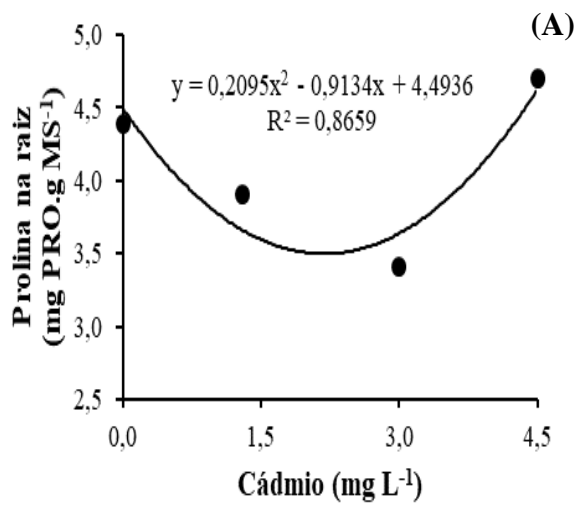
incrementando nos teores de sacarose de 31,76 e 43,59% em relação aos fatores que continham 4,5 mg L<sup>-1</sup> de Cd isoladamente e ao tratamento controle, respectivamente.

Os aumentos nos teores de sacarose, deve-se ao fato deste desempenhar um papel fundamental protegendo tanto contra os danos causados pelo estresse osmótico quanto pelo oxidativo, podendo estar relacionado ao bloqueio no seu transporte e/ou a redução de sua utilização durante o estresse (BADR et al. 2015). Tendo a aplicação de Se contribuído para uma melhora na proteção das plantas por meio da acumulação de sacarose nas folhas, evitando a perda de água.

Os teores de CST na folha (Figura 4E) variaram entre 4,78 e 5,11 mmol GLU g<sup>-1</sup> MS para a aplicação de 4,5 mg L<sup>-1</sup> de Cd e o tratamento controle, respectivamente. Por meio da análise de regressão é possível notar que ocorreu um decréscimo linear de 6,46% entre o tratamento controle e a dose de 4,5 mg L<sup>-1</sup> de Cd. A interação entre os maiores níveis aplicados de Cd e Se proporcionou a média de 5,02 mmol GLU g<sup>-1</sup> MS, sendo representado pelo incremento de 5,02% em relação ao encontrado na concentração de 4,5 mg L<sup>-1</sup> de Cd quando aplicado isoladamente.

A diminuição nos teores de CST nas folhas em resposta a aplicação isolada de Cd, pode estar relacionada ao fato do Cd inibir o crescimento e como resposta, a planta diminui a concentração de carboidratos, devido ao Cd interferir no processo fotossintético, podendo, desta forma, ter diminuído a produção de açúcares. A toxicidade do Cd reduziu o acúmulo de CST, contudo, o tratamento com Se proporcionou uma melhora nessa acumulação. Portanto, o acúmulo de CST nas folhas por meio da aplicação de Se pode estar relacionado à manutenção do status hídrico da planta e a eliminação de espécies reativas de oxigênio sob condições de estresse abiótico (SEVCIKOVA et al., 2017).

**Figura 4** – Concentração de prolina nas folhas (A) e raízes (B), concentração de sacarose nas folhas (C) e raízes (D) e concentração de carboidratos solúveis totais nas folhas (E) de plântulas de milho em função das concentrações de cádmio e selênio.



## 2.4 Conclusão

O Cd isoladamente afetou o CR, CPA, prolina tanto nas folhas quanto nas raízes, sacarose na raiz e CST na folha, principalmente na dose de  $4,5 \text{ mg L}^{-1}$  de Cd.

O Se atenuou os efeitos tóxicos do Cd sobre a MSR, MST, prolina, sacarose e CST nas folhas de plântulas de milho, podendo desta forma, aumentar a capacidade de defesa dessas plantas contra esse estresse, sendo a dose de  $5 \text{ mg L}^{-1}$  de Se a que contribui para uma melhor mitigação dos efeitos deletérios do Cd.

Quando analisado isoladamente, o Se conseguiu promover incrementos nos valores de CR, CPA e prolina na folha.

## REFERÊNCIAS

- ABBAS, S. M. Effects of low temperature and selenium application on growth and the physiological changes in sorghum seedlings. **Journal of Stress Physiology & Biochemistry**. V. 8, p. 268 – 286, 2012.
- AHMAD, P. *et al.* Alleviation of cadmium toxicity in *Brassica juncea* L. (Czern. & Coss.) by calcium application involves various physiological and biochemical strategies. **PLoS One**, v. 10(1), 2015.
- BADR, A.; ANGERS, P.; DESJARDINS P. Comprehensive analysis of in vitro to ex vitro transition of tissue cultured potato plantlets grown with or without sucrose using metabolic profiling technique. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 122: p. 491-508, 2015.
- BATES, L.S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid Determination of Free Proline for Water-Stress Studies. Short Communication. **Plant Soil**, v. 39, p. 205-207, 1973.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399p.
- DUBOIS M. *et al.* Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, v.28, p. 350-356, 1956.
- FENG, R. W. *et al.* A dual role of Se on Cd toxicity: evidences from the uptake of Cd and some essential elements and the growth responses in paddy rice. **Biological Trace Element Research**, v. 151, p. 113–121, 2013.
- 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.
- GALLEGO, S. *et al.* Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: insight into regulatory mechanisms. **Environmental and Experimental Botany**, v. 83, p. 33–46, 2012.
- GHORABA, W. F.; MOHSEN, A. A. Role of selenium on *Vicia faba* seedlings subjected to mercury and cadmium stress. **Integrated Journal of British**, v. 2, p:16-44, 2015.
- HAN-WEN, S. *et al.* Protective role of selenium on garlic growth under cadmium stress. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 41, n. 10, p. 1195-1204, 2010.
- HARTIKAINEN, H.; XUE, T.; PIIRONEN, V. Selenium as an anti-oxidant and pro-oxidant in ryegrass. **Plant Soil**, v. 225, p. 193–200, 2000.
- HASANUZZAMAN, M.; HOSSAIN, M. A.; FUJITA, M. Selenium in higher plants: physiological role, antioxidant metabolism and abiotic stress tolerance. **Journal of Plant Sciences**, v. 5, p. 354 – 375, 2010.
- HASHEM, A. *et al.* Bioremediation of adverse impact of cadmium toxicity on *Cassia italica* Mill by arbuscular mycorrhizal fungi. **Saudi Journal Biological Sciences**. v. 23, p. 39–47, 2016.

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.55-6, 2014.

HUSSAIN, I. *et al.* Cadmium dose and exposure-time dependent alterations in growth and physiology of maize (*Zea mays*). **International Journal of Agriculture and Biology**. v. 14, p. 959–964, 2012.

KWS. **Ficha de Produto K9606 VIP3**. Disponível em: [https://mediamaster.kws.com/01\\_Products/BR\\_Brazil/Productsheets/Mais/k9606\\_vip3.pdf](https://mediamaster.kws.com/01_Products/BR_Brazil/Productsheets/Mais/k9606_vip3.pdf). Acessado em: 19/12/2019.

LI, H. *et al.* Cadmium in rice: transport mechanisms, influencing factors, and minimizing measures. **Environmental Pollution**, v. 224, p. 622–630, 2017.

LIU, Y. *et al.* Complex II of the mitochondrial respiratory chain is the key mediator of divalent manganese-induced hydrogen peroxide production in microglia. **Toxicological Sciences**, v. 132, p. 298–306, 2013.

MOŹDZIERZ, A.; JUSZKO-PIEKUT, M.; STOJKO, J. Cadmium contamination of atmospheric air in the Silesian cities. **Environmental Medicine**. v. 17(1), p. 25-33, 2014.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação de plântulas. *In*: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999.

NAWAZ, F. *et al.* Selenium (Se) seed priming induced growth and biochemical changes in wheat under water deficit conditions. **Biological Trace Elements Research**, v. 151, p. 284–293, 2013.

PANDEY, C.; GUPTA, M. Selenium and auxin mitigates arsenic stress in rice (*Oryza sativa* L.) by combining the role of stress indicators, modulators and genotoxicity assay. **Journal of Hazardous Materials**, v. 287, p. 384–391, 2015.

RAMOS, A. M; SANTOS, L. A. R.; FORTES, L. T. G. **Normais climatológicas do Brasil 1961-1990**. rev. e ampl. Brasília: INMET. 2009.

RIZWAN, M. *et al.* Effect of silicon on reducing cadmium toxicity in durum wheat (*Triticum turgidum* L. cv. Claudio W.) grown in a soil with aged contamination. **Journal of Hazardous Materials**. p. 326–334, 2012.

ŠEVČÍKOVÁ, H. *et al.* Carbohydrates and gibberellins relationship in potato tuberization. **Journal of Plant Physiology**, v. 214, p. 53-63, 2017.

SILVA, G. R. *et al.* Doses de nitrogênio e fósforo para produção econômica de milho na Chapada do Apodi, RN. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, v. 18 (12), p. 1247–1254, 2014.

SINGH S. *et al.* Heavy Metal Tolerance in Plants: Role of Transcriptomics, Proteomics, Metabolomics, and Ionomics. **Frontiers in Plant Science** v.6, p. 1-36, 2016.

SOUZA, H. A.; *et al.* Avaliação da eficiência agrônômica de fontes e doses de nitrogênio na cultura do milho em região Semiárida. *In.*: **FERTBIO**, Maceió (AL), 2012.

STATSOFT, I. **Statistica** (Data Analysis Software System), Version 10 (Tulsa, Oklahoma, USA, StatSoft Inc.), 2014.

TEMPLETON, D. M.; LIU, Y. Multiple roles of cadmium in cell death and survival. **Chemico-Biological Interactions**, p. 267–275, 2010.

VAN HANDEL, E. Direct Microdetermination of Sucrose. **Analytical Biochemistry**, v. 22, p. 280-283, 1968.

XU, X. *et al.* Involvement of an antioxidante defense system in the adaptive response to cadmium in maize seedlings (*Zea mays* L.). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**. v.93, p. 618–624. 2014.



### 3 SELÊNIO NA FISIOLOGIA DE PLANTAS DE MILHO SUBMETIDAS AO ESTRESSE POR CÁDMIO

**Resumo:** O cádmio (Cd) é facilmente absorvido pela planta, sendo capaz de provocar a inibição do crescimento, em decorrência dos danos causados ao processo fotossintético. O selênio (Se) é um elemento benéfico que pode aumentar a tolerância das plantas aos diversos estresses bióticos e abióticos. Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito do Se sobre o desempenho fotossintético de plantas de milho, em condições de estresse por Cd. Foram utilizadas sementes de milho híbrido (K9606 VIP 3) tratadas com Se nas concentrações de 0,0; 1,5; 3,0 e 5,0 mg L<sup>-1</sup> de Se na forma de Na<sub>2</sub>O<sub>3</sub>Se, e submetidas a diferentes dosagens de Cd (0,0; 1,3; 3,0 e 4,5 mg L<sup>-1</sup>) na forma de CdCl<sub>2</sub>. Foram avaliados: a taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (*A*); condutância estomática (*gs*); transpiração (*E*); concentração de CO<sub>2</sub> intercelular (*Ci*); eficiência instantânea de carboxilação (*EiC A/Ci*); eficiência instantânea de uso da água (*EUA*); teores de carotenoides; clorofila *a* (*Chl a*), *b* (*Chl b*) e total (*Chl*). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 × 4, com quatro repetições. A presença de 4,5 mg L<sup>-1</sup> Cd reduziu a *A*, *EiC*, os teores de *Chl a*, *Chl b* e *Chl* e promoveu acréscimos nos teores de carotenoides. Em geral, o pré-tratamento com Se promoveu a amenização dos efeitos deletérios induzido pelo cádmio, através de incrementos nos teores de *Chl a*, *Chl b* e *Chl* e redução nos carotenoides, principalmente, nas doses de 3 a 5 mg L<sup>-1</sup> de Se.

**Palavra-chave:** Pigmentos, fotossíntese, atenuação, estresse abiótico.

### ABSTRACT

Cadmium (Cd) is easily absorbed by the plant, being able to cause growth inhibition, due to the damage caused to the photosynthetic process. Selenium (Se) is a beneficial element that has the ability to increase the tolerance of plants to various biotic and abiotic stresses. Given the above, the objective of the work was to evaluate the effect of selenium on the photosynthetic performance of corn plants, under cadmium stress conditions. Using hybrid corn seeds (K9606 VIP 3) treated with selenium in concentrations of 0.0; 1.5; 3.0 and 5.0 mg L<sup>-1</sup> of Se in the form of Na<sub>2</sub>O<sub>3</sub>Se, and subjected to different dosages of cadmium (0.0; 1.3; 3.0 and 4.5 mg. L<sup>-1</sup>) in the form of CdCl<sub>2</sub>. The following were evaluated: net CO<sub>2</sub> assimilation rate (*A*); stomatal conductance (*g<sub>s</sub>*); sweating (*E*); intercellular CO<sub>2</sub> concentration (*C<sub>i</sub>*); instant carboxylation efficiency (*E<sub>i</sub>C A / C<sub>i</sub>*); instant water use efficiency (*USA*); carotenoid contents; chlorophyll *a* (*Chl a*), *b* (*Chl b*) and total (*Chl*). The experimental design was completely randomized in a 4 x 4 factorial scheme, with four replications. The presence of 4.5 mg L<sup>-1</sup>Cd reduced *A*, *E<sub>i</sub>C*, the levels of *Chl a*, *Chl b* and *Chl* and promoted increases in the levels of carotenoids. In general, pretreatment with Se before exposure to Cd helped to alleviate the deleterious effects induced by cadmium, through increases in the levels of *Chl a*, *Chl b* and *Chl* and reduction in carotenoids, mainly in the dose of 3 and 5 mg L<sup>-1</sup> from Se.

**Keyword:** Pigments, photosynthesis, attenuation, abiotic stress.

### 3.1 Introdução

O milho (*Zea mays* L.) é uma cultura que vem sendo produzida em todas as regiões, sua importância econômica é caracterizada pelas diversas formas de utilização, na segurança alimentar, humana e, principalmente, animal, devido suas elevadas qualidades nutricionais (MIRANDA, 2018). Atualmente, o Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho ficando atrás somente dos Estados Unidos e da China (USDA, 2019). O uso contínuo de adubação fosfatada em virtude do aumento de áreas plantadas e produção, permitem a acumulação de variadas concentrações de Cd nos solos.

O Cd apresenta alta mobilidade e embora não seja essencial para as plantas, seus íons são facilmente absorvidos pelas raízes, podendo danificar a clorofila e inibir a atividade de várias enzimas funcionais, afetando o rendimento e a qualidade das plantas (ZACCHINI et al., 2009; HE et al., 2011; RIZWAN et al., 2016). Além disso, o Cd influencia a transpiração, a condutância estomática e a concentração intercelular de CO<sub>2</sub> nas plantas (ZOUARI et al. 2016; NIKOLIĆ et al. 2017).

Portanto, têm-se procurado estratégias que visem diminuir ou inibir a absorção do Cd presentes no solo pelas plantas, mitigando os efeitos tóxicos deste metal, e otimizando assim, o uso dos recursos naturais e a produção de alimentos seguros, principalmente quando se trata do milho, uma cultura mundialmente consumida.

Dentre as estratégias, encontra-se a utilização do Se, um oligoelemento não essencial capaz de desempenhar um papel importante no crescimento e desenvolvimento das plantas, em baixas concentrações pode aumentar a capacidade destas em resistir ao estresse e aumentar a fotossíntese, aliviando a toxicidade de metais pesados (KAUR et al., 2014). Estudos mostraram que existe um antagonismo entre o Cd e o Se em plantas, onde o Se pode inibir a captação de Cd, diminuindo assim, os efeitos tóxicos deste elemento nas plantas (LIN, 2011; LIU et al., 2015).

Entre as formas de aplicação de Se, encontra-se o *priming* em sementes que se caracteriza por ser fácil, prático e de baixo custo, sendo considerado um mecanismo promissor para o aumento dos níveis de Se, aumentando desta forma a resistência das plantas às diversas condições de estresse (AHMAD *et al.*, 2015a).

Diante do exposto, o objetivo foi avaliar o Se sobre o desempenho fotossintético de plantas de milho, em condições de estresse por Cd.

## 3.2 Materiais e Métodos

### 3.2.1 Local do experimento

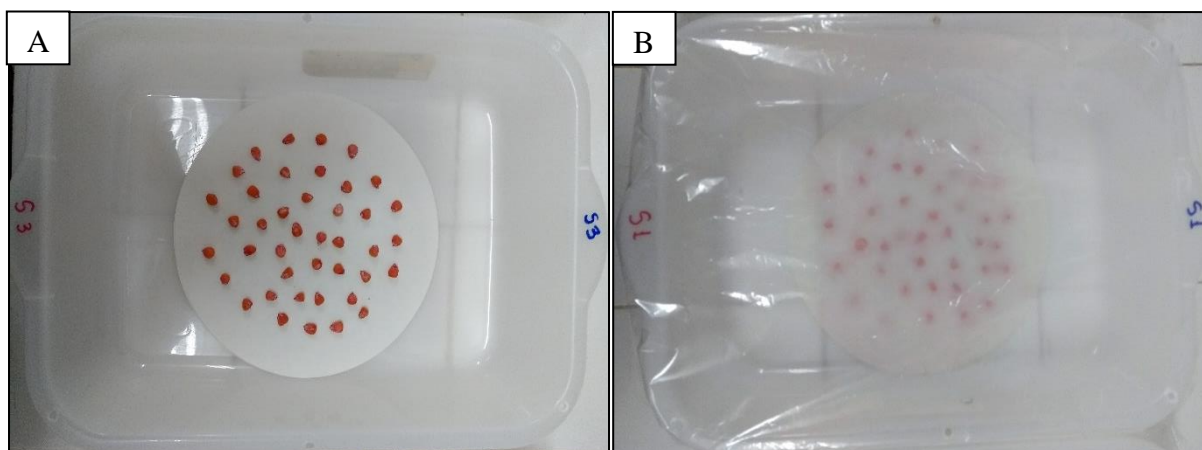
O experimento foi conduzido no Laboratório de Estudos em Biodiversidades de Plantas Superiores (EBPS) do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) em Belém — Pará (01°27'21" S, 48°30'16" W). Segundo a classificação climática de Köppen, o clima é do tipo Af (Floresta tropical), com precipitação média anual de 2921,7 mm, temperatura média de 25,9 °C, umidade relativa média de 86.8% e velocidade do vento de 1,35 m s<sup>-1</sup>. (RAMOS; SANTOS; FORTES, 2009).

### 3.2.2 Tratamento das sementes

Utilizou-se sementes de milho híbrido (K 9606 VIP 3), da empresa KWS sementes (KWS SAAT SE & Co. KGaA), resistente a fusariose, a *Puccinia sorghi*, a *Physopella zaeae* e a diplodia macrospora, apresenta alta estabilidade produtiva, alto rendimento, ciclo precoce de 820 GD (graus-dias) e a altura da planta varia entre 225 – 240 cm (KWS, 2019).

As sementes foram distribuídas entre duas folhas de papel germitest embebidas em solução de selenito de sódio (Na<sub>2</sub>O<sub>3</sub>Se) nas concentrações de 1,5; 3,0 e 5,0 mg L<sup>-1</sup> de Se por um período de 24h a 25 ± 2 °C. Para o tratamento controle as sementes foram colocadas para embeber em água destilada por 24h na mesma temperatura, posteriormente foram cobertas com saco plástico transparente, para evitar a perda de água (Figura 5).

**Figura 5** – Distribuição (A) e processo de embebição (B) das sementes de milho com concentrações de selênio.



Fonte: A autora (2020).

### 3.2.3 Coleta, caracterização e preparação do solo

Utilizou-se como substrato, solo com textura média, coletado na camada de 0 – 20 cm em área adjacente a Universidade Federal Rural da Amazônia, no município de Belém, Pará. As amostras de solo foram secas ao ar, destorroadas, retirados os restos de raízes manualmente, passadas em peneira de 4 mm de abertura de malha e homogeneizadas na proporção de 5:1 de solo para adubo orgânico, contendo terra preta, caroço de açaí triturado e cama aviário (3:1:1, v/v/v). As características químicas da amostra de solo após a homogeneização encontram-se na Tabela 4.

**Tabela 4** – Atributos químicos do solo utilizado como substrato no experimento<sup>1</sup>.

pH (CaCl <sub>2</sub> )	Ca	Mg	K	Na	H <sup>+</sup>	Al <sup>3+</sup>	H <sup>+</sup> + Al <sup>3+</sup>	CTC	SB	V	M
-	mmolc/dm <sup>3</sup>							-	%		
6	32	20	27,6	0,6	20	-	20	100,2	80,2	80	-
COT	M.O.	P resina	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn	Co	Mo	N
g/dm <sup>3</sup>		mg/dm <sup>3</sup>							ppm		
13	22	71	24	2,25	1,4	134	24,4	27,5	0,6	0,8	2850,7

<sup>1</sup>pH – potencial hidrogeniônico; CTC – capacidade de troca de cátions; SB – soma de bases; V – saturação por bases; m – saturação por alumínio; COT – carbono orgânico trocável; M.O. – matéria orgânica.

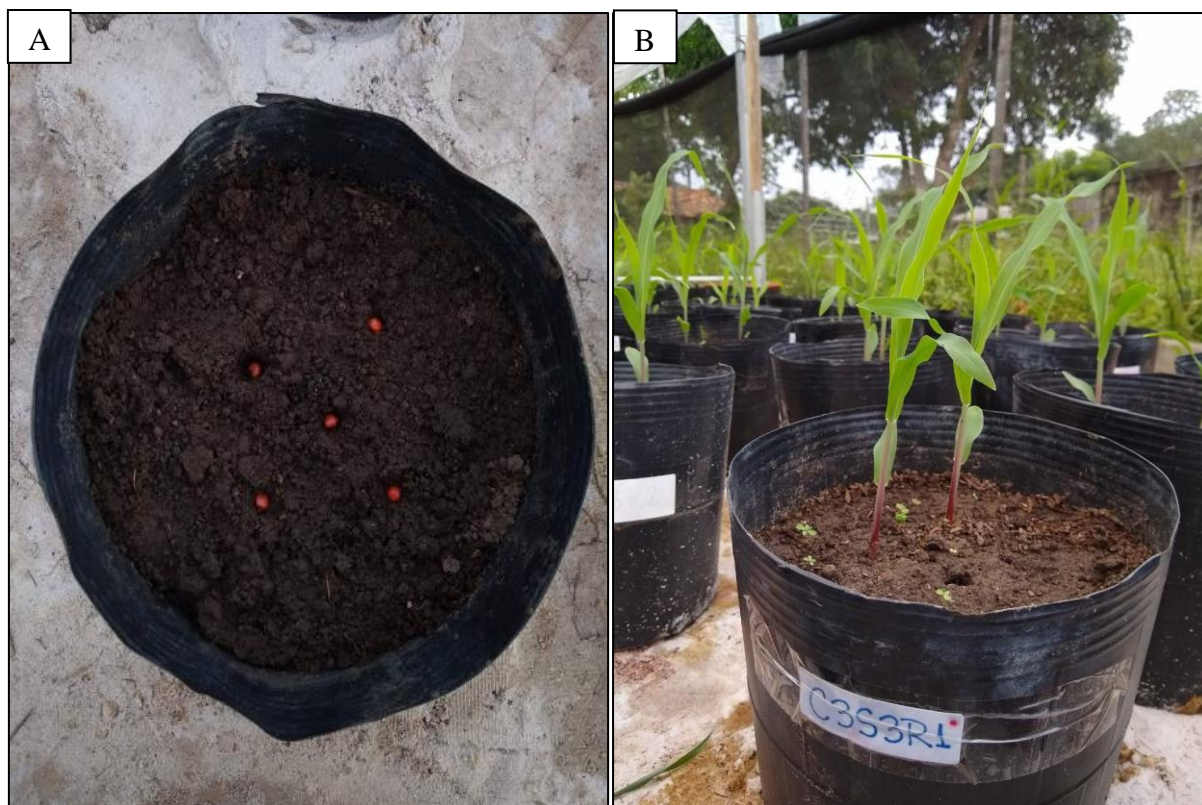
O substrato foi pesado, separado em amostras de 6 kg e acondicionado em vasos de polietileno de 8L, foram utilizados 64 vasos, divididos em 4 tratamentos, um controle, sem adição de Cd e 3 tratamentos com o contaminante, onde foram adicionadas concentrações de CdCl<sub>2</sub>·2,5H<sub>2</sub>O de grau analítico para estabelecer os níveis de Cd de 1,3, 3,0 e 4,5 mg kg<sup>-1</sup>. As doses foram determinadas a partir dos valores de prevenção, investigação e 1,5 vezes o valor de investigação, conforme a resolução n.º 420 do Conama, que dispõe sobre valores orientadores de qualidade do solo (BRASIL, 2009). O conteúdo dos vasos após contaminado permaneceu 50 dias em repouso para que as reações entre o metal adicionado e a terra fossem estabilizadas.

### 3.2.4 Condução do experimento

Após o período de incubação, foram semeadas 5 sementes previamente tratadas com Se em cada vaso (Figura 6A), sendo mantidos com 80% da capacidade de campo mediante irrigação diárias para complementação da água perdida por evapotranspiração, 7 dias após o semeio (DAS) foi realizado o primeiro desbaste, deixando duas plantas de milho em cada vaso

(Figura 6B) e o segundo desbaste ocorreu aos 10 DAS, permanecendo uma planta por vaso até 35 DAS, quando houve a realização das avaliações.

**Figura 6** – Semeadura (A) e primeiro desbaste (B) aos 7 DAS.



Fonte: a autora (2020)

### 3.2.5 Trocas gasosas

As medidas de trocas gasosas foram realizadas na 4ª folha completamente expandida do ápice para a base. As variáveis, taxa de assimilação fotossintética líquida por unidade de área (A), condutância estomática (gs), taxa de transpiração (E), eficiência do uso da água (EUA; (A/E)) e eficiência instantânea de carboxilação (A/Ci) foram determinadas por analisador de gás por infravermelho (IRGA) modelo portátil (LI-6400XT, LI-COR Biosciences Inc., Lincoln, Nebraska, USA). As medições foram realizadas entre 09:00 e 11:00 a.m., utilizando radiação fotossinteticamente ativa (PAR) constante ( $1000 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), concentração constante de  $\text{CO}_2$  (400ppm), temperatura e umidade ambiente.

### 3.2.6 Determinação dos teores dos pigmentos fotossintéticos

Pesou-se 100 mg de tecido fresco de cada amostra, posteriormente foram maceradas em almofariz com pistilo, utilizando-se como solução extratora 5 ml de metanol 80% gelado. Os extratos foram transferidos para tubos de ensaio e centrifugados a 2500 rpm, durante 5 minutos. Transferiu-se o sobrenadante para um balão volumétrico de 25 ml e o volume foi aferido com metanol 80%, as leituras de absorvância (A) das amostras foram efetuadas em espectrofotômetro UV-visível, resolução de  $\pm 2$  nm (Modelo SP 220, Biospectro) nos comprimentos de onda de 653 e 666 nm para as clorofilas e 470 nm para os carotenoides. A partir dos dados de absorvâncias e fatores de diluição (FD) realizou-se a quantificação dos teores de clorofila *a* (Chl *a*), *b* (Chl *b*), clorofila total ( $C_a + C_b$ ) e carotenoides totais (xantofilas + carotenos;  $x + c$ ) (LICHTENTHALER, 1987), sendo os resultados expressos em micrograma por grama de massa fresca de tecido foliar ( $\mu\text{g g}^{-1}$  MF). Utilizou-se a seguinte equação para a quantificação dos pigmentos fotossintéticos:

$$C_a \text{ (mg g}^{-1} \text{ MF)} = [15,65A_{666\text{nm}} - 7,34A_{653\text{nm}}] \times FD$$

$$C_b \text{ (mg g}^{-1} \text{ MF)} = [27,05A_{653\text{nm}} - 5,03A_{666\text{nm}}] \times FD$$

$$C_{x+c} \text{ (mg g}^{-1} \text{ MF)} = \frac{1000A_{470\text{nm}} - 2,86C_a - 129,2C_b}{221} \times FD$$

### 3.2.7 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial  $4 \times 4$ , com quatro repetições, com os fatores compreendendo níveis de Se (0 (controle); 1,5; 3,0 e 5,0  $\text{mg L}^{-1}$ ) e Cd (0 (controle); 1,3; 3,0 e 4,5  $\text{mg L}^{-1}$ ). Os dados foram analisados, utilizando o software STATISTICA 12.0 (STATSOFT, 2014) e a equação de regressão adotada foi o modelo  $y(x_1, x_2) = b_0 + b_1x_1 + b_2x_1^2 + b_3x_2 + b_4x_2^2 + b_5x_1 \cdot x_2$ . Os dados foram submetidos a análise de variância pelo teste F e realizou-se a análise de regressão polinomial (superfície de resposta) quando a interação entre os fatores se apresentou significativa ( $p < 0,05$ ).

### 3.3 Resultados e discussão

#### 3.3.1 Trocas gasosas

Os resultados da análise de variância (Tabela 5) indicaram que a *A* e a *EiC* foram influenciadas significativamente pelos efeitos isolados de Cd ( $p \leq 0,05$ ), não sendo observados efeitos significativos para as variáveis *gs*, *E*, *Ci* e EUA para os fatores Cd, Se e a interação entre eles.

**Tabela 5** - Resumo da análise de variância em relação a taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (*A*); condutância estomática (*gs*), transpiração (*E*), concentração de CO<sub>2</sub> intercelular (*Ci*), eficiência instantânea de carboxilação (*EiC*) e eficiência do uso da água (EUA) de plantas de milho em função dos níveis de cádmio e selênio.

Causas de variação	<i>A</i>	<i>gs</i>	<i>E</i>	<i>Ci</i>	<i>EiC</i>	EUA
	( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	( $\mu\text{mol mol}^{-1}$ )	( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )/ ( $\mu\text{mol mol}^{-1}$ )	( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )/ ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )
	Valores de F					
Cádmio	4.0636*	0.4904 <sup>ns</sup>	1.0098 <sup>ns</sup>	1.2306 <sup>ns</sup>	2.9770*	0.8435 <sup>ns</sup>
Selênio	0.6762 <sup>ns</sup>	1.5002 <sup>ns</sup>	1.2544 <sup>ns</sup>	2.2930 <sup>ns</sup>	2.1672 <sup>ns</sup>	0.0712 <sup>ns</sup>
Cádmio x Selênio	1.9576 <sup>ns</sup>	0.8175 <sup>ns</sup>	0.9308 <sup>ns</sup>	1.9856 <sup>ns</sup>	1.5215 <sup>ns</sup>	0.9151 <sup>ns</sup>
Blocos	8.1189**	3.0899*	4.4103**	12.325**	12.487**	5.3943**
Média	24.94	0.17	2.94	130.83	0.22	7.54
CV (%)	12.7	12.1	19.7	9.7	24.7	29.9

<sup>ns</sup> não significativo; \*\* significativo a 1% de probabilidade; \* significativo a 5% de probabilidade pelo Teste F.

Nas Figuras 7A e 7B, estão contidas as médias de *A* e *EiC* sob as concentrações de Cd. Mediante aos resultados, constatou-se que a *A* variou entre 23,05 e 27,94  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e a *EiC* variou de 0,18 a 0,28  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} / \mu\text{mol mol}^{-1}$ , de tal forma que os menores valores resultaram da aplicação de 3 mg L<sup>-1</sup> Cd, ao passo que as maiores médias foram obtidas no tratamento controle.

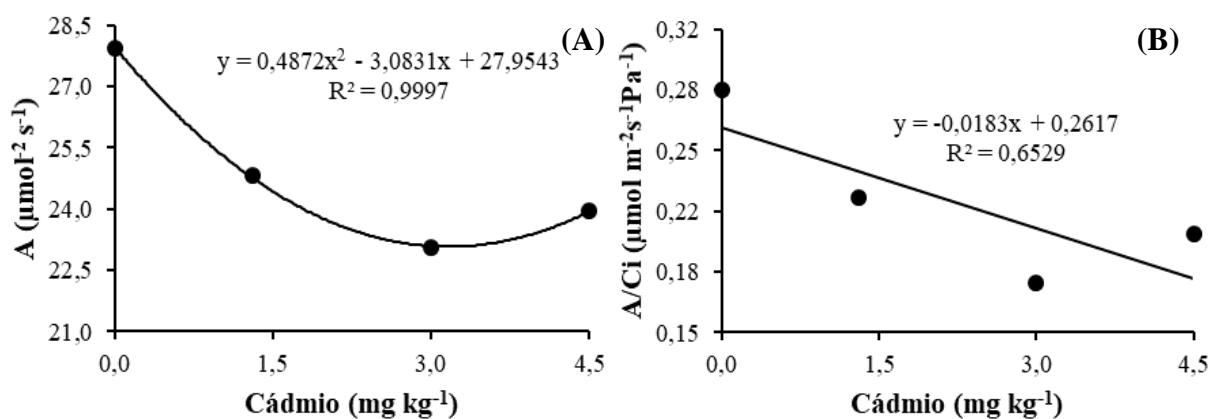
Conforme o estudo de regressão, observou-se que a aplicação de 3 mg L<sup>-1</sup> Cd provocou decréscimos na *A* e na *EiC* de 17,49 e 37,10%, respectivamente, em relação ao tratamento controle. Notou-se que, independentemente da concentração aplicada de Cd ocorreu a diminuição tanto na *A* quanto na *EiC* em comparação ao tratamento controle.

Esses resultados de limitação fotossintética, com o comprometimento da *A* e *EiC*, corroboram com os encontrados por Ahmad et al., (2015b) e devem-se ao fato de que o estresse induzido pelo Cd pode ter comprometido os processos de abertura e fechamento estomático (WU; JONG; LEE, 2006). Outro possível motivo seria a interrupção da fase carboxilante da



fotossíntese, onde o Cd influencia na diminuição das duas principais enzimas de fixação de CO<sub>2</sub>, a ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase (RuBPCase) e a fosfoenolpiruvato carboxilase (PEPCase) (KRANTEV et al., 2008).

**Figura 7** - Taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> – A (A) e eficiência instantânea de carboxilação - A/Ci (B) de plantas de milho em função das concentrações de cádmio.



Fonte: A autora (2020).

### 3.3.2 Teores de pigmentos fotossintetizantes

Os resultados da ANOVA (Tabela 6) apresentaram que os teores de Chl *a*, Chl *b*, Chl e carotenoides foram influenciados pelos efeitos isolados de Cd e pela interação entre os fatores de Cd e Se. Apenas os teores de carotenoides sofreram influência do efeito isolado da aplicação de Se ( $p \leq 0,01$ ).

**Tabela 6** - Resumo da análise de variância em relação aos teores de Clorofila *a*, *b*, total e carotenoides de plantas de milho em função dos níveis de cádmio e selênio.

Causas de variação	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Clorofila total	Carotenoides
	Valores de F			
Cádmio	10.833**	4.4038**	13.611**	3.7412*
Selênio	0.8462 <sup>ns</sup>	0.4084 <sup>ns</sup>	1.0891 <sup>ns</sup>	5.9219**
Cádmio x Selênio	4.5535**	2.2263*	2.3200*	4.5943**
Blocos	0.6035 <sup>ns</sup>	3.4593*	0.8507 <sup>ns</sup>	0.7476 <sup>ns</sup>
Média	0.73	0.67	1.42	134.01
CV (%)	82.5	86.1	50.6	18.9

<sup>ns</sup> não significativo; \*\* significativo a 1% de probabilidade; \* significativo a 5% de probabilidade pelo Teste F.

A interação entre 5 mg L<sup>-1</sup> de Se e 3,0 mg L<sup>-1</sup> de Cd originou incrementos nos teores de Chl *a* (Figura 8A), Chl *b* (Figura 8B) e Chl, (Figura 8C) tendo apresentado médias de 1,05; 0,94

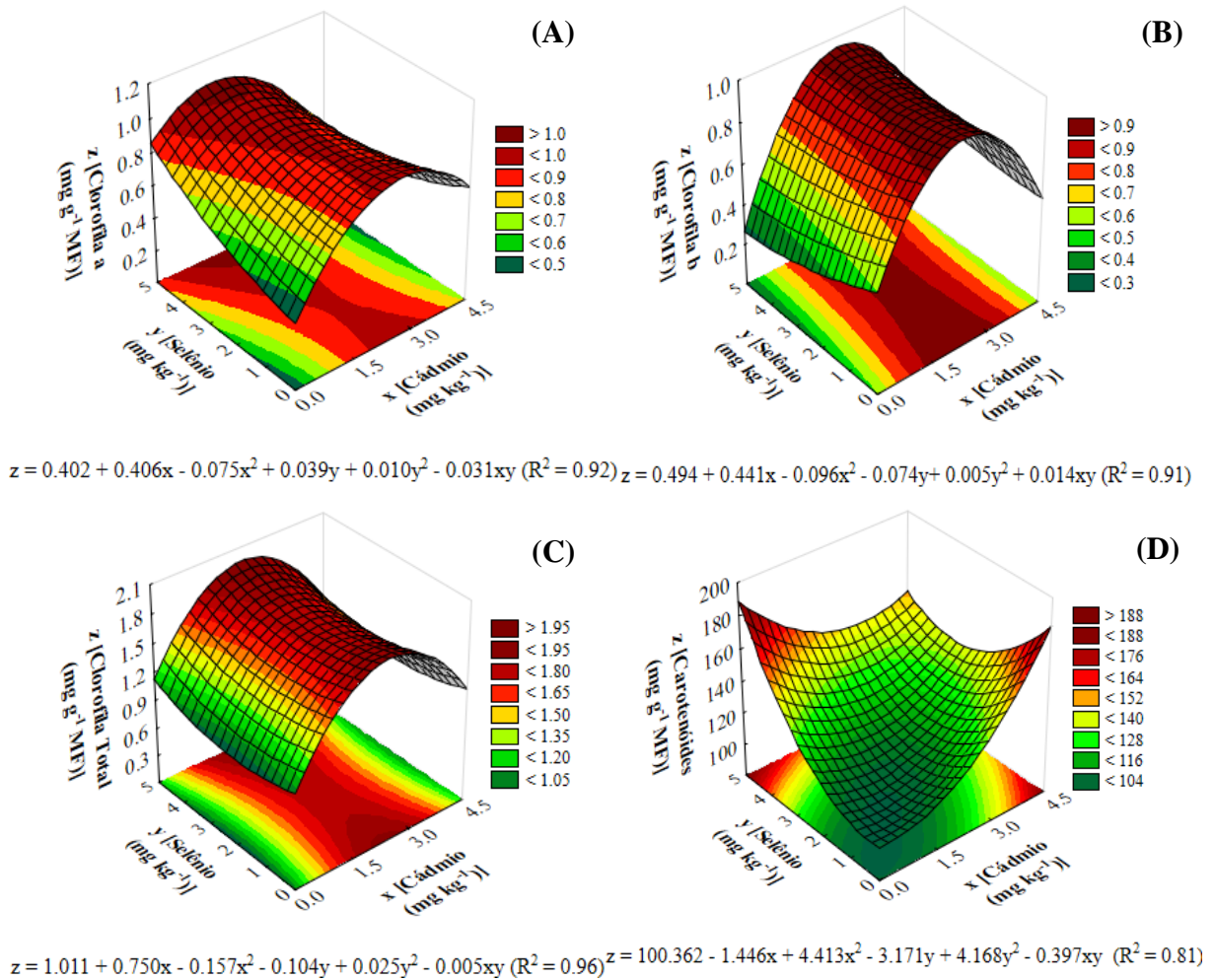
e 1,99 mg g<sup>-1</sup> MF, respectivamente. A combinação entre os fatores ocasionou acréscimos de 133,33%, 91,84% e 111,70% nas variáveis Chl *a*, Chl *b* e Chl, respectivamente, em comparação ao tratamento controle. Quando analisado o efeito das aplicações de Cd isoladamente notamos que ocorreu um acréscimo nos teores de Chl *a*, Chl *b* e Chl até a dose de 3,0 mg L<sup>-1</sup> de Cd, em relação ao tratamento controle, seguido de um pequeno decréscimo na dose de 4,5 mg L<sup>-1</sup> de Cd, sendo estes valores superiores ao tratamento controle.

Os teores de carotenoides (Figura 8D) variaram entre 102 a 184 mg g<sup>-1</sup> MF para a aplicação de 4,5 mg L<sup>-1</sup> de Cd e o tratamento controle, respectivamente. Por meio da análise de regressão é possível notar que ocorreu um acréscimo linear de 80,39% entre o tratamento controle e a dose de 4,5 mg L<sup>-1</sup> de Cd. A interação entre os maiores níveis aplicados de Cd e Se proporcionou a média de 151 mg g<sup>-1</sup> MF, sendo representado pelo decréscimo de 17,93% em relação ao encontrado na concentração de 4,5 mg L<sup>-1</sup> de Cd quando aplicado isoladamente.

O aumento nos teores de Chl *a*, Chl *b* e Chl até a dose de 3 mg L<sup>-1</sup> de Cd, possivelmente, se deve a uma tentativa de adaptação da planta, sugerindo alguma capacidade das plantas em tolerar o Cd em seus tecidos, em virtude destas concentrações, até a dose indicada, não proporcionarem efeitos adversos de toxidez nas variáveis em questão. Entretanto, o estresse causado pela aplicação de 4,5 mg L<sup>-1</sup> de Cd passou a afetar as plantas declinando os teores de clorofila, podendo essa diminuição estar atribuída à inibição de enzimas como o ácido δ-aminolevulínico desidratase (ALA-desidratase) e protoclorofilida redutase, que estão associadas a biossíntese de clorofila (PARMAR; KUMARI; SHARMA, 2013). Sendo que a aplicação de Se combinada com o Cd proporcionou uma recuperação nos teores de Chl *a*, Chl *b* e Chl, podendo ter ocorrido devido o fornecimento de níveis adequados de Se ter atuado na proteção das enzimas cloroplastídicas acelerando a biossíntese de clorofilas, aumentando os teores de pigmentos fotossintéticos, auxiliando assim, na proteção do sistema fotossintético (FILEK et al., 2010; FENG et al., 2015).

Os resultados a respeito do aumento dos teores de carotenoides em decorrência das aplicações de Cd, podem estar relacionados a uma resposta das plantas ao estresse provocando por este metal, devido às plantas, ao se encontrarem em situação de estresse aumentam suas concentrações de carotenoides, como meio de combater a formação de radicais livres (PERNIA et al., 2008). Nesse sentido, o aumento no teor de carotenoides no tecido foliar das plantas pode estar relacionado com o mecanismo antioxidante. Tendo a interação do Cd com o Se proporcionado uma diminuição nos teores de carotenoides, devido o Se possuir ação antioxidante mitigando os danos induzidos pelo estresse por Cd.

**Figura 8** – Teores de clorofila *a* (A), clorofila *b* (B), clorofila total (C) e carotenoides (D) de plantas de milho em função da combinação dos níveis de cádmio e selênio.



Fonte: A autora (2020).

### 3.4 Conclusão

A aplicação isolada de Cd afetou a A, EiC, Chl *a*, Chl *b* e Chl, principalmente, na dose de 3 mg L<sup>-1</sup> de Cd e nos carotenoides na dose de 4,5 mg L<sup>-1</sup> de Cd.

Entretanto, o Se não causou influência sobre os parâmetros de trocas gasosas, tendo o Cd propiciado o decréscimo destas variáveis.

O Se amenizou os efeitos do estresse por cádmio em plantas de milho sobre a Chl *a*, Chl *b*, Chl e carotenoides, podendo desta forma, aumentar a capacidade de defesa antioxidante dessas plantas, sendo as doses de 3 a 5 mg L<sup>-1</sup> de Se as que contribuíram para uma melhoria dos efeitos deletérios do Cd.

## REFERÊNCIAS

- AHMAD, R. *et al.* Selenium (Se) improves drought tolerance in crop plants— a myth or fact?. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 96: 372-380. 2015a.
- AHMAD, P. *et al.* Alleviation of cadmium toxicity in *Brassica juncea* L. (Czern. & Coss.) by calcium application involves various physiological and biochemical strategies. **PLoS One**, v. 10(1). 2015b.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Resolução no 420, de 28 de dezembro de 2009**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil: Brasília, DF, n. 249, p. 81-84, 2009. Seção 1.
- FENG, T.; CHEN, S. S.; GAO, D. Q.; LIU, G. Q.; BAI, H. X.; LI, A.; PENG, L. X.; REN, Z. Y. Selenium improves photosynthesis and protects photosystem II in pear (*Pyrus bretschneideri*), grape (*Vitis vinifera*), and peach (*Prunus persica*). **Photosynthetica**, Prague, v. 53 (4), p. 609–612, 2015.
- FILEK, M.; ZEMBALA, M.; KORNAŚ, A.; WALAS, S.; MROWIEC, H.; HARTIKAINEN, H. The uptake and translocation of macro- and microelements in rape and wheat seedlings as affected by selenium supply level. **Plant and Soil, The Hague**, v. 336 (1), p. 303–312, 2010.
- HE, J. *et al.* Net cádmium flux and accumulation reveal tissue-specific oxidative stress and detoxification in *Populus x canescens*. **Physiologia Plantarum**, v. 143. p. 50-63, 2011.
- KAUR, N. *et al.* Selenium in agriculture: a nutrient or contaminant for crops?. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 12, p. 1593-1624, 2014.
- KRANTEV, A. *et al.* Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 165 (9), p. 920-931, 2008.
- KWS. **Ficha de Produto K9606 VIP3**. Disponível em: [https://mediamaster.kws.com/01\\_Products/BR\\_Brazil/Productsheets/Mais/k9606\\_vip3.pdf](https://mediamaster.kws.com/01_Products/BR_Brazil/Productsheets/Mais/k9606_vip3.pdf). Acessado em: 19/12/2019.
- LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, 148: 349–382, 1987.
- LIN, L. **Mechanism of Selenium on Alleviating Cadmium Toxicity in Rice**. Zhejiang Univ, 2011.
- LIU, C.; LUO, S.; LIU, Y. Effects of Se on Cd content and distribution in rice plant under Cd stress in cold climate. **Journal of Plant Nutrition**, v. 1, p. 190-199, 2015.
- MIRANDA, R. A. de. **Uma história de sucesso da civilização**. A Granja, v. 74, n. 829, p. 24-27, 2018.
- NIKOLIĆ, N. *et al.* A. Assessment of cadmium tolerance and phytoextraction ability in young *Populus deltoides* L. and *Populus x euramericana* plants through morpho-anatomical and physiological responses to growth in cadmium enriched soil. **iForest Biogeosciences & Forestry**, v. 10, p.635-644, 2017.

PARMAR, P.; KUMARI, N.; SHARMA, V. Structural and functional alterations in photosynthetic apparatus of plants under cadmium stress. **Botanical Studies**, v. 54, p. 1-6, 2013

PERNIA, B. *et al.* Biomarcadores de contaminación por cadmio en las plantas. **INCI Caracas**, v.33 (2), p. 112-119, 2008.

RAMOS, A. M; SANTOS, L. A. R.; FORTES, L. T. G. **Normais climatológicas do Brasil 1961-1990**. rev. e ampl. Brasília: INMET. 2009.

RIZWAN, M. *et al.* Cadmium minimization in wheat: a critical review. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 130, p. 43-53, 2016.

USDA. United States Department of Agriculture. **Grain: world markets and trade**. Disponível em: <https://www.fas.usda.gov/data/grain-world-markets-and-trade>. Acesso em: 29 out. 2019.

WU, S. M.; JONG, K. J.; LEE, Y. J. Relationships Among Metallothionein, Cadmium Accumulation, and Cadmium Tolerance in Three Species. **Bulletin Environmental Contamination and Toxicology**, v. 76, p. 595-600, 2006.

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

ZOUARI, M. *et al.* Impact of proline application on cadmium accumulation, mineral nutrition and enzymatic antioxidant defense system of *Olea europaea* L. cv Chemlali exposed to cadmium stress. **Ecotoxicology an Environmental Safety**, v. 128, p.195-205, 2016.