**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Potássio na amenização dos efeitos tóxicos induzidos pelo cádmio
no capim tanzânia**

Éllen Cristina Alves de Anicésio

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutora em Ciências. Área de concentração: Solos
e Nutrição de Plantas

**Piracicaba
2018**

Éllen Cristina Alves de Anicésio
Engenheira Agrícola e Ambiental

**Potássio na amenização dos efeitos tóxicos induzidos pelo cádmio no capim
tanzânia**

Orientador:
Prof. Dr. **FRANCISCO ANTONIO MONTEIRO**

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutora em Ciências. Área de concentração: Solos
e Nutrição de Plantas

Piracicaba
2018

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP**

Anicésio, Éllen Cristina Alves de

Potássio na amenização dos efeitos tóxicos induzidos pelo cádmio no capim tanzânia / Éllen Cristina Alves de Anicésio. - - Piracicaba, 2018.

123 p.

Tese (Doutorado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Estresse oxidativo 2. Fitorremediação 3. Nutrição de plantas forrageiras 4. *Panicum maximum* I. Título

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Orlany Alves de Anicésio e João Batista de Anicésio (*in memoriam*) pelo amor incondicional, pelo apoio em todos os momentos, pela luta e sacrifício para tornar meus objetivos possíveis de serem alcançados.

Ao meu irmão Everton Augusto Alves de Anicésio e minha madrinha Cinira Teodoro Anicésio pelo amor, carinho e incentivo a minha carreira profissional.

Ao meu noivo Julio Cezar Fornazier Moreira pelo exemplo de companheirismo, dedicação, superação e, sobretudo, pelo amor e cuidado dedicados a mim.

Muito obrigada, dedico tudo o que conquistei a vocês, pois são as pessoas mais importantes da minha vida. Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado força e saúde para enfrentar os momentos difíceis e por ter me guiado sempre para as melhores escolhas.

A Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, ao Departamento de Ciência do Solo e ao Programa de Solos e Nutrição de Plantas pela oportunidade singular de aprendizado. Agradeço a todos os professores que contribuíram, de forma efetiva e enriquecedora, para minha formação profissional.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão das bolsas de estudo.

Ao meu orientador, Professor Dr. Francisco Antonio Monteiro pela confiança, amizade, ensinamentos, apoio e compreensão nos momentos que mais precisei.

A minha orientadora de mestrado, professora Dra. Edna Maria Bonfim-Silva pela amizade, confiança, ensinamentos e por ter me encorajado a cursar o doutorado na ESALQ/USP. Muito obrigada!

A minha amiga Janine Mesquita Gonçalves, pela recepção fraterna na ESALQ/USP, pelo carinho, por todas as contribuições, ensinamentos e conselhos nos momentos de dificuldade.

Aos meus eternos amigos Jakeline Rosa de Oliveira e Marcel Thomas Job Pereira, pelo amor, carinho e pelos momentos de descontração.

Aos amigos e colegas da pós-graduação da ESALQ/USP, Ana Paula Bettoni Teles, Marta Jordana Arruda Coelho, Renata Mota Lupp, Clécia Cristina Guimarães, Lílian Moreira, Rafaela Migliavacca, Mayara Martins, Alice Cassetari, Fábio Pertille, Marcos Rodrigues, Leandro Vieria Filho, Tiago Leite, André Alves, Bianca Machado pelo carinho, ajuda e apoio durante todo o curso.

Aos colegas do grupo de pesquisa de Nutrição Mineral de Plantas, João Cardoso Júnior e Roberta Nogueirol, pela ajuda dispensada e conhecimentos compartilhados.

Aos estagiários do laboratório de pesquisa de Nutrição Mineral de Plantas, Pedro Giral di, João Paulo Leme e Paula Menegale pela amizade e contribuição nas atividades práticas de pesquisa.

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

EPÍGRAFE

“Eu tentei noventa e nove vezes e falhei, mas na centésima tentativa eu consegui, nunca desista de seus objetivos mesmo que estes pareçam impossíveis, a próxima tentativa pode ser a vitoriosa.”

Albert Einstein

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
2.1. CAPIM TANZÂNIA: CARACTERIZAÇÃO E SEU POTENCIAL PARA FITORREMEDIAÇÃO.....	13
2.2. CÁDMIO.....	15
2.2.1. <i>Caracterização, origem e contaminação do solo</i>	15
2.2.2. <i>Absorção e acúmulo nas plantas</i>	16
2.2.3. <i>Toxidez em plantas</i>	18
2.3. POTÁSSIO	21
2.3.1. <i>Importância do potássio para capins</i>	21
2.3.2. <i>Metabolismo do potássio em plantas</i>	23
2.3.3. <i>Potássio e a tolerância ao cádmio</i>	25
REFERÊNCIAS.....	28
3. POTÁSSIO ALTERA CRESCIMENTO E CONCENTRAÇÃO DE CÁDMIO NO CAPIM TANZÂNIA SOB TOXIDEZ POR ESSE METAL.....	39
RESUMO	39
ABSTRACT	39
3.1. INTRODUÇÃO	40
3.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	42
3.2.1. <i>Condições experimentais</i>	42
3.2.2. <i>Diagnose visual das plantas</i>	44
3.2.3. <i>Avaliações morfológicas e produtivas</i>	44
3.2.4. <i>Avaliações nutricionais</i>	45
3.2.5. <i>Determinação do Índice Relativo de Clorofila (IRC)</i>	45
3.2.6. <i>Análises estatísticas</i>	46
3.3. RESULTADOS.....	46
3.3.1. <i>Diagnose visual</i>	46
3.3.2. <i>Morfogênese e taxa de mortalidade de perfilhos</i>	47
3.3.3. <i>Produção de massa seca</i>	51
3.3.4. <i>Concentração e acúmulo de Cd e concentração de nutrientes (K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn e Zn) na parte aérea e nas raízes</i>	52
3.3.5. <i>Índice Relativo de Clorofila (IRC)</i>	61
3.4. DISCUSSÃO.....	62
3.5. CONCLUSÃO	70
REFERÊNCIAS.....	70
4. POTÁSSIO REDUZ O ESTRESSE OXIDATIVO NO CAPIM TANZÂNIA EXPOSTO AO CÁDMIO	79
RESUMO	79
ABSTRACT	79
4.1. INTRODUÇÃO	80
4.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	82
4.2.1. <i>Condições experimentais</i>	82
4.2.2. <i>Avaliações de trocas gasosas e de fluorescência</i>	83
4.2.3. <i>Determinação da peroxidação lipídica e da concentração de peróxido de hidrogênio</i>	84

4.2.4. Extração e quantificação do conteúdo de proteína.....	85
4.2.5. Determinação da atividade de enzimas do sistema antioxidante (SOD, CAT, APX, GPX, GR).....	85
4.2.6. Determinação da concentração de prolina.....	87
4.2.7. Determinação da concentração de poliaminas	87
4.2.8. Análises estatísticas	88
4.3. RESULTADOS	89
4.3.1. Trocas gasosas e fluorescência	89
4.3.2. Peroxidação lipídica e concentração de peróxido de hidrogênio	93
4.3.3. Atividade de enzimas do sistema antioxidante (SOD, CAT, APX, GPX e GR)	95
4.3.4. Concentração de prolina.....	102
4.3.5. Concentração de poliaminas.....	104
4.4. DISCUSSÃO	106
4.5. CONCLUSÃO.....	115
REFERÊNCIAS	115

RESUMO

Potássio na amenização dos efeitos tóxicos induzidos pelo cádmio no capim tanzânia

O cádmio (Cd) é importante poluente ambiental, que prejudica a produtividade das plantas e traz consequências graves à saúde humana. Uma das possíveis estratégias para mitigar os danos provocados pelo Cd na planta é o suprimento adequado de potássio (K), uma vez que esse nutriente atua na modulação de processos fisiológicos e mecanismos antioxidantes dos vegetais. Objetivou-se avaliar a importância do K nos mecanismos envolvidos na tolerância do capim tanzânia (*Panicum maximum* cv. Tanzânia) ao estresse oxidativo induzido pelo Cd. As plantas foram cultivadas em casa de vegetação com delineamento de blocos completos ao acaso, em esquema fatorial 3x4, com três doses de K (0,4; 6,0 e 11,6 mmol L⁻¹) combinadas com quatro doses de Cd (0,0; 0,5; 1,0 e 1,5 mmol L⁻¹) fornecidas em solução nutritiva, com seis repetições, sendo três destinadas à avaliação dos parâmetros produtivos e nutricionais e outras três aos parâmetros fisiológicos e metabólicos. Foram avaliados dois períodos de crescimento das plantas, sendo o primeiro corte aos 35 dias após o transplante das mudas e o segundo aos 27 dias após o primeiro. No segundo crescimento não foi adicionado Cd na solução nutritiva. O aumento do fornecimento de K resultou em incremento na produção de massa seca da parte aérea do capim tanzânia exposto às doses de Cd até 1,0 mmol L⁻¹, no segundo corte. O acúmulo de Cd na parte aérea do capim foi mais elevado em condições de alta disponibilidade de Cd (1,5 mmol L⁻¹) e de K (11,6 mmol L⁻¹). O aumento das doses de Cd resultou em mais baixas concentrações de cálcio, magnésio, enxofre e manganês e mais elevadas concentrações de K, cobre, ferro e zinco na parte aérea do capim, no segundo corte. O maior fornecimento de K proporcionou mais elevadas taxas de assimilação de CO₂ e de transpiração, condutância estomática, eficiência quântica do fotossistema II e taxa de transporte de elétrons em plantas expostas a doses intermediárias de Cd (0,5 a 1,0 mmol L⁻¹). As concentrações de malondialdeído (MDA), peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e prolina na parte aérea das plantas foram mais altas em condições de altas disponibilidades de Cd. As mais altas doses de K para plantas submetidas ao estresse por Cd resultaram em mais baixas concentrações de MDA devido ao incremento proporcionado por esse nutriente na atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), guaiacol peroxidase (GPX), ascorbato peroxidase (APX) e glutatona redutase (GR), avaliadas no segundo corte. O K promoveu aumento das concentrações de espermidina e espermina em plantas sob toxidez por Cd. Portanto, o K ameniza os efeitos tóxicos induzidos pelo Cd no capim tanzânia, reduzindo o estresse oxidativo por meio do aumento da atividade das enzimas antioxidantes e da concentração de poliaminas, o que resulta em maior produção de massa seca da parte aérea e maior acúmulo de Cd, aumentando a capacidade de fitoextração de Cd pelo capim tanzânia.

Palavras-chave: Enzimas antioxidantes; Estresse oxidativo; Fitorremediação; Metal pesado; Nutrição de gramíneas forrageiras; *Panicum maximum*

ABSTRACT

Potassium in mitigation of cadmium-induced toxic effects in tanzania guinea grass

Cadmium (Cd) is an important environmental pollutant, which damages plant productivity and has serious consequences for human health. One of the possible strategies to mitigate the damage caused by Cd in the plant is the supply of potassium (K), since this nutrient acts in the modulation of the physiological processes and antioxidant mechanisms of the plants. The aim of this study was to evaluate the importance of K in the mechanisms involved in the tolerance of tanzania guinea grass (*Panicum maximum* cv. Tanzania) to the oxidative stress induced by Cd. Plants were grown in a greenhouse, in randomized complete block design, using a 3x4 factorial, with three rates of K (0.4, 6.0 and 11.6 mmol L⁻¹) combined with four rates of Cd (0.0, 0.5, 1.0 and 1.5 mmol L⁻¹) provided in nutrient solution, with six replications, three for the evaluation of productive and nutritional parameters and three for physiological and metabolic parameters. Two plant growth periods were evaluated, with the first harvest done at 35 days after seedlings transplanting and the second at 27 days after the first. In the second growth, Cd was not added to the nutrient solution. High K supply increased dry matter yield of tanzania guinea grass receiving Cd rates up to 1.0 mmol L⁻¹, at the second harvest. The accumulation of Cd in the shoots of the grass was high in the conditions of high availability of Cd (1.5 mmol L⁻¹) and K (11.6 mmol L⁻¹). The increase in Cd rates resulted in low concentrations of calcium, magnesium, sulfur and manganese and high concentrations of K, copper, iron and zinc in the shoots of the grass at the second harvest. High K supply provided high rates of CO₂ assimilation, transpiration, stomatal conductance, quantum efficiency of photosystem II and rate of electron transport in plants grown in intermediate rates of Cd (0.5 to 1.0 mmol L⁻¹). The concentrations of malondialdehyde (MDA), hydrogen peroxide (H₂O₂) and proline in the shoots were high in conditions of high availability of Cd. High rates of K in plants submitted to Cd stress resulted in low concentrations of MDA due to the activities superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), guaiacol peroxidase (GPX), ascorbate peroxidase (APX) and glutathione reductase (GR) determined in the second harvest. K resulted in high concentrations of spermidine and spermine in plants under the toxic effect of Cd. Therefore, K alleviates the toxic effects induced by Cd in tanzania guinea grass, reducing oxidative stress by increasing the activity of antioxidant enzymes and the concentration of polyamines, which results in high shoot dry mass production and high Cd accumulation, increasing the capacity of Cd phytoextraction by tanzania guinea grass.

Keywords: Antioxidant enzymes; Heavy metal; Nutrition of forage grasses; Oxidative stress; *Panicum maximum*; Phytoremediation

1. INTRODUÇÃO

Nos anos mais recentes, houve aumento da contaminação dos solos por elementos tóxicos, em decorrência da intensificação das atividades urbanas, industriais e agrícolas. Nesse cenário, o cádmio (Cd) é um dos elementos tóxicos/metais pesados que tem causado maior preocupação, pois além de ter um longo tempo de permanência no solo, é facilmente absorvido e transportado para a parte aérea dos vegetais, entrando na cadeia alimentar e causando prejuízos à saúde animal e humana, mesmo em baixas concentrações.

Uma das estratégias mais eficiente e menos onerosa para mitigar os problemas de contaminação do solo por metais pesados é a fitorremediação, que consiste em um conjunto de técnicas, dentre elas, a fitoextração, que permite a descontaminação do solo utilizando plantas como instrumento principal. O capim tanzânia tem se mostrado como planta promissora no que tange ao potencial de fitoextração de metais do solo. Grande parte das espécies vegetais, inclusive o capim tanzânia, apresenta menor concentração de metais na parte aérea do que nas raízes, mas a alta produção de biomassa e rápido crescimento desse capim são características que favorecem o acúmulo de metais na parte aérea, que são retirados do solo/ambiente no decorrer dos cortes sucessivos dessa gramínea forrageira.

A eficiência da fitoextração para recuperar áreas degradadas por metais pesados depende não somente do potencial da planta em absorver e transportar o metal para a parte aérea, mas também de mecanismos de resistência dessas plantas que proporcionem a manutenção da produção de biomassa e garantam a sobrevivência da espécie. Para tanto, torna-se muito importante o estado nutricional do vegetal, pois plantas com adequado balanço nutricional possuem maior tolerância a estresses ambientais, como a toxidez por metal pesado.

O potássio (K) desempenha papel importante no metabolismo vegetal que contribui para a sobrevivência das plantas sob condições de estresses. O fornecimento de K às plantas sob toxidez por metal pesado pode aumentar a tolerância dessas, uma vez que esse nutriente atua na modulação do sistema antioxidante, combatendo as espécies reativas de oxigênio. Dessa forma, o K pode representar uma alternativa para aumentar a eficiência da fitoextração de Cd pelo capim tanzânia em ambientes contaminados por esse metal.

Diante disso, a hipótese desta pesquisa é que o suprimento adequado de K para o capim tanzânia exposto aos efeitos de variadas disponibilidades de Cd ameniza o estresse oxidativo nesta planta, por meio da modulação nos atributos morfológicos, produtivos, nutricionais, fisiológicos e bioquímicos desta gramínea forrageira. Desse modo, objetivou-se avaliar as modificações ocorridas no crescimento, no balanço nutricional, nas trocas gasosas e no sistema antioxidante do capim tanzânia em decorrência do fornecimento de K para amenizar o estresse induzido por Cd nessa gramínea forrageira.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Capim tanzânia: caracterização e seu potencial para fitorremediação

No Brasil, as pastagens ocupam área de 196 milhões de hectares, o que corresponde a, aproximadamente, 23% do território nacional (FAOSTAT 2015). Dentre as gramíneas forrageiras cultivadas nas pastagens do país, a espécie *Panicum maximum* é uma das mais utilizadas devido sua alta produtividade de biomassa, valor nutricional e boa adaptabilidade às condições adversas de solo e clima (Correia e Gomes 2016; Jank et al. 2010; Luna et al. 2016; Macedo et al. 2017).

O *Panicum maximum* cv. Tanzânia é um dos cultivares de maior destaque no cenário pecuário nacional, especialmente em sistemas de produção intensivos (Braz et al. 2017; Paciullo et al. 2017). O capim tanzânia tem crescimento cespitoso, apresenta porte médio (em torno de 1,2 m, sob livre crescimento), folhas médias (em torno de 2,6 cm de largura), decumbentes e desprovidas de pilosidade. Os colmos não apresentam cerosidade e as inflorescências são do tipo panícula. O capim tanzânia é muito responsivo à adubação, possui alta capacidade de rebrotação e apresenta maior tolerância a condições adversas como alagamento, toxidez por alumínio e ataque de pragas do que os demais cultivares da espécie *Panicum maximum* (Jank et al. 2010).

Nos anos recentes, o capim tanzânia tem sido estudado sob condições de fitotoxicidade e em recuperação de áreas contaminadas por metais pesados (Miranda et al. 2012; Monteiro et al. 2011; Nascimento et al. 2014; Rabêlo et al. 2017; Silva et al. 2016). A contaminação dos solos por metais pesados é importante problema ambiental devido aos danos causados na qualidade do solo e as graves consequências na saúde animal e humana. Uma das estratégias para mitigar o problema é o uso de uma tecnologia ambientalmente correta e de baixo custo, a fitorremediação (Nascimento et al. 2014; Souza et al. 2013).

A fitorremediação é um conjunto de técnicas que visam a descontaminação dos solos por meio de plantas. Dentre elas, estão a fitoestabilização e a fitoextração. Na fitoestabilização, boa parte do contaminante permanece complexado nos tecidos das raízes, evitando que ele migre para áreas adjacentes ou corpos hídricos. Na fitoextração, o contaminante é absorvido pelas raízes e transportado para a parte aérea, tornando possível sua remoção do solo por meio do corte e retirada do material

colhido (Souza et al. 2013; Zhang et al. 2010). O capim tanzânia apresenta potencial para ser empregado nessas duas técnicas (Monteiro et al. 2011; Nascimento et al. 2014; Rabêlo et al. 2017; Silva et al. 2016; Souza Júnior et al. 2018).

A eficiência da fitoextração depende de dois fatores: alta produção de biomassa e alta concentração de metal na parte aérea. As plantas que apresentam altas concentrações de metais na parte aérea (hiperacumuladoras), em geral, possuem crescimento lento e produzem pequena quantidade de biomassa, o que proporciona baixa quantidade de metal extraído (Luo et al. 2015). Portanto, embora o capim tanzânia possa não conseguir ter altas concentrações de metais na parte aérea, ele tem potencial para fitoextração de metais, pois essa gramínea apresenta rápido crescimento, alta produção de biomassa e cortes sucessivos, o que permite alta extração de metais, que pode ser maior do que em uma espécie hiperacumuladora, devido à relação entre concentração de metal na parte aérea e massa acumulada por essas espécies (Adie e Osibanjo 2010; Gilabel et al. 2014; Monteiro et al. 2011; Souza et al. 2013).

Monteiro et al. (2011) cultivaram plantas de capim tanzânia em solução nutritiva com a adição de bário nas doses de 0,5; 2,5; 5,0; 10,0 e 20,0 mmol L⁻¹ e observaram que na dose de 20,0 mmol L⁻¹ o acúmulo desse elemento tóxico nos tecidos vegetais da parte aérea foi cerca de 10 vezes maior do que nas raízes, indicando o potencial fitoextrator desse metal por essa gramínea forrageira.

Gilabel et al. (2014), estudando o capim tanzânia em dois períodos de crescimento e aplicando doses de cobre de 0,3; 100; 500 e 1000 µmol L⁻¹, verificaram que quando foi aplicado cobre na dose de 1000 µmol L⁻¹, o acúmulo deste metal na parte aérea do capim, no primeiro corte, foi de 94,8 µg/planta. Entretanto, no segundo período de crescimento, quando as raízes já estavam saturadas com o metal, houve expressivo aumento do transporte de cobre para a parte aérea, e a dose de cobre de 1000 µmol L⁻¹ proporcionou aumento de 16 vezes no acúmulo desse metal na parte aérea no segundo corte comparado ao primeiro e acúmulo semelhante de cobre nas raízes (1108,65 µg/planta) e na parte aérea (1546,41 µg/planta) do segundo corte.

2.2. Cádmio

2.2.1. Caracterização, origem e contaminação do solo

O Cd é um elemento químico que pertence ao grupo IIB da tabela periódica. É metal de transição, com número atômico 48 e densidade de $8,65 \text{ g cm}^{-3}$, sendo considerado, portanto, metal pesado por possuir número atômico e densidade maiores que 20 e 5 g cm^{-3} , respectivamente (Ali-Zade et al. 2010; IUPAC 2016). É um metal relativamente raro na natureza (ocupa o 65º lugar em ordem de abundância dos elementos na crosta terrestre) e sua concentração no ambiente tem aumentado nas décadas mais recentes em decorrência da intensificação de atividades antrópicas (He et al. 2015).

A origem do Cd presente no solo pode ser litogênica (natural) ou antropogênica. Na origem litogênica ele ocorre como constituinte de minerais primários e, em geral, a maioria dos solos apresenta concentração natural de Cd de 1 mg kg^{-1} . Entretanto, essa concentração pode variar de acordo com o material de origem do solo. Em solos derivados de rochas ígneas e metamórficas, a concentração de Cd varia entre $0,1$ e $0,3 \text{ mg kg}^{-1}$ e $0,1$ e $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente, enquanto que solos originados a partir de rochas sedimentares apresentam concentração de Cd de $0,3$ a 11 mg kg^{-1} (Alloway 1995; Kabata-Pendias 2010).

De forma natural, o Cd se mobiliza na crosta terrestre por meio de atividades vulcânicas, intemperismo das rochas (material de origem), queima de florestas e transporte de partículas de solo pelo vento (Tran e Popova 2013). Entretanto, devido à baixa concentração natural do metal, os reais problemas de contaminação por esse elemento são ocasionados pelas ações humanas (Alloway 1995; Clemens e Ma 2016).

As principais entradas antropogênicas de Cd no solo ocorrem por eliminação de resíduos contaminados com metais provenientes, especialmente, de atividades de mineração e industriais, incluindo processamento de metais e minérios, refinaria de zinco, indústrias de plástico e lubrificantes, indústrias de eletrônicos, indústrias de baterias níquel-cádmio, fábricas de cimento, combustão de carvão e combustíveis fósseis. As atividades agrícolas, embora em menor escala, também contribuem para o aumento de Cd no solo com aplicação de lodo de esgoto e fertilizantes fosfatados que estejam contaminados com Cd (Jiao et al. 2012; Liang et al. 2017; Liu et al. 2017; Lu et al. 2018; Tran e Popova 2013; Wu et al. 2014).

Nas cinco décadas mais recentes, as atividades antropogênicas provocaram a liberação de 22000 toneladas de Cd no mundo (He et al. 2015). De acordo com Zhuang e McBride (2013), o Cd ocupa o terceiro lugar entre os metais que mais aumentaram suas concentrações em solos agrícolas no século XX. Alguns estudos têm verificado altas concentrações de Cd em solos agrícolas usados para produzir alimentos na China (Peng et al. 2016; Zhao et al. 2015).

No Estado de São Paulo, a CETESB divulgou pela primeira vez a lista de locais contaminados em maio de 2002, registrando a existência de 255 áreas contaminadas. Na atualização mais recente, ocorrida em dezembro de 2016, foram totalizados 5.662 registros no Cadastro de Áreas Contaminadas e Reabilitadas no Estado de São Paulo. Os metais representam o quarto grupo de contaminante mais encontrado no Estado, com 1012 registros (CETESB 2016). Dentre esses metais, o Cd é um dos poluentes ambientais mais preocupantes devido seu longo tempo de permanência no solo (meia vida de 15 a 1100 anos) e alta mobilidade no sistema solo-planta, além da elevada toxicidade para os organismos vivos, mesmo estando em baixas concentrações no solo (Alloway 1995; Clemens e Ma 2016; Gallego et al. 2012; Nazar et al. 2012; Tran e Popova 2013).

2.2.2. Absorção e acúmulo nas plantas

O Cd está presente na solução do solo, principalmente, na forma de íon Cd^{2+} , mas também pode ser encontrado em complexos orgânicos e inorgânicos (Shahid et al. 2017). Esse elemento é absorvido pelas raízes predominantemente pelo mecanismo de fluxo de massa, devido ao seu baixo coeficiente de difusão na solução do solo (Lux et al. 2011).

Na maioria dos solos, a concentração de Cd na solução é baixa (0,04 até 0,32 mmol L^{-1}). Entretanto, quando a concentração de Cd na solução do solo está entre 0,32 e 1,0 mmol L^{-1} , o solo é considerado contaminado em nível moderado (Sanità di Toppi e Gabbrielli 1999; Wagner 1993). Em solos contaminados por Cd, o índice de fitoacumulação de Cd (razão da concentração de Cd na planta e no solo) é elevado, podendo ultrapassar o dos elementos essenciais, devido a alta mobilidade do Cd no sistema solo-planta (Gonçalves et al. 2009).

Em decorrência de sua não essencialidade, não existem transportadores específicos nas membranas plasmáticas para a entrada de Cd nas células das raízes

(Shahid et al. 2017). Entretanto, esse elemento tóxico é absorvido pelas raízes de forma acidental por transportadores de elementos essenciais como ferro (Fe^{2+}), cálcio (Ca^{2+}), zinco (Zn^{2+}), cobre (Cu^{2+}) e magnésio (Mg^{2+}), podendo interferir na absorção desses nutrientes quando está presente em altas concentrações na solução do solo (Clemens 2006; Llugany et al. 2012). O Cd pode entrar nas células das raízes por meio dos transportadores da família ZIP (proteínas que transportam Zn e Fe), pelos canais de cátions e pelas proteínas YSL (Yellow-Stripe 1-Like), este último na forma de quelatos (Gallego et al. 2012; Lux et al. 2011).

Após ser absorvido na epiderme ou exoderme, o Cd é transportado radialmente através do córtex, endoderme e células do periciclo até alcançar os vasos condutores do xilema e poder ser transportado para a parte aérea por meio do fluxo transpiratório (Clemens e Ma 2016). O transporte de Cd nas raízes até o xilema pode ser via apoplasto e simplasto, sendo que este último requer transportadores de membrana (Clemens e Ma 2016; Song et al. 2017). Ao chegar nas folhas, a água evapora e o Cd permanece, sendo acumulado na parte aérea (Liu et al. 2010). Dentre os elementos tóxicos, o Cd apresenta a maior taxa de transporte para a parte aérea.

Nas células das raízes, o transporte de Cd via apoplasto pode ocorrer até o elemento atingir as estrias de Caspary, que constituem uma barreira física localizada na exoderme e na endoderme radicular. A partir daí, os íons do metal entram nas células e são transportados via simplasto até o cilindro vascular e elementos do xilema (Akhter et al. 2014). O movimento do Cd nas raízes em direção ao xilema é restringido de várias formas, o que configura estratégias de resistência ao metal (Clemens e Ma 2016). No apoplasto, as paredes das células radiculares que possuem cargas negativas adsorvem os íons metálicos, atuando como barreira inicial para o transporte de Cd (Song et al. 2017; Vazquez et al. 2006). No simplasto, o Cd forma complexos com ligantes de metais, como as fitoquelatinas e as metalotioneínas, e é armazenado nos vacúolos (Llugany et al. 2012; Mendoza-Cozatl et al. 2011; Verbruggen et al. 2009). Portanto, a maioria das espécies vegetais acumula Cd em seus tecidos radiculares, e apenas uma pequena parte é transportada para a parte aérea, exceto nas plantas hiperacumuladoras (Lux et al. 2011; Mendoza-Cozatl et al. 2011; Podazza et al. 2012).

No geral, a concentração de Cd nas plantas obedecem a seguinte ordem: raízes>caules>folhas>frutos>sementes (Benavides et al. 2005). A concentração de Cd nas raízes das plantas pode ser dez vezes maior do que na parte aérea, sugerindo

que as raízes funcionam como uma excelente barreira para o transporte de Cd (Shahid et al. 2017). Entretanto, em condições de alta concentração de Cd na solução do solo por um longo tempo de exposição, as raízes podem ficar saturadas, ocasionando o transporte do metal para a parte aérea em maiores quantidades (Rabêlo et al. 2017). No caule, a alta capacidade de troca de cátions das paredes celulares do xilema restringe o transporte dos íons metálicos para as folhas (Song et al. 2017). Portanto, a concentração de Cd na parte aérea depende da entrada nas raízes (absorção), sequestro nos vacúolos, transporte no xilema e floema, além da diluição na parte aérea em decorrência do acúmulo de massa (Lux et al. 2011).

A redistribuição entre folhas e o acúmulo de Cd nos órgãos reprodutivos (frutos e sementes) depende do transporte a longas distâncias e ocorre em função do carregamento do floema e de sua mobilidade nesses vasos condutores e da eficiência de transferência do xilema para o floema (Clemens e Ma 2016).

2.2.3. Toxidez em plantas

O Cd ocupa a sétima posição entre as vinte principais substâncias perigosas elencadas pela Agência de Substâncias Tóxicas e Registro de Doenças (ATSDR 2017). Dentre os metais pesados, o Cd não apresenta função biológica, sendo considerado altamente tóxico para todos organismos vivos (Kabata-Pendias 2010).

Uma das causas da fitotoxidez por Cd está na interferência desse metal na absorção, transporte e redistribuição de nutrientes como o cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn), zinco (Zn), cálcio (Ca), magnésio (Mg), potássio (K) e nitrogênio (N) (Araújo et al. 2017; Benáková et al. 2017; Wang et al. 2007). O Cd entra nas células radiculares pelos mesmos transportadores/canais que os cátions metálicos divalentes (Cu, Fe, Mn, Zn, Ca e Mg); então quando presente em altas concentrações na solução do solo, ele inibe a absorção e restringe o transporte desses elementos essenciais para a parte aérea (Clemens 2006; Solti et al. 2011). Adicionalmente, o Cd inibe a atividade de enzimas relacionadas ao metabolismo de nutrientes (como o N) (Singh e Prasad 2017), bem como induz a produção de fitoquelatinas que podem deixar indisponíveis elementos metálicos essenciais (como o Cu) (Gielen et al. 2017), provocando o rompimento da homeostase nutricional.

Nos tecidos vegetais da parte aérea, o Cd provoca distúrbios na estrutura e funcionamento do aparato fotossintético. Esse elemento reduz a concentração de

pigmentos fotossintéticos, especialmente a clorofila, por interferir na atividade de enzimas responsáveis por sua biossíntese, além de aumentar a atividade de enzimas de degradação dessa molécula e substituir o átomo de Mg em sua estrutura (Parmar et al. 2013; Roychoudhury et al. 2016; Ulusu et al. 2017). Adicionalmente, o Cd induz alterações na estrutura dos cloroplastos e nas membranas dos tilacóides, o que diminui a eficiência quântica máxima do fotossistema II, proporcionando baixo rendimento da etapa fotoquímica da fotossíntese (Daud et al. 2016). O Cd interfere nas trocas gasosas, provoca o fechamento dos estômatos, o que ocasiona redução da condutância estomática (Ibrahim et al. 2015; Zouari et al. 2016), além de inibir enzimas envolvidas na fixação do CO₂ (ciclo de Calvin) como a ribulose-1,5-bifosfato carboxilase (Rubisco), provocando redução na assimilação do carbono (Per et al. 2016).

Araújo et al. (2017) avaliaram a toxicidade de Cd em plantas jovens de cacau (*Theobroma cacao*) crescidas em solo com concentrações de Cd de 0 (controle); 0,05 e 0,1 g kg⁻¹ de solo, durante 120 dias. Esses autores relataram que o aumento da dose de Cd alterou a absorção de nutrientes por competição, reduziu a atividade fotossintética devido a diminuição dos pigmentos cloroplastidiais e da condutância estomática, e aos danos no aparato fotossintético evidenciado pela redução da eficiência quântica máxima do fotossistema II (Fv/Fm). Adicionalmente, verificaram a ruptura da membrana plasmática em células das raízes, a desorganização das membranas dos tilacóides em células do mesófilo foliar e a destruição das mitocôndrias nas raízes e folhas. Essas alterações na anatomia celular das plantas de cacau ocorreram em decorrência do estresse oxidativo promovido pelo excesso de espécies reativas de oxigênio (EROs).

Nos vegetais, as EROs (radical superóxido (O₂⁻), peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e o radical hidroxila (OH⁻)) são produzidas continuamente como subprodutos de inúmeras vias metabólicas que estão localizadas nos compartimentos celulares (Gratão et al. 2005). Entretanto, em condições de estresse por Cd, a produção de EROs pode ser superior à capacidade de desintoxicação apresentada pelo sistema antioxidante da planta, o que pode ser prejudicial à sobrevivência do vegetal (El-Beltagi e Mohamed 2013).

As EROs interferem no potencial redox das células e reagem com lipídeos, proteínas, pigmentos e ácidos nucleicos, resultando em vários efeitos tóxicos que incluem peroxidação lipídica, danos às membranas e a inativação de enzimas, que

podem resultar na morte celular (Demidchik 2015). Para evitar os efeitos deletérios advindos das EROs e sobreviver sob condições de estresse, mantendo sua homeostase redox, as células vegetais possuem compostos antioxidantes enzimáticos, tais como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), glutathione redutase (GR), guaiacol peroxidase (GPX), bem como compostos não enzimáticos, tais como glutathione (GSH), ácido ascórbico (ASA), prolina, carotenóides e flavonóides. Esses antioxidantes têm a função de eliminar as EROs, transformando-as em compostos não tóxicos, representando importante mecanismo de defesa para diminuir os danos oxidativos provocados pela contaminação com metais pesados (Domínguez et al. 2010; Namdjoyan et al. 2011; Zhang et al. 2014).

O Cd é metal não redox, portanto não pode produzir radicais hidroxilas ($\text{OH}^\cdot$), um tipo de ERO muito tóxica, via reações de Haber-Weis e Fenton (Clemens 2006). Entretanto, esse elemento induz o acúmulo de todas as formas de EROs, de forma indireta, em decorrência de seus efeitos negativos no sistema de defesa antioxidante (alta afinidade do Cd pelos grupos tióis das enzimas antioxidantes, inibindo-as) e na cadeia transportadora de elétrons dos cloroplastos e mitocôndrias (Gallego et al. 2012; Ulusu et al. 2017). Adicionalmente, o Cd ocasiona substituição de metais Fenton (exemplo, Fe e Cu) em proteínas, incrementando os metais redox-ativos livres, além de estimular a atividade da NADPH oxidase ligada à membrana plasmática (Garnier et al. 2006; Thevenod e Lee 2013). Portanto, uma das principais consequências da toxicidade por Cd é o dano oxidativo, ocasionado pelo excesso de EROs (Wang et al. 2017b).

Daud et al. (2016), ao avaliarem a resposta do sistema antioxidante do algodão (*Gossypium hirsutum*) cultivado na ausência ou presença de Cd na solução nutritiva ($50 \mu\text{mol L}^{-1}$), pelo período de sete dias, verificaram que as atividades das enzimas SOD e GR reduziram e das enzimas POD e APX aumentaram na presença do elemento tóxico. Observaram ainda que o teor de malondialdeído (MDA) aumentou na presença do Cd, indicando que houve peroxidação das membranas lipídicas. Da mesma forma, estudando o efeito do Cd ($10, 50, 100, 150$ e $200 \mu\text{mol L}^{-1}$) em plantas de hibisco (*Hibiscus cannabinus*) por seis dias de exposição, Deng et al. (2017) relataram aumento da peroxidação lipídica das membranas (MDA), porém verificaram redução das atividades das enzimas SOD e POD com a elevação da disponibilidade e do tempo de exposição a esse metal.

Em decorrência dos danos fisiológicos e metabólicos, a toxidez por Cd proporciona mudanças morfológicas nos vegetais, como crescimento atrofiado das raízes e da parte aérea, folhas enroladas e clorose/necrose foliar. O Cd inibe a formação de raízes laterais enquanto a raiz principal torna-se marrom, grossa e retorcida (Costa et al. 2012; Daud et al. 2016; Li et al. 2017; Lux et al. 2011; Pereira et al. 2017). O maior diâmetro das raízes expostas ao Cd ocorre devido ao incremento do tamanho das células do parênquima e a maior espessura do córtex, o que aumenta a resistência ao fluxo radial de água e nutrientes, reduzindo o crescimento das raízes e da parte aérea (Maksimovic et al. 2007).

Benáková et al. (2017), ao investigarem as mudanças fisiológicas e anatômicas em plantas de *Brassica napus*, cultivadas com Cd ($5 \mu\text{mol L}^{-1}$) e Zn ($10 \mu\text{mol L}^{-1}$), isolado ou em conjunto, durante 14 dias, relataram que a toxicidade de Cd provocou clorose foliar, menor crescimento das raízes e redução na massa fresca de raízes e parte aérea. As raízes de plantas expostas ao Cd mostraram-se mais grossas. Uma das causas para a maior espessura das raízes é o aumento das células do periciclo. Essas células apresentaram divisões irregulares, o que prejudica o crescimento de raízes laterais, visto que a camada do periciclo é responsável pelo desenvolvimento inicial dessas raízes (Laskowski et al. 1995).

2.3. Potássio

2.3.1. Importância do potássio para capins

O K é um dos macronutrientes requeridos em maiores quantidades para o crescimento e produtividade dos capins, nos quais apresenta concentrações de 15 a 30 g kg^{-1} de massa seca (Coutinho et al. 2004). As células das espécies vegetais, em geral, possuem alto requerimento por K, pois esse nutriente é fundamental para o metabolismo vegetal, como ativação de enzimas, síntese de proteínas, regulação osmótica (turgor celular), controle de abertura e fechamento dos estômatos e transporte de fotoassimilados no floema, favorecendo maior fixação de CO_2 (maior taxa fotossintética). Adicionalmente, o K contribui para manutenção do balanço cátion-ânion no citosol proporcionando pH adequado para o funcionamento celular (Marschner 2012). Portanto, a resposta das plantas forrageiras à adição de K reflete o impacto direto ou indireto de sua participação na fisiologia vegetal.

Uma característica comum às gramíneas forrageiras é a contínua emissão de folhas e perfilhos que garante boa produção de massa, e sobretudo, a perenidade dessas espécies vegetais que são submetidas a cortes sucessivos (Sarath et al. 2014). O estado nutricional, com destaque à concentração de K em seus tecidos, reflete na capacidade de perfilhamento e outros atributos morfológicos dessas gramíneas forrageiras (Cabral et al. 2017; Megda e Monteiro 2010). Tem sido relatado que o K também exerce influência na área foliar das plantas devido esse nutriente impulsionar o crescimento das células e aumento na área foliar (Lavres Júnior e Monteiro 2003; Megda e Monteiro 2010).

Coutinho et al. (2014) avaliaram o efeito da aplicação de potássio (0, 60, 120 e 180 mg kg⁻¹), em dois tipos de solo, no capim Tifton 85 (*Cynodon* spp.), e observaram que a adubação potássica aumentou o perfilhamento da forrageira em dois cortes e em ambos solos estudados. Mattos et al. (2002) verificaram que o perfilhamento e a produção de massa seca da parte aérea e das raízes do capim tanzânia aumentaram em decorrência do maior fornecimento de K na solução nutritiva.

O K exerce grande influência na eficiência de uso do N (Lavres Júnior et al. 2010). Esse nutriente otimiza o crescimento e desenvolvimento das gramíneas forrageiras, principalmente, quando aplicado em conjunto com o N. Megda e Monteiro (2010; 2015) avaliaram os aspectos morfológicos, produtivos e nutricionais do capim marandu (*Brachiaria brizantha*) submetido a combinações de doses de N (2,0; 8,0; 15,0; 24,0 e 33,0 mmol L⁻¹) e K (0,5; 3,0; 6,0; 8,5 e 11,0 mmol L⁻¹) e relataram aumento do número de perfilhos e de folhas, da área foliar, da produção de massa seca da parte aérea e das raízes e da atividade da enzima nitrato redutase quando havia maior disponibilidade de ambos nutrientes na solução nutritiva, evidenciando a importância do K para o incremento da resposta ao fornecimento de N.

Consolmagno Neto et al. (2007), ao estudarem os efeitos das combinações de doses de K (0,4; 3,2; 6,0; 8,8; 11,6 mmol L⁻¹) e de Mg (0,05; 0,70; 1,35; 2,0; 2,65 mmol L⁻¹) no capim tanzânia, verificaram que, independentemente da dose de Mg fornecida, o K incrementou, nos dois cortes do capim, o número de perfilhos e de folhas e a área foliar. Contudo, a massa seca da parte aérea, no segundo corte, teve significância da interação doses de K × doses de Mg, apresentando maiores produções em condições de alta disponibilidade dos dois nutrientes.

A disponibilidade de nutrientes exerce papel fundamental no crescimento e desenvolvimento do sistema radicular das plantas. Alguns estudos mostram a importância do K para as raízes dos capins. Monteiro e Consolmagno Neto (2008), num estudo em solução nutritiva com o capim tanzânia, verificaram que, além da massa seca de raízes, alguns atributos morfológicos do sistema radicular foram influenciados pelo fornecimento de K e Mg. Esses autores notaram valores máximos de comprimento e superfície radicular, nas doses de K de 10,9 e 8,6 mmol L⁻¹, respectivamente. Lavres Júnior e Monteiro (2003) observaram maiores valores de superfície e comprimento total das raízes do capim mombaça em condições de mais elevada disponibilidade de K (11 mmol L⁻¹) na solução nutritiva.

Para gramíneas forrageiras, o sistema radicular, além de fixar a planta ao substrato e absorver água e nutrientes, exerce grande participação nos mecanismos de recuperação do capim após o corte da parte aérea. Um dos fatores que contribuem para o vigor da rebrotação é a magnitude das reservas orgânicas da planta forrageira, sobretudo a de carboidratos não estruturais (CNE), que incluem glicose, frutose, sacarose e amido. As reservas de CNE são mobilizadas das raízes ou base do colmo a fim de servir de substrato para fornecer energia e manter a atividade metabólica do sistema radicular e proporcionar esqueletos de carbono para formação de novos tecidos da parte aérea das plantas após o corte. As reservas de compostos orgânicos nitrogenados também são importantes para o restabelecimento da rebrotação após o corte. Tendo em vista o papel do potássio no metabolismo do nitrogênio e no transporte de açúcares nos vegetais, a deficiência desse nutriente compromete a magnitude dessas reservas e reduz o vigor da rebrota dos capins (Coutinho et al. 2004).

2.3.2. Metabolismo do potássio em plantas

O K é absorvido pelas plantas, na forma de íon monovalente K⁺, contra o gradiente de concentração através de transportadores e canais localizados na membrana plasmática das células radiculares (Ashley et al. 2006). Esse nutriente não sofre alteração em sua forma no interior das plantas, possui alta mobilidade dentro de células e tecidos vegetais, além de não ser incorporado em compostos orgânicos. Tendo em vista sua alta mobilidade, o K é transportado não somente em curtas

distâncias entre células individuais e tecidos adjacentes, mas também a longas distâncias pelo xilema e floema (Marschner 2012; Taiz et al. 2017).

O K^+ é o cátion inorgânico mais abundante nos tecidos vegetais, podendo estar armazenado no citoplasma ou no vacúolo das células. Este nutriente desempenha diversas funções fisiológicas, responsáveis pelo crescimento e desenvolvimento vegetal, incluindo ativação enzimática, regulação osmótica, transporte de fotoassimilados, balanço cátion-ânion, regulação do pH citoplasmático, síntese de proteínas e conservação de energia por meio das membranas. Considerando que a maioria dessas funções está diretamente envolvida na adaptação das plantas aos ambientes inóspitos, o K tem papel importante na tolerância dos vegetais a estresses bióticos e abióticos (Marschner 2012; Oosterhuis et al. 2013).

No interior das células vegetais, o K liga-se aos sítios específicos de proteínas induzindo mudanças conformacionais na estrutura de enzimas inativas, o que resulta na ativação dessas enzimas e no aumento da sua afinidade pelo substrato. O K é responsável pela ativação de mais de 60 enzimas que estão envolvidas em diversas funções metabólicas e fisiológicas nos vegetais, como a assimilação do N e a síntese de proteínas e carboidratos. Então, o K está relacionado à incorporação de N em proteínas, além da polimerização de aminoácidos, participando assim, da síntese de proteínas. Adicionalmente, o K atua na síntese (ativação da sintase do amido, sacarose sintase e piruvato quinase) e transporte de carboidratos. Portanto, plantas deficientes em K apresentam acúmulo de compostos de baixo peso molecular como aminoácidos, nitrato e glicose (Marschner 2012; Mengel e Kirkby 2001).

O K é o soluto vacuolar mais importante para controlar o processo de osmorregulação celular, mantendo adequada pressão de turgor para funcionamento das células (Oosterhuis et al. 2013). Em condições de estresses abióticos que ocasionam prejuízos no balanço hídrico das plantas, o K atua no ajuste osmótico da célula. Há incremento na concentração de K nos vacúolos, o que proporciona menores valores de potencial hídrico, permitindo a entrada de água na célula mesmo durante esse período de estresse (Marschner 2012; Taiz et al. 2017). Adicionalmente, o K estimula a síntese de solutos osmoticamente ativos, como malato e prolina, propiciando ajuste osmótico, também de forma indireta, aos vegetais (Abbasi et al. 2015; Ahanger e Agarwal 2017). Como a osmorregulação é indispensável para a expansão celular, o K tem papel fundamental no crescimento das plantas (Römheld e Kirkby 2010).

O funcionamento de diversos processos fisiológicos e metabólicos que interfere na taxa fotossintética está relacionado com a concentração de K nas células vegetais. A concentração de K nas células guarda do estômato controla a pressão de turgor dessas células e conseqüentemente regula a abertura e o fechamento dos estômatos (Amjad et al. 2016; Marschner 2012; Shabala e Pottosin 2014). A presença de K no citosol das células é importante para manter a atividade da ATPase localizada na membrana interna dos cloroplastos. Esta enzima bombeia prótons do estroma para o citosol enquanto há fluxo de K para o estroma, mantendo assim, um pH alcalino no estroma cloroplastidial, que é condição necessária para atividade fotossintética, ou seja, para haver a conversão de energia luminosa em energia química (Oosterhuis et al. 2013). Em decorrência do papel do K em transportar assimilados de carbono das fontes para os drenos, as plantas deficientes em K tendem a acumular altas concentrações de açúcares solúveis, inibindo desta forma, a fixação de carbono (Kanai et al. 2007). A deficiência de K ativa vias de sinalização que reduzem a produção de clorofila, além de afetar a síntese e ativação da enzima Rubisco (Hermans et al. 2006; Mengel e Kirkby 2001).

2.3.3. Potássio e a tolerância ao cádmio

A mitigação dos efeitos negativos em plantas expostas ao excesso de Cd é dependente do aumento da capacidade de tolerância da planta a esse metal. A otimização do manejo nutricional interfere positivamente nesses fatores, pois além de serem essenciais para o crescimento e desenvolvimento de plantas, os nutrientes atuam induzindo processos fisiológicos que atenuam a severidade da toxidez por Cd, como são os casos de incremento na atividade antioxidante das plantas e de redução da absorção do metal. O aumento da atividade das enzimas do sistema antioxidante mantém o estado redox da célula vegetal e remove EROs, o que protege os processos metabólicos e fisiológicos dos vegetais, (como a funcionalidade do sistema fotossintético), resultando em incremento no crescimento e na produção de massa seca da planta (Anjum et al. 2008; Nazar et al. 2012; Sarwar et al. 2010; Umar et al. 2008).

Dentre os nutrientes necessários ao desenvolvimento vegetal, o K desempenha funções vitais no metabolismo e crescimento, otimizando a adaptação das plantas aos estresses ambientais (Ahmad et al. 2014). Pesquisadores têm

observado aumento na fotossíntese, condutância estomática, crescimento e biomassa em várias espécies vegetais suplementadas com K quando sob estresse por Cd (Shamsi et al. 2010; Wang et al. 2017a; Zaheer et al. 2018). Sendo assim, o fornecimento de K pode amenizar o estresse causado por Cd, devido a possibilidade desse nutriente atuar na modulação de diversos processos fisiológicos e metabólicos que são prejudicados pela toxidez por Cd.

As plantas submetidas ao estresse por Cd apresentam elevada concentração de MDA, resultado da peroxidação lipídica das membranas celulares provocada pelo rápido acúmulo de EROs (Ahmad et al. 2016). O incremento no conteúdo de MDA reduz a taxa fotossintética por restringir a biossíntese de clorofila e impedir o transporte de elétrons na cadeia da fotossíntese (Latef 2013; Zaheer et al. 2018). O suprimento de K em plantas expostas ao excesso de Cd pode proporcionar menor acúmulo de EROs, resultando em menor concentração de MDA (peroxidação lipídica), o que provoca menores danos oxidativos às membranas (Eker e Uysal 2013; Wang et al. 2017a). A redução no conteúdo de MDA proporcionada pelo K pode ser devido ao aumento da atividade de compostos antioxidantes enzimáticos (SOD, CAT, APX, GR) e não enzimáticos (prolina, GSH, AsA) e à inibição da ativação da NADPH oxidase (enzima geradora de radicais livres de oxigênio) (Siddiqui et al. 2012; Zaheer et al. 2018).

Ahmad et al. (2016) avaliaram plantas de grão de bico (*Cicer arietinum*) expostas à dose de Cd de 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$, por 30 dias, e suplementadas com 50 e 10 mmol L^{-1} de Ca e K, respectivamente. Observaram que o fornecimento de K e Ca possibilitou incremento no crescimento, no conteúdo de clorofila e na absorção de nutrientes (Ca, Mg, Mn, K e S) e menor conteúdo de H_2O_2 e MDA devido a mais elevada atividade de enzimas antioxidantes (SOD, CAT, APX e GR) e mais alta concentração de prolina.

O metabolismo do K está relacionado ao conteúdo de compostos nitrogenados orgânicos de baixo peso molecular, as poliaminas putrescina (PUT), espermidina (SPD) e espermina (SPM) (Santos et al. 2017). Em plantas, a biossíntese de poliaminas inicia-se com a formação da PUT (diamina), que pode ser sintetizada diretamente pela descarboxilação da ornitina, catalisada pela ornitina descarboxilase (ODC), ou indiretamente pela descarboxilação da arginina, catalisada pela arginina descarboxilase (ADC), em via envolvendo agmatina e N-carbamilputrescina como intermediários. A SPD e SPM são sintetizadas a partir da PUT, pela adição de grupos

aminopropil, em reações catalisadas pelas enzimas espermidina e espermina sintase, respectivamente (Galston et al. 1997; Pál et al. 2015). A degradação da PUT é catalisada pela diamina oxidase (DAO), enquanto a SPD e SPM são oxidadas por uma poliamina oxidase (PAOs) (Flores e Filner 1985).

As poliaminas apresentam cargas positivas, ou seja, são cátions assim como o K. Em plantas deficientes em K há acúmulo de PUT, devido à superexpressão da ADC, para manter o balanço cátion-ânion nos tecidos vegetais (Bouchereau et al. 1999; Chen et al. 2016; Flores 1991; Panicot et al. 2002), porém as concentrações de SPD e SPM não incrementam proporcionalmente (Watson e Malmberg 1996). A PUT e seus produtos de oxidação, via DAO, são responsáveis por efeitos deletérios em plantas (Panicot et al. 2002). Assim, a deficiência de K proporciona desbalanço no metabolismo das poliaminas, sendo que altas concentrações endógenas de PUT são tóxicas para o crescimento da planta e resultam em clorose e necrose foliar (Chen et al. 2016).

As poliaminas aumentam a tolerância das plantas aos estresses abióticos, incluindo toxidez por Cd (Gong et al. 2016; Rady e Hemida 2015), por regular a homeostase redox das células, uma vez que essas moléculas atuam como sinalizadoras do estresse, que podem quelar metais, eliminar EROs por meio da ativação do sistema de defesa antioxidante das plantas, além de estabilizar membranas lipídicas e paredes celulares (Anjum et al. 2015; Gill e Tuteja 2010; Kebert et al. 2017; Pál et al. 2015).

A manutenção da homeostase de poliaminas (PUT, SPD e SPM) é necessária para a tolerância da planta ao efeito tóxico do Cd. Entretanto, esse equilíbrio no metabolismo de poliaminas é alterado pelo estresse induzido por Cd, decorrente do forte incremento na concentração de PUT e decréscimo nas concentrações de SPD e SPM, o que resulta em elevada relação PUT:(SPD+SPM). O acúmulo de PUT tem efeito tóxico para as plantas, uma vez que ocorre incremento na geração e conteúdo de O_2^- e H_2O_2 (Panicot et al. 2002; Qiao et al. 2015; Tajti et al. 2018). O suprimento de K reduz o acúmulo em excesso da PUT (por inibir as atividades das enzimas arginina/ornitina descarboxilase) e, portanto, pode aliviar o efeito tóxico do excesso de PUT nos tecidos vegetais ocasionados pela exposição ao Cd. Dessa forma, o K pode contribuir para manter o balanço no metabolismo de di- e poliaminas ao evitar o excesso de PUT na planta (Marschner 2012; Palavan-Unsal e Ansan 2007; Panicot et al. 2002; Reggiani et al. 1993; Santos et al. 2017).

REFERÊNCIAS

- Abbasi GH, Akhtar J, Ahmad R, Jamil M, Anwar-ul-Haq M, Ali S, Ijaz M (2015): Potassium application mitigates salt stress differentially at different growth stages in tolerant and sensitive maize hybrids. *Plant Growth Regulation* 76, 111-125
- Adie GU, Osibanjo O (2010): Accumulation of lead and cadmium by four tropical forage weeds found in the premises of an automobile battery manufacturing company in Nigeria. *Toxicological and Environmental Chemistry* 92, 39-49
- Ahanger MA, Agarwal RM (2017): Salinity stress induced alterations in antioxidant metabolism and nitrogen assimilation in wheat (*Triticum aestivum* L.) as influenced by potassium supplementation. *Plant Physiology and Biochemistry* 115, 449-460
- Ahmad P, Ashraf M, Hakeem KR, Azooz MM, Rasool S, Chandna R, Akram NA (2014): Potassium starvation-induced oxidative stress and antioxidant defense responses in *Brassica juncea*. *Journal of Plant Interactions* 9, 1-9
- Ahmad P, Latef AAA, Abd Allah EF, Hashem A, Sarwat M, Anjum NA, Gucel S (2016): Calcium and potassium supplementation enhanced growth, osmolyte secondary metabolite production, and enzymatic antioxidant machinery in cadmium-exposed chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Frontiers in Plant Science* 7, 1-12
- Akhter MF, Omelon CR, Gordon RA, Moser D, Macfie SM (2014): Localization and chemical speciation of cadmium in the roots of barley and lettuce. *Environmental and Experimental Botany* 100, 10-19
- Ali-Zade V, Esmera A, Shirvani T (2010): Plant resistance to anthropogenic toxicants: approaches to phytoremediation. In: Ashraf M, Ozturk M, Ahmad MSA (Editors), *Plant adaptation and phytoremediation*. Springer, Dordrecht, Heidelberg, London, New York, pp. 173-191
- Alloway BJ (1995): Cadmium. In: Alloway BJ (Editor), *Heavy metals in soils*. Blackie Academic and Professional, London, pp. 100-124
- Amjad M, Akhtar J, Murtaza B, Abbas G, Jawad H (2016): Differential accumulation of potassium results in varied salt-tolerance response in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) cultivars. *Horticulture Environment and Biotechnology* 57, 248-258
- Anjum NA, Umar S, Ahmad A, Iqbal M, Khan NA (2008): Sulphur protects mustard (*Brassica campestris* L.) from cadmium toxicity by improving leaf ascorbate and glutathione: sulphur protects mustard from cadmium toxicity. *Plant Growth Regulation* 54, 271-279

- Anjum NA, Hasanuzzaman M, Hossein MA, Thangavel P, Roychoudhury A, Gill SS, Rodrigo MAM, Adam V, Fujita M, Kizek R, Duarte AC, Pereira E, Ahmed I (2015): Jacks of metal/metalloid chelation trade in plants-an overview. *Frontiers in Plant Science* 6, 1-17
- Araújo RP, Almeida AAF, Pereira LS, Mangabeira PAO, Souza JO, Pirovani CP, Ahnert D, Baligar VC (2017): Photosynthetic, antioxidative, molecular and ultrastructural responses of young cacao plants to Cd toxicity in the soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 144, 148-157
- Ashley MK, Grant M, Grabov A (2006): Plant responses to potassium deficiencies: a role for potassium transport proteins. *Journal of Experimental Botany* 57, 425-436
- ATSDR (2017): Priority list of hazardous substances. Agency for Toxic Substance and Disease Registry, <<https://www.atsdr.cdc.gov/spl/index.html>>, acesso em: 10/05/2018
- Benáková M, Ahmadi H, Dučaiová Z, Tylová E, Clemens S, Tůma J (2017): Effects of Cd and Zn on physiological and anatomical properties of hydroponically grown *Brassica napus* plants. *Environmental Science and Pollution Research* 24, 20705-20716
- Benavides MP, Gallego SM, Tomaro ML (2005): Cadmium toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17, 21-34
- Bouchereau A, Aziz A, Larher F, Martin-Tanguy J (1999): Polyamines and environmental challenges: recent development. *Plant Science* 140, 103-125
- Braz TGS, Martuscello JA, Jank L, Fonseca DM, Resende MDV, Evaristo AB (2017): Genotypic value in hybrid progenies of *Panicum maximum* Jacq. *Ciência Rural* 47, 1-6
- Cabral CEA, Pesqueira-Silva LCR, Barros LV, Neto AB, Abreu JG, Cabral CHA, Silva FG, Galati RL, Fiori AMR, Silva CA (2017): Defoliation height and potassium fertilization of Mulato II grass. *Semina Ciências Agrárias* 38, 2719-2726
- CETESB (2016): Texto explicativo: Relação de áreas contaminadas e reabilitadas no Estado de São Paulo. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo, <<http://cetesb.sp.gov.br/areas-contaminadas/wp-content/uploads/sites/17/2013/11/Texto-explicativo-2016.pdf>>, acesso em: 27/11/2017.
- Chen D, Cao B, Qi L, Yin L, Wang S, Deng X (2016): Silicon-moderated K-deficiency-induced leaf chlorosis by decreasing putrescine accumulation in sorghum. *Annals of Botany* 118, 305-315
- Clemens S (2006): Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie* 88, 1707-1719
- Clemens S, Ma JF (2016): Toxic heavy metal and metalloid accumulation in crop plants and foods. *Annual Review of Plant Biology* 67, 489-512

- Consolmagno Neto D, Monteiro FA, Dechen AR (2007): Características produtivas do capim-tanzânia cultivado com combinações de potássio e de magnésio. *Acta Scientiarum Agronomy* 29, 459-467
- Correia NM, Gomes LJP (2016): Soybean oversowing with *Urochloa brizantha* and *Panicum maximum* and the straw formation in a no-tillage system. *Semina: Ciências Agrárias* 37, 1209-1218
- Costa ETD, Guilherme LRG, Melo EEC, Ribeiro BT, Inacio EDB, Severiano ED, Faquin V, Hale BA (2012): Assessing the tolerance of castor bean to Cd and Pb for phytoremediation purposes. *Biological Trace Element Research* 145, 93-100
- Coutinho ELM, Silva AR, Monteiro FA, Rodrigues LRA (2004): Adubação potássica em forrageiras. In: Pedreira CGS, Moura JC, Faria VP (Editors), *Fertilidade do solo para pastagens produtivas*. FEALQ, Piracicaba, pp. 219-278
- Coutinho ELM, Franco HCJ, Orioli V, Pasquetto JVG, Pereira LS (2014): Liming and potassium fertilization for Tifton 85 grass. *Bioscience Journal* 30, 101-111
- Daud MK, Mei L, Azizullah A, Dawood M, Ali I, Mahmood Q, Ullah W, Jamil M, Zhu SJ (2016): Leaf-based physiological, metabolic, and ultrastructural changes in cultivated cotton cultivars under cadmium stress mediated by glutathione. *Environmental Science and Pollution Research* 23, 15551-15564
- Demidchik V (2015): Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. *Environmental and Experimental Botany* 109, 212-228
- Deng Y, Li DF, Huang YM, Huang SQ (2017): Physiological response to cadmium stress in kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) seedlings. *Industrial Crops and Products* 107, 453-457
- Domínguez DM, García FC, Raya AC, Santiago RT (2010): Cadmium-induced oxidative stress and the response of the antioxidative defense system in *Spartina densiflora*. *Physiologia Plantarum* 139, 289-302
- Eker S, Uysal B (2013): Cadmium-induced changes in antioxidative defence mechanism of spinach under different potassium nutrition levels. *Fresenius Environmental Bulletin* 22, 2740-2749
- El-Beltagi HS, Mohamed HI (2013): Alleviation of cadmium toxicity in *Pisum sativum* L. seedlings by calcium chloride. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 41, 157-168
- FAOSTAT (2015). Food and Agricultural Organization, <<http://www.fao.org/faostat>>, acesso em: 10/07/2018
- Flores HE, Filner P (1985): Polyamine catabolism in higher plants: characterization of pyrroline dehydrogenase. *Plant Growth Regulation* 3, 277-291
- Flores HE (1991): Changes in polyamine metabolism in response to abiotic stress. In: Slocum R, Flores H (Editors), *The biochemistry and physiology of polyamines in plants*. CRC Press, Boca Raton, pp. 214-255

- Gallego SM, Pena LB, Barcia RA, Azpilicueta CE, Iannone MF, Rosales EP, Zawoznik MS, Groppa MD, Benavides MP (2012): Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: insight into regulatory mechanisms. *Environmental and Experimental Botany* 83, 33-46
- Galston AW, KaurSawhney R, Altabella T, Tiburcio AF (1997): Plant polyamines in reproductive activity and response to abiotic stress. *Botanica Acta* 110, 197-207
- Garnier L, Simon-Plas F, Thuleau P, Agnel JP, Blein JP, Ranjeva R, Montillet JL (2006): Cadmium affects tobacco cells by a series of three waves of reactive oxygen species that contribute to cytotoxicity. *Plant Cell and Environment* 29, 1956-1969
- Gielen H, Vangronsveld J, Cuypers A (2017): Cd-induced Cu deficiency responses in *Arabidopsis thaliana*: are phytochelatins involved? *Plant Cell and Environment* 40, 390-400
- Gilabel AP, Nogueirol RC, Garbo AI, Monteiro FA (2014): The role of sulfur in increasing guinea grass tolerance of copper phytotoxicity. *Water, Air, and Soil Pollution* 225, 1-10
- Gill SS, Tuteja N (2010): Polyamines and abiotic stress tolerance in plants. *Plant Signaling & Behavior* 5, 26-33
- Gonçalves JF, Antes FG, Maldaner J, Pereira LB, Tabaldi LA, Rauber R, Rossato LV, Bisognin DA, Dressler VL, Flores EMD, Nicoloso FT (2009): Cadmium and mineral nutrient accumulation in potato plantlets grown under cadmium stress in two different experimental culture conditions. *Plant Physiology and Biochemistry* 47, 814-821
- Gong X, Liu Y, Huang D, Zeng G, Liu S, Tang H, Zhou L, Hu X, Zhou Y, Tan X (2016): Effects of exogenous calcium and spermidine on cadmium stress moderation and metal accumulation in *Boehmeria nivea* (L.) Gaudich. *Environmental Science and Pollution Research* 23, 8699-8708
- Gratão PL, Polle A, Lea PJ, Azevedo RA (2005): Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. *Functional Plant Biology* 32, 481-494
- He SY, He ZL, Yang XE, Stoffella PJ, Baligar VC (2015): Soil biogeochemistry, plant physiology, and phytoremediation of cadmium-contaminated soils. *Advances in Agronomy* 134, 135-225
- Hermans C, Hammond JP, White PJ, Verbruggen N (2006): How do plants respond to nutrient shortage by biomass allocation? *Trends in Plant Science* 11, 610-617
- Ibrahim W, Ahmed IM, Chen X, Cao F, Zhu S, Wu F (2015): Genotypic differences in photosynthetic performance, antioxidant capacity, ultrastructure and nutrients in response to combined stress of salinity and Cd in cotton. *BioMetals* 28, 1063-1078

- IUPAC (2016): Periodic table of elements. International Union of Pure and Applied Chemistry, <<https://iupac.org/what-we-do/periodic-table-of-elements/>>, acesso em: 27/11/2017.
- Jank L, Martuscello JA, Euclides VPB, Valle CB, Resende RMS (2010): *Panicum maximum*. In: Fonseca DM, Martuscello JA (Editors), Plantas forrageiras. Editora UFV, Viçosa, pp. 166-196
- Jiao WT, Chen WP, Chang AC, Page AL (2012): Environmental risks of trace elements associated with long-term phosphate fertilizers applications: a review. *Environmental Pollution* 168, 44-53
- Kabata-Pendias A (2010): Trace elements of group 12 - II cadmium. In: Kabata-Pendias A (Editor), Trace elements in soils and plants. CRC Press - Taylor and Francis Group, Boca Raton, pp. 287-301
- Kanai S, Ohkura K, Adu-Gyamfi JJ, Mohapatra PK, Nguyen NT, Saneoka H, Fujita K (2007): Depression of sink activity precedes the inhibition of biomass production in tomato plants subjected to potassium deficiency stress. *Journal of Experimental Botany* 58, 2917-2928
- Kebert M, Rapparini F, Neri L, Bertazza G, Orlović S, Biondi S (2017): Copper-induced responses in poplar clones are associated with genotype- and organ-specific changes in peroxidase activity and proline, polyamine, ABA, and IAA levels. *Journal of Plant Growth Regulation* 36, 131-147
- Laskowski MJ, Williams ME, Nusbaum HC, Sussex IM (1995): Formation of lateral root meristems is a two-stage process. *Development* 121, 3303-3310
- Latef AAA (2013): Growth and some physiological activities of pepper (*Capsicum annuum* L.) in response to cadmium stress and mycorrhizal symbiosis. *Journal of Agricultural Science and Technology* 15, 1437-1448
- Lavres Júnior J, Monteiro FA (2003): Tillering, leaf area and mombaçagrass root system in response to nitrogen and potassium combinations. *Revista Brasileira de Zootecnia* 32, 1068-1075
- Lavres Júnior J, Santos JDG, Monteiro FA (2010): Nitrate reductase activity and SPAD readings in leaf tissues of guinea grass submitted to nitrogen and potassium rates. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 34, 801-809
- Li P, Zhao CZ, Zhand YQ, Wang XM, Wang JF, Wang F, Bi YR (2017): Silicon enhances the tolerance of *Poa annua* to cadmium by inhibiting its absorption and oxidative stress. *Biologia Plantarum* 61, 741-750
- Liang J, Feng CT, Zeng GM, Zhong MZ, Gao X, Li XD, He XY, Li X, Fang YL, Mo D (2017): Atmospheric deposition of mercury and cadmium impacts on topsoil in a typical coal mine city, Lianyuan, China. *Chemosphere* 189, 198-205

- Liu BL, Ai SW, Zhang WY, Huang DJ, Zhang YM (2017): Assessment of the bioavailability, bioaccessibility and transfer of heavy metals in the soil-grain-human systems near a mining and smelting area in NW China. *Science of the Total Environment* 609, 822-829
- Liu X, Peng K, Wang A, Lian C, Shen Z (2010): Cadmium accumulation and distribution in populations of *Phytolacca americana* L. and the role of transpiration. *Chemosphere* 78, 1136-1141
- Llugany M, Miralles R, Corrales I, Barceló J, Poschenrieder C (2012): *Cynara cardunculus* a potentially useful plant for remediation of soils polluted with cadmium or arsenic. *Journal of Geochemical Exploration* 123, 122-127
- Lu J, Jiao WB, Qiu HY, Chen B, Huang XX, Kang B (2018): Origin and spatial distribution of heavy metals and carcinogenic risk assessment in mining areas at You'xi County southeast China. *Geoderma* 310, 99-106
- Luna AA, Difante GS, Montagner DB, Emerenciano Neto JV, Araujo IMM, Fernandes LS (2016): Tillering dynamic and structural characteristics of tropical grasses under cutting management. *Bioscience Journal* 32, 1008-1017
- Luo K, Ma T, Liu H, Ren J, Nai F, Li R, Chen L, Luo Y, Christie P (2015): Efficiency of repeated phytoextraction of cadmium and zinc from an agricultural soil contaminated with sewage sludge. *Internacional Journal of Phytoremediation* 17, 575-582
- Lux A, Martinka M, Vaculik M, White PJ (2011): Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review. *Journal of Experimental Botany* 62, 21-37
- Macedo VHM, Cunha AMQ, Cândido EP, Domingues FN, Melo DM, Rêgo AC (2017): Estrutura e produtividade de capim-tanzânia submetido a diferentes frequências de desfolhação. *Ciência Animal Brasileira* 18, 1-10
- Maksimovic I, Kastori R, Krstic L, Lukovic J (2007): Steady presence of cadmium and nickel affects root anatomy, accumulation and distribution of essential ions in maize seedlings. *Biologia Plantarum* 51, 589-592
- Marschner P (2012): Marschner's mineral nutrition of higher plants. Academic Press, London, 651 pp
- Mattos WT, Santos AR, Almeida AAS, Carreiro BDC, Monteiro FA (2002): Aspectos produtivos e diagnose nutricional do capim-Tanzânia submetido a doses de potássio. *Magistra* 14, 37-44
- Megda MM, Monteiro FA (2010): Nitrogen and potassium supply and the morphogenic and productive characteristics of marandu palisadegrass. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39, 1666-1675
- Megda MM, Monteiro FA (2015): Marandu palisadegrass mineral nutrition and production related to nitrogen and potassium supply. *Journal of Plant Nutrition* 38, 277-294

- Mendoza-Cozatl DG, Jobe TO, Hauser F, Schroeder JI (2011): Long-distance transport, vacuolar sequestration, tolerance, and transcriptional responses induced by cadmium and arsenic. *Current Opinion in Plant Biology* 14, 554-562
- Mengel K, Kirkby EA (2001): Principles of plant nutrition. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 849 pp
- Miranda VS, Ribeiro KG, Silva AC, Pereira RC, Pereira OG, Torrado PV, Fernandes JSC, Oliveira MC (2012): Rehabilitation with forage grasses of an area degraded by urban solid waste deposits. *Revista Brasileira de Zootecnia* 41, 18-23
- Monteiro FA, Consolmagno Neto D (2008): Tanzania guineagrass root system as related to potassium and magnesium fertilization. *Revista Brasileira de Zootecnia* 37, 810-818
- Monteiro FA, Nogueirol RC, Melo LCA, Artur AG, Rocha F (2011): Effect of barium on growth and macronutrient nutrition in tanzania guineagrass grown in nutrient solution. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 42, 1510-1521
- Namdjoyan SH, Khavari-Nejad RA, Bernard F, Nejadstari T, Shaker H (2011): Antioxidant defense mechanisms in response to cadmium treatments in two safflower cultivars. *Russian Journal of Plant Physiology* 58, 467-477
- Nascimento SS, Silva EB, Alleoni LRF, Graziotti PH, Fonseca FG, Nardis BO (2014): Availability and accumulation of lead for forage grasses in contaminated soil. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 14, 783-802
- Nazar R, Iqbal N, Masood A, Khan MIR, Syeed S, Khan NA (2012): Cadmium toxicity in plants and role of mineral nutrients in its alleviation. *American Journal of Plant Sciences* 03, 1476-1489
- Oosterhuis DM, Loka DA, Raper TB (2013): Potassium and stress alleviation: physiological functions and management of cotton. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 176, 331-343
- Paciullo DSC, Gomide CAM, Castro CRT, Maurício RM, Fernandes PB, Morenz MJF (2017): Morphogenesis, biomass and nutritive value of *Panicum maximum* under different shade levels and fertilizer nitrogen rates. *Grass and Forage Science* 72, 590-600
- Pál M, Szalai G, Janda T (2015): Speculation: polyamines are important in abiotic stress signaling. *Plant Science* 237, 16-23
- Palavan-Unsal N, Ansan ED (2007): Distribution of peroxidase activity and polyamine pattern of *Heliotropium europaeum* in potassium deficiency conditions. *International Journal of Environment and Pollution* 29, 435-442
- Panicot M, Masgrau C, Borrell A, Cordeiro A, Tiburcio AF, Altabella T (2002): Effects of putrescine accumulation in tobacco transgenic plants with different expression levels of oat arginine decarboxylase. *Physiologia Plantarum* 114, 281-287

- Parmar P, Kumari N, Sharma V (2013): Structural and functional alterations in photosynthetic apparatus of plants under cadmium stress. *Botanical Studies* 54, 1-6
- Peng L, Xu Y, Zhou F, Sun BR, Tie BQ, Lei M, Shao JH, Gu JD (2016): Enhanced removal of Cd(II) by poly(acrylamide-co-sodium acrylate) water-retaining agent incorporated nano hydrous manganese oxide. *Materials & Design* 96, 195-202
- Per TS, Khan NA, Masood A, Fatma M (2016): Methyl jasmonate alleviates cadmium-induced photosynthetic damages through increased S-assimilation and glutathione production in mustard. *Frontiers in Plant Science* 7, 1-13
- Pereira AS, Cortez PA, Almeida AAF, Prasad MNV, Franca MGC, Cunha M, Jesus RM, Mangabeira PAO (2017): Morphology, ultrastructure, and element uptake in *Calophyllum brasiliense* Cambess. (Calophyllaceae J. Agardh) seedlings under cadmium exposure. *Environmental Science and Pollution Research* 24, 15576-15588
- Podazza G, Arias M, Prado FE (2012): Cadmium accumulation and strategies to avoid its toxicity in roots of the citrus rootstock Citrumelo. *Journal of Hazardous Materials* 215, 83-89
- Qiao X, Wang P, Shi G, Yang H (2015): Zinc conferred cadmium tolerance in *Lemna minor* L. via modulating polyamines and proline metabolism. *Plant Growth Regulation* 77, 1-9
- Rabêlo FHS, Azevedo RA, Monteiro FA (2017): Proper supply of S increases GSH synthesis in the establishment and reduces tiller mortality during the regrowth of Tanzania guinea grass used for Cd phytoextraction. *Journal of Soils and Sediments* 17, 1427-1436
- Rady MM, Hemida KA (2015): Modulation of cadmium toxicity and enhancing cadmium-tolerance in wheat seedlings by exogenous application of polyamines. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 119, 178-185
- Reggiani R, Aurisano N, Mattana M, Bertani A (1993): Influence of K⁺ ions on polyamine level in wheat seedlings. *Journal of Plant Physiology* 141, 136-140
- Römheld V, Kirkby EA (2010): Research on potassium in agriculture: needs and prospects. *Plant and Soil* 335, 155-180
- Roychoudhury A, Ghosh S, Paul S, Mazumdar S, Das G, Das S (2016): Pre-treatment of seeds with salicylic acid attenuates cadmium chloride-induced oxidative damages in the seedlings of mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek). *Acta Physiologiae Plantarum* 38, 1-18
- Sanità di Toppi L, Gabbrielli R (1999): Response to cadmium in higher plants. *Environmental and Experimental Botany* 41, 105-130
- Santos EF, Macedo FG, Zanchim BJ, Lima GPP, Lavres Júnior J (2017): Prognosis of physiological disorders in physic nut to N, P, and K deficiency during initial growth. *Plant Physiology and Biochemistry* 115, 249-258

- Sarath G, Baird LM, Mitchell RB (2014): Senescence, dormancy and tillering in perennial C-4 grasses. *Plant Science* 217, 140-151
- Sarwar N, Saifullah, Malhi SS, Zia MH, Naeem A, Bibia S, Farida G (2010): Role of mineral nutrition in minimizing cadmium accumulation by plants. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90, 925-937
- Shabala S, Pottosin I (2014): Regulation of potassium transport in plants under hostile conditions: implications for abiotic and biotic stress tolerance. *Physiologia Plantarum* 151, 257-279
- Shahid M, Dumat C, Khalid S, Niazi NK, Antunes PMC (2017): Cadmium bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in soil-plant system. In: Voogt P (Editor), *Reviews of environmental contamination and toxicology*. Springer, New York, pp. 73-137
- Shamsi IH, Jiang L, Wei K, Jilani G, Hua S, Zhang G-P (2010): Alleviation of cadmium toxicity in soybean by potassium supplementation. *Journal of Plant Nutrition* 33, 1926-1938
- Siddiqui MH, Al-Whaibi MH, Sakran AM, Basalah MO, Ali HM (2012): Effect of calcium and potassium on antioxidant system of *Vicia faba* L. under cadmium stress. *International Journal of Molecular Sciences* 13, 6604-6619
- Silva EB, Fonseca FG, Alleoni LRF, Nascimento SS, Graziotti PH, Nardis BO (2016): Availability and toxicity of cadmium to forage grasses grown in contaminated soil. *International Journal of Phytoremediation* 18, 847-852
- Singh S, Prasad SM (2017): Effects of 28-homobrassinoloid on key physiological attributes of *Solanum lycopersicum* seedlings under cadmium stress: photosynthesis and nitrogen metabolism. *Plant Growth Regulation* 82, 161-173
- Solti A, Sarvari E, Toth B, Basa B, Levai L, Fodor F (2011): Cd affects the translocation of some metals either Fe-like or Ca-like way in poplar. *Plant Physiology and Biochemistry* 49, 494-498
- Song Y, Jin L, Wang X (2017): Cadmium absorption and transportation pathways in plants. *International Journal of Phytoremediation* 19, 133-141
- Souza Júnior JC, Nogueirol RC, Monteiro FA (2018): $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ratios affect nutritional homeostasis and production of Tanzania guinea grass under Cu toxicity. *Environmental Science and Pollution Research* 25, 14083-14096
- Souza LA, Piotto FA, Nogueirol RC, Azevedo RA (2013): Use of non-hyperaccumulator plant species for the phytoextraction of heavy metals using chelating agents. *Scientia Agricola* 70, 290-295
- Taiz L, Zeiger E, Moller I, Murphy A (2017): *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. Artmed, Porto Alegre, 888 pp

- Tajti J, Janda T, Majláth I, Szalai G, Pál M (2018): Comparative study on the effects of putrescine and spermidine pre-treatment on cadmium stress in wheat. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 148, 546-554
- Thevenod F, Lee WK (2013): Cadmium and cellular signaling cascades: interactions between cell death and survival pathways. *Archives of Toxicology* 87, 1743-1786
- Tran TA, Popova LP (2013): Functions and toxicity of cadmium in plants: recent advances and future prospects. *Turkish Journal of Botany* 37, 1-13
- Ulus Y, Ozturk L, Elmastas M (2017): Antioxidant capacity and cadmium accumulation in parsley seedlings exposed to cadmium stress. *Russian Journal of Plant Physiology* 64, 883-888
- Umar S, Diva I, Anjum NA, Iqbal M (2008): Potassium nutrition reduces cadmium accumulation and oxidative burst in mustard (*Brassica campestris* L.). *Optimizing Crop Nutrition* 16, 6-9
- Vazquez S, Goldsbrough P, Carpena RO (2006): Assessing the relative contributions of phytochelatins and the cell wall to cadmium resistance in white lupin. *Physiologia Plantarum* 128, 487-495
- Verbruggen N, Hermans C, Schat H (2009): Mechanisms to cope with arsenic or cadmium excess in plants. *Current Opinion in Plant Biology* 12, 364-372
- Wagner GJ (1993): Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health. *Advances in Agronomy* 51, 173-212
- Wang M, Zou JH, Duan XC, Jiang WS, Liu DH (2007): Cadmium accumulation and its effects on metal uptake in maize (*Zea mays* L.). *Bioresource Technology* 98, 82-88
- Wang XK, Shi M, Hao PF, Zheng WT, Cao FB (2017a): Alleviation of cadmium toxicity by potassium supplementation involves various physiological and biochemical features in *Nicotiana tabacum* L. *Acta Physiologiae Plantarum* 39, 1-11
- Wang Z, Li Q, Wu W, Guo J, Yang Y (2017b): Cadmium stress tolerance in wheat seedlings induced by ascorbic acid was mediated by NO signaling pathways. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 135, 75-81
- Watson MB, Malmberg RL (1996): Regulation of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh arginine decarboxylase by potassium deficiency stress. *Plant Physiology* 111, 1077-1083
- Wu CF, Luo YM, Deng SP, Teng Y, Song J (2014): Spatial characteristics of cadmium in topsoils in a typical e-waste recycling area in southeast China and its potential threat to shallow groundwater. *Science of the Total Environment* 472, 556-561
- Zaheer MM, Yasin NA, Ahmad SR, Khan WU, Ahmad A, Ali A, Rehman SU (2018): Amelioration of cadmium stress in gladiolus (*Gladiolus grandiflora* L.) by application of potassium and silicon. *Journal of Plant Nutrition* 41, 461-476

- Zhang H, Guo Q, Yang J, Chen T, Zhu G, Peters M, Wei R, Tian L, Wang C, Tan D, Ma J, Wang G, Wan Y (2014): Cadmium accumulation and tolerance of two castor cultivars in relation to antioxidant systems. *Journal of Environmental Sciences* 26, 2048-2055
- Zhang XF, Xia HP, Li ZA, Zhuang P, Gao B (2010): Potential of four forage grasses in remediation of Cd and Zn contaminated soils. *Bioresource Technology* 101, 2063-2066
- Zhao FJ, Ma YB, Zhu YG, Tang Z, McGrath SP (2015): Soil contamination in china: current status and mitigation strategies. *Environmental Science & Technology* 49, 750-759
- Zhuang P, McBride MB (2013): Changes during a century in trace element and macronutrient concentrations of an agricultural soil. *Soil Science* 178, 105-108
- Zouari M, Ben Ahmed C, Zorrig W, Elloumi N, Rabhi M, Delmail D, Ben Rouina B, Labrousse P, Ben Abdallah F (2016): Exogenous proline mediates alleviation of cadmium stress by promoting photosynthetic activity, water status and antioxidative enzymes activities of young date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 128, 100-108

3. POTÁSSIO ALTERA CRESCIMENTO E CONCENTRAÇÃO DE CÁDMIO NO CAPIM TANZÂNIA SOB TOXIDEZ POR ESSE METAL

RESUMO

O cádmio (Cd) é um grave problema ambiental devido a sua alta toxicidade para organismos vivos. O fornecimento de potássio (K) constitui uma estratégia para aumentar a tolerância de plantas expostas à toxidez por Cd. Objetivou-se verificar a influência do K no crescimento e no potencial de fitoextração de Cd pelo capim tanzânia (*Panicum maximum* cv. Tanzânia) bem como avaliar a homeostase nutricional dessa planta em condições de estresse por Cd. As plantas foram cultivadas em casa de vegetação com delineamento de blocos completos ao acaso, em esquema fatorial 3x4. Três doses de K (0,4; 6,0 e 11,6 mmol L⁻¹) foram combinadas com quatro doses de Cd (0,0; 0,5; 1,0 e 1,5 mmol L⁻¹) em solução nutritiva, com três repetições. Foram avaliados dois períodos de crescimento de plantas, sendo o primeiro corte aos 35 dias após o transplântio das mudas e o segundo aos 27 dias após o primeiro. Para o segundo crescimento do capim não foi adicionado Cd na solução nutritiva. Ao final de cada período de crescimento foram avaliados parâmetros morfogênicos, produtivos, nutricionais e o Índice Relativo de Clorofila (IRC). O aumento do suprimento de K em plantas expostas a doses de Cd até 1,0 mmol L⁻¹ proporcionou incremento na produção de folhas e perfilhos, área foliar, massa seca da parte aérea e de raízes, comprimento e superfície radiculares, bem como redução na taxa de mortalidade de perfilhos do capim, no segundo crescimento. As concentrações de Cd na parte aérea, especialmente nas demais partes (colmos + bainhas + folhas maduras) foram relativamente altas, alcançando 200-250 mg kg⁻¹ e 1200-1400 mg kg⁻¹ no primeiro e segundo corte, respectivamente, em condições de alta disponibilidade de Cd (1,5 mmol L⁻¹) e baixa de K (0,4 mmol L⁻¹), porém quando a disponibilidade de K foi de 11,6 mmol L⁻¹, as concentrações de Cd nas demais partes (colmos + bainhas + folhas maduras) foram menores (100-150 mg kg⁻¹ e 600-800 mg kg⁻¹, respectivamente). As concentrações de K (em ambos os cortes) e de cobre, ferro e zinco no segundo corte incrementaram, enquanto que as concentrações de cálcio, magnésio, enxofre e manganês decresceram com o aumento das doses de Cd. O maior fornecimento de K (6,0 e 11,6 mmol L⁻¹) proporcionou mais alto IRC no primeiro crescimento. A maior disponibilidade de Cd (1,5 mmol L⁻¹) na solução nutritiva causou decréscimo no IRC nos dois crescimentos do capim. Os acúmulos de Cd no capim foram de 326 µg/planta e 952 µg/planta no primeiro e segundo cortes, respectivamente, quando foi crescido em condições de alta disponibilidade de Cd (1,5 mmol L⁻¹) e de K (11,6 mmol L⁻¹). O maior fornecimento de K em plantas expostas ao Cd proporcionou maior produção de massa seca da parte aérea, reduzindo a concentração de Cd nos tecidos fotossintéticos (maior tolerância da planta) e por outro lado aumentando o acúmulo desse metal na parte aérea que pode ser colhida. Portanto, o K aumenta a capacidade de fitoextração de Cd pelo capim tanzânia.

Palavras-chave: Balanço nutricional; Biomassa; Fitorremediação; Micronutrientes; *Panicum maximum*

ABSTRACT

Cadmium (Cd) is a serious environmental problem due to its high toxicity to living organisms. The supply of potassium (K) is a strategy to increase the tolerance of plants exposed to Cd toxicity. The aim of this study was to verify the influence of K on the growth and potential of tanzania guinea grass (*Panicum maximum* cv. Tanzania) for Cd phytoextraction as well as to evaluate the nutritional homeostasis of this grass under conditions of Cd stress. Plants were grown in a greenhouse, in a randomized complete block design, using a 3x4 factorial. Three rates of K (0.4, 6.0 and 11.6 mmol L⁻¹) were

combined with four rates of Cd (0.0, 0.5, 1.0 and 1.5 mmol L⁻¹) in nutrient solution with three replications. Two plant growth periods were evaluated, with the first harvest done at 35 days after seedlings transplanting and the second at 27 days after the first. In the second growth, Cd was not added to the nutrient solution. At the end of each growth period, morphogenic, productive, nutritional parameters and Relative Chlorophyll Index (RCI) were evaluated. The increase in supply of K to plants exposed to Cd rates of up to 1.0 mmol L⁻¹ provided increase in the leaves and tiller numbers, leaf area, shoots and roots dry mass, root length and surface, as well as reduction in the mortality rate of tillers, in the second growth. The Cd concentrations in the shoots, especially in the stems+sheaths+mature leaves (C+S+ML) were relatively high, reaching 200-250 mg kg⁻¹ and 1200-1400 mg kg⁻¹ in the first and second harvests, respectively, under high Cd (1.5 mmol L⁻¹) and low K (0.4 mmol L⁻¹) conditions, but when the availability of K was increased to 11.6 mmol L⁻¹, the Cd concentrations in the C+S+ML were low (100-150 mg kg⁻¹ and 600-800 mg kg⁻¹, respectively). K (in both harvests) and copper, iron and zinc concentrations in the second harvest increased, while calcium, magnesium, sulfur and manganese concentrations decreased with increasing Cd rates. The high supply of K (6.0 and 11.6 mmol L⁻¹) provided high RCI value in the first harvest. The high availability of Cd (1.5 mmol L⁻¹) in the nutrient solution caused decrease in RCI value in both harvests. Cd accumulations in the grass were 326 µg/plant and 952 µg/plant in the first and second harvests, respectively, when grown under conditions of high availability of Cd (1.5 mmol L⁻¹) and K (11.6 mmol L⁻¹). The high supply of K in plants exposed to Cd resulted in high shoot dry mass production, reducing Cd concentration in the photosynthetic tissues (which means great tolerance of the plant) and increasing the accumulation of this metal in the shoot that can be harvested. Therefore, K increases the Cd phytoextraction capacity of tanzania guinea grass.

Keywords: Biomass; Micronutrients; Nutritional balance; *Panicum maximum* Phytoremediation

3.1. Introdução

A concentração de cádmio (Cd) no ambiente tem aumentado nas décadas mais recentes em decorrência da intensificação de atividades antrópicas, principalmente na mineração e nas indústrias que chegam a eliminar resíduos contaminados com metais pesados em locais inapropriados (He et al. 2015; Liang et al. 2017; Liu et al. 2017; Wu et al. 2014). As atividades agrícolas também podem contribuir para o incremento de Cd no solo por meio da aplicação de lodo de esgoto e fertilizantes fosfatados realmente contaminados com Cd (Jiao et al. 2012; Zoghalmi et al. 2018). De acordo com Zhuang e McBride (2013), o Cd ocupa o terceiro lugar entre os metais que mais aumentaram suas concentrações em solos agrícolas nos 100 anos recentes.

Dentre os metais pesados, o Cd não apresenta função biológica, sendo considerado altamente tóxico para todos os organismos vivos (Kabata-Pendias 2010). Devido seu longo tempo de permanência e alta mobilidade nos solos, o acúmulo de Cd em plantas que crescem em ambientes contaminados com esse metal representa

sérios problemas para a saúde animal e humana. Esse metal resulta em impactos negativos no crescimento e desenvolvimento dos vegetais (Nazar et al. 2012).

O Cd proporciona efeitos deletérios em diversos processos bioquímicos e fisiológicos nas plantas, como a inibição da fixação de carbono devido o decréscimo na taxa fotossintética e no conteúdo de clorofila, que resulta em menor crescimento e até morte celular (Benáková et al. 2017). O Cd é absorvido pelas células radiculares pelos mesmos transportadores/canais que os cátions metálicos divalentes (Cu, Fe, Mn, Zn, Ca e Mg). Então, o aumento na concentração desse elemento tóxico pode resultar em antagonismo com os elementos essenciais, o que proporciona alterações nas concentrações desses nutrientes na parte aérea, rompendo a homeostase nutricional das plantas (Araújo et al. 2017; Nazar et al. 2012).

Uma das estratégias para mitigar o problema decorrente do aumento de Cd no ambiente é o uso de uma tecnologia ambientalmente correta e de baixo custo, a fitorremediação (Gratão et al. 2005; Nascimento et al. 2014; Souza et al. 2013). A fitorremediação é um conjunto de técnicas, dentre elas, a fitoextração, que visam a descontaminação dos solos por meio do uso de plantas.

A eficiência da fitoextração depende de dois fatores: alta produção de biomassa e alta concentração de metal na parte aérea. As plantas que apresentam altas concentrações de metais na parte aérea (hiperacumuladoras), em geral, possuem crescimento lento e produzem pouca biomassa, o que as tornam ineficientes para uso na fitoextração (Luo et al. 2015). Por outro lado, o capim tanzânia (*Panicum maximum* cv. Tanzânia) com concentrações de metais na parte aérea menores do que em espécies hiperacumuladoras, tem potencial para fitoextração de metais, pois essa espécie apresenta rápido crescimento, alta produção de biomassa e cortes sucessivos, o que permite alta extração de metais (Adie e Osibanjo 2010; Gilabel et al. 2014; Monteiro et al. 2011; Souza et al. 2013).

Para otimizar a fitoextração de Cd pelo capim tanzânia é preciso minimizar os efeitos tóxicos induzidos por esse metal, mantendo a produção de biomassa e garantindo a sobrevivência da espécie após cortes sucessivos. Neste contexto, é importante considerar o estado nutricional do vegetal, pois ele exerce grande influência na tolerância de plantas à toxidez pelo metal pesado (Nazar et al. 2012; Sarwar et al. 2010). Uma das alternativas para aumentar a eficiência de fitoextração de Cd é o fortalecimento das plantas de capim tanzânia com potássio (K), pois o nutriente desempenha funções vitais no metabolismo e crescimento, otimizando a

adaptação das plantas a estresses ambientais (Ahmad et al. 2014). Pesquisadores têm observado aumento na absorção de nutrientes, conteúdo de clorofila, crescimento e biomassa em várias espécies vegetais suplementadas com K e sob estresse por Cd (Shamsi et al. 2010; Wang et al. 2017a; Zaheer et al. 2018).

Há nítida escassez de pesquisas envolvendo o K na mitigação do estresse induzido por Cd, principalmente em gramíneas forrageiras, e sobretudo, a importância desse nutriente no aumento da capacidade de fitoextração de Cd pelo capim tanzânia. Diante disso, objetivou-se verificar a influência do K no crescimento e no potencial de fitoextração de Cd pelo capim tanzânia (*Panicum maximum* cv. Tanzânia), bem como avaliar a homeostase nutricional dessa planta em condições de estresse por Cd.

3.2. Material e Métodos

3.2.1. Condições experimentais

O experimento foi realizado em casa de vegetação (latitude 22°42'30" S e longitude 47°38'00" W), com o cultivo do capim tanzânia no período de verão. O delineamento experimental foi em blocos completos ao acaso, em esquema fatorial 3x4, sendo três doses de K (0,4; 6,0 e 11,6 mmol L⁻¹) e quatro doses de Cd (0,0; 0,5; 1,0 e 1,5 mmol L⁻¹), com três repetições. As combinações de doses de K e Cd foram fornecidas em solução nutritiva preparada a partir da solução de Hoagland e Arnon (1950) (Tabela 1). As doses de K e Cd aplicadas em solução nutritiva foram estabelecidas com base em estudos anteriores conduzidos no grupo de pesquisa com esses elementos (Monteiro e Consolmagno Neto 2008; Rabêlo et al. 2017).

As mudas do capim foram obtidas por meio de sementes germinadas em bandejas contendo areia lavada com água desionizada. Foram transplantadas quinze plântulas para cada vaso plástico com capacidade de 3,6 L, contendo quartzo moído como substrato. Na ocasião do transplântio foi aplicada, em todos os vasos, a solução nutritiva de Hoagland e Arnon, modificada para atender a dose de K de 0,4 mmol L⁻¹, que foi diluída a 20% da força iônica, com o objetivo de promover a adaptação das mudas ao meio de cultivo. Sete dias após o transplântio das mudas foi aplicada a solução com 100% da força iônica, modificada para atender as doses de K (0,4; 6,0 e 11,6 mmol L⁻¹) e com ausência de Cd. A solução nutritiva foi trocada a cada 14 dias.

Tabela 1. Volumes das soluções estoque utilizadas no preparo das soluções nutritivas para as combinações de doses de K com as de Cd

Potássio (mmol L ⁻¹)	0,4				6,0				11,6			
Cádmio (mmol L ⁻¹)	0	0,5	1,0	1,5	0	0,5	1,0	1,5	0	0,5	1,0	1,5
Solução estoque	Volume (mL L ⁻¹)											
NH ₄ H ₂ PO ₄	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-
KH ₂ PO ₄	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1
NH ₄ NO ₃	3,5	3,5	3,5	3,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	3,5	3,5	3,5	3,5	3	3	3	3	3	3	3	3
MgSO ₄ .7H ₂ O	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
CaCl ₂ .4H ₂ O	1,5	1,5	1,5	1,5	2	2	2	2	2	2	2	2
KCl	0,4	0,4	0,4	0,4	5	5	5	5	10,6	10,6	10,6	10,6
CdCl ₂	0	0,5	1	1,5	0	0,5	1	1,5	0	0,5	1	1,5
Micronutrientes - Fe*	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Fe(III) - EDTA**	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Concentração das soluções estoque: 1 mol L⁻¹ (exceto micronutrientes e Fe(III) – EDTA).

* Composição da solução estoque de micronutrientes sem Fe (μmol L⁻¹): H₃BO₃ = 46; ZnCl₂ = 0,7; CuCl₂.2H₂O = 0,3; MnCl₄.4H₂O = 9; Na₂MoO₄.2H₂O = 0,1.

** Fe – EDTA = 90 μmol L⁻¹ (a solução foi preparada com 17,893 g de FeCl₂.4H₂O, acrescido de 33,2 g de EDTA, 89 mL de NaOH 1 mol L⁻¹, aerada por 12 horas e completado o volume para 1 litro).

Ao longo dos primeiros 15 dias (período de adaptação das mudas) foram realizados desbastes até permanecerem cinco plantas por vaso. Para promover aeração adequada do sistema radicular a solução nutritiva foi circulada seis vezes ao dia no início (primeiros 15 dias de crescimento), reduzindo o número de circulações paulatinamente no decorrer dos dias, até realizá-las três vezes ao dia, aos 20 dias após o transplântio. A solução foi drenada do vaso à noite e o volume (1,5 L) foi completado pela manhã com água desionizada para repor a quantidade evapotranspirada diariamente.

Após 30 dias de crescimento das plantas (sete dias de adaptação das mudas na solução diluída a 20% da força iônica acrescidos de 23 dias de crescimento das plantas na solução contendo 100% da força iônica e adaptada para as doses de K) foram aplicadas as doses de Cd. A exposição ao metal permaneceu por cinco dias, até o primeiro corte.

As plantas foram cultivadas em dois períodos de crescimento. O primeiro corte, realizado a 5 cm acima do nível do substrato, ocorreu após 35 dias do transplântio, sendo esse momento definido pelos sintomas severos de toxidez

causados pelo metal. Após o primeiro corte, a solução nutritiva foi renovada, mantendo-se as doses de K, mas não foi reaplicado o Cd, pois poderia comprometer a rebrotação do capim, uma vez que a toxidez por Cd (nas altas doses) foi muito severa no primeiro crescimento. Portanto, a resposta ao Cd no segundo crescimento foi avaliada com base no efeito residual desse metal no substrato e nas raízes das plantas. O segundo corte, rente ao substrato, foi realizado 22 dias após o primeiro.

As plantas coletadas em cada corte tiveram a parte aérea separada em lâminas de folhas recém expandidas (LR) e demais partes (colmos + bainhas + folhas maduras) (DP), pois as LR são consideradas folhas diagnósticas para a avaliação do estado nutricional do capim. Após o segundo corte as raízes foram separadas do substrato e lavadas com água desionizada. Para as avaliações produtivas e nutricionais, as partes das plantas foram submetidas à secagem em estufa de circulação forçada de ar a 65°C por 72 horas, e em seguida, foram pesadas. Posteriormente, todo material coletado foi triturado em moinho tipo Wiley.

3.2.2. Diagnose visual das plantas

No decorrer do experimento foram observados e relatados os principais sintomas visuais de deficiência de K e de toxidez induzidos pelo excesso de Cd nas plantas, bem como o efeito amenizador dessa toxidez pelo suprimento de K.

3.2.3. Avaliações morfogênicas e produtivas

Os perfilhos e as folhas emitidos em cada unidade experimental foram contados imediatamente antes da realização de cada corte das plantas. A taxa de mortalidade de perfilhos foi determinada pelo número de perfilhos mortos (de uma contagem para a outra) em relação ao número total de perfilhos marcados na contagem anterior (Carvalho et al. 2000). O resultado foi multiplicado por 100 para obter valores em porcentagem, e posteriormente, foi dividido pelos três dias entre uma contagem e outra. Os perfilhos de cada contagem foram marcados com arame revestido com plástico de cores distintas. Essa avaliação foi efetuada somente no segundo crescimento das plantas, para avaliar o efeito do Cd na rebrotação do capim.

A determinação da área foliar foi realizada com o emprego do aparelho integrador de área foliar LICOR LI-3000, imediatamente após cada corte das plantas. Para determinar o comprimento e a superfície radiculares, aproximadamente 20% das raízes frescas foram imersas em solução de violeta genciana de 50 mg L⁻¹ durante 12 horas. As raízes coloridas foram digitalizadas e analisadas no sistema SIARCS (Sistema Integrado para Análise de Raízes e Cobertura do Solo) versão 3.0 (Crestana et al. 1994). As partes das plantas que foram coletadas e separadas foram pesadas após a secagem em estufa. A produção de massa seca da parte aérea do capim foi obtida pela soma das massas das frações (LR + DP) pesadas separadamente.

3.2.4. Avaliações nutricionais

Para determinação das concentrações dos macronutrientes K, Ca, Mg e S, dos micronutrientes catiônicos Cu, Fe, Mn, Zn e do elemento tóxico Cd, o material vegetal foi submetido à digestão nítrico-perclórica, conforme Sarruge e Haag (1974). Para o K a leitura foi realizada em fotômetro de chama, enquanto que as concentrações de Ca, Mg, Cu, Fe, Mn e Zn foram determinadas por espectrometria de absorção atômica. A concentração de S foi determinada por turbidimetria, com precipitação do sulfato pelo cloreto de bário (Sarruge e Haag 1974). Para se obter a concentração Cd no tecido vegetal, empregou-se a espectrometria de emissão ótica em plasma induzido (ICP-OES).

Os acúmulos de Cd na parte aérea e nas raízes das plantas foram obtidos pela multiplicação da concentração desse elemento pelas respectivas massas produzidas.

3.2.5. Determinação do Índice Relativo de Clorofila (IRC)

A leitura do IRC (medida indireta da concentração de clorofila), ao final de cada período de crescimento, foi efetuada com o auxílio do aparelho portátil Chlorophyll Meter SPAD-502 (Soil-Plant Analysis Development Section, Minolta Camera Co.) realizando-se leituras no terço médio da lâmina da segunda folha completamente expandida (LR) (no sentido do ápice para a base da planta). O valor

do IRC para cada unidade experimental foi obtido pela média de 10 leituras realizadas nas plantas de cada vaso (Santos 1997).

3.2.6. Análises estatísticas

As análises estatísticas dos resultados foram efetuadas utilizando o software “Statistical Analysis System” (SAS-Institute 2011). Inicialmente foi conduzida a análise de variância para os efeitos principais (K e Cd) e para a interação doses de K x doses de Cd, pelo procedimento GLM, exceto para a taxa de mortalidade de perfilhos, que foi realizada pelo procedimento MIXED (Littell et al. 1998). Em função da significância do teste F para a interação, efetuou-se o desdobramento pelo procedimento RSREG. Nos casos em que a interação doses de K x doses de Cd não foi significativa, foi realizado o estudo de regressão de primeiro e segundo grau para o efeito do Cd, quando ele foi significativo. Para as doses de K foi realizada a comparação de médias pelo teste de Tukey. Foi adotado o nível de significância de 5% em todos os testes estatísticos.

3.3. Resultados

3.3.1. Diagnose visual

No primeiro crescimento do capim tanzânia, as plantas cultivadas na dose de K de 0,4 mmol L⁻¹ apresentaram sintomas visuais de deficiência desse nutriente a partir dos 15 dias após o transplântio das mudas. Foram observadas manchas cloróticas e depois necróticas nas pontas e margens das folhas mais maduras. Aos 28 dias após o transplântio, houve avanço da clorose e da necrose em direção à nervura principal, com as pontas das folhas se tornando necrosadas (Figura 1A).

Após a aplicação do Cd, foi possível observar que plantas com deficiência de K apresentaram perda de turgidez, com consequente tombamento, e alguns pontos de necrose nas lâminas recém expandidas em decorrência da toxidez por Cd. Quando o K foi aplicado na dose de 11,6 mmol L⁻¹, as plantas expostas ao Cd se mantiveram túrgidas, exceto nas horas mais quentes do dia. Com a presença de Cd até a dose 0,5 mmol L⁻¹ foram observados poucos pontos de necrose nas lâminas recém expandidas e os mesmos encontravam-se em estágio inicial. Entretanto, as mais

elevadas doses de Cd ($1,0$ e $1,5 \text{ mmol L}^{-1}$) resultaram em muitos pontos necróticos com halo clorótico em todas as lâminas de folhas recém expandidas, que, posteriormente, evoluíram para as demais folhas da planta (Figura 1B).

No segundo crescimento, a emissão e o desenvolvimento de perfilhos foi inversamente proporcional à dose de Cd, sendo que alguns deles morreram no decorrer do ciclo de cultivo (Figura 1C). Foi possível notar que as plantas crescidas em solução nutritiva com dose de Cd de $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ combinada com $6,0$ ou $11,6 \text{ mmol L}^{-1}$ de K apresentaram maior número de perfilhos e folhas quando comparadas com as plantas com deficiência de K ($0,4 \text{ mmol L}^{-1}$) (Figura 1D).

3.3.2. Morfogênese e taxa de mortalidade de perfilhos

No primeiro crescimento do capim tanzânia, verificou-se significância para o número total de perfilhos e de folhas para as doses de K isoladamente, com maiores produções nas doses de K de $6,0$ e $11,6$ em relação a $0,4 \text{ mmol L}^{-1}$ (Tabela 2). Para a área foliar foi verificada significância das doses de K e de Cd, isoladamente (Tabela 2 e Figura 2). O suprimento de K na dose de $11,6 \text{ mmol L}^{-1}$ proporcionou maior área foliar do que na dose de $6,0$ e esta maior do que na dose $0,4 \text{ mmol L}^{-1}$ (Tabela 2). A aplicação de Cd reduziu a área foliar, com ajuste a modelo linear de regressão, sendo a dose de Cd de $1,5 \text{ mmol L}^{-1}$ responsável pelo mínimo valor de área foliar e resultando em decréscimo de 46% quando comparado ao controle (ausência de Cd na solução nutritiva) (Figura 2).

Tabela 2. Parâmetros morfológicos do capim tanzânia, no primeiro crescimento, em função das doses de K

Doses de K (mmol L^{-1})	Perfilhos (número/vaso)	Folhas (número/vaso)	Área foliar (cm^2/vaso)
0,4	8,50 b	44,16 b	901,14 c
6,0	13,92 a	74,83 a	2492,39 b
11,6	14,58 a	80,50 a	2996,96 a

Médias seguidas de mesma letra, em cada coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%

Figura 1. Sintomas de deficiência de K nas lâminas de folhas maduras aos 28 dias após o transplântio (a); sintomas de toxidez por Cd nas lâminas de folhas recém expandidas durante o primeiro crescimento (b); emissão de perfilhos e folhas na rebrotação em função da dose de Cd (c); desenvolvimento das plantas crescidas com a dose de Cd de 0,5 mmol L⁻¹ combinadas com as doses de K de 6,0 e 11,6 mmol L⁻¹ durante o segundo crescimento do capim tanzânia

Figura 2. Área foliar do capim tanzânia, no primeiro corte, em função das doses de Cd

No segundo crescimento houve significância da interação doses de K x doses de Cd para o número de folhas, número de perfilhos e área foliar (Figura 3). Os valores mínimos para esses três parâmetros foram verificados na baixa disponibilidade de K (0,4 mmol L⁻¹) e alta disponibilidade de Cd (1,5 mmol L⁻¹). Foi possível constatar que o aumento do suprimento de K em plantas expostas ao Cd proporcionou incremento na produção de folhas e de perfilhos e na área foliar do capim tanzânia (Figuras 3 A, B e C). Entretanto, para a área foliar observou-se que o aumento das doses de K na solução nutritiva possibilitou maior valor dessa variável com o fornecimento de Cd de no máximo 1,0 mmol L⁻¹ (Figura 3C). A presença de Cd na solução nutritiva na dose de 0,5 mmol L⁻¹ associada à dose de K de 11,6 mmol L⁻¹ resultou em maior número de perfilhos por unidade experimental (Figura 3A), porém menores em tamanho do que na não aplicação de Cd na solução nutritiva. Do mesmo modo, a mais elevada dose de K (11,6 mmol L⁻¹) associada à menor dose de Cd (0,5 mmol L⁻¹) provocou a emissão de apreciável quantidade de folhas (Figura 3B), porém com tamanho menor (o que resultou em menor área foliar) (Figura 3C) do que as observadas sem aplicação de Cd na solução nutritiva.

A taxa de mortalidade de perfilhos, avaliada no segundo crescimento do capim, apresentou significância para a interação doses de K x doses de Cd. No estudo da superfície de resposta observou-se que a alta disponibilidade de Cd (1,5 mmol L⁻¹) combinada à baixa disponibilidade de K (0,4 mmol L⁻¹) resultou na mais alta taxa de mortalidade de perfilhos. Todavia, na alta disponibilidade de Cd (1,5 mmol L⁻¹) quando associada com alta disponibilidade de K (11,6 mmol L⁻¹) em solução nutritiva verificou-se redução na mortalidade de perfilhos do capim tanzânia (Figura 3D).

Figura 3. Número de perfilhos (A), número de folhas (B), área foliar (C) e taxa de mortalidade de perfilhos (TMP) do capim tanzânia, no segundo crescimento, em função das combinações de doses de K com as de Cd

Para o comprimento e a superfície do sistema radicular do capim tanzânia foram verificadas significâncias da interação doses de K $\times$ doses de Cd (Figura 4). Pode-se notar na figura 4 que no intervalo das doses de Cd de 0 a $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$, o fornecimento de K na solução nutritiva contribuiu para o aumento do comprimento e superfície radiculares. Analisando a dose de Cd de $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$, o comprimento e a superfície radiculares foram 50 e 60% menores, respectivamente, em condições de baixo suprimento de K ($0,4 \text{ mmol L}^{-1}$) quando comparado com a mais alta dose de K ($11,6 \text{ mmol L}^{-1}$).

Figura 4. Comprimento (A) e superfície (B) das raízes do capim tanzânia em função das combinações de doses de K com as de Cd

3.3.3. Produção de massa seca

Na produção de massa seca da parte aérea, no primeiro corte, não foi verificada significância da interação doses de K x doses de Cd, mas foram significativos os efeitos isolados dessas doses (Figuras 5 A e B). As doses de K de 6,0 e 11,6 mmol L⁻¹ resultaram em maior produção de massa seca da parte aérea do capim tanzânia do que na dose de 0,4 mmol L⁻¹ (Figura 5A). Para as doses de Cd foi observado que os resultados se ajustaram ao modelo de regressão exponencial, e a produção de massa seca da parte aérea diminuiu, de modo não proporcional, à medida que foram aumentadas as doses de Cd (Figura 5B). Para o segundo corte, a interação doses de K x doses de Cd foi significativa para a massa seca da parte aérea (Figura 5C). O aumento de fornecimento de K amenizou a situação de menor crescimento do capim ocasionada pelo efeito tóxico do Cd até 1,0 mmol L⁻¹. Verificou-se que alta disponibilidade Cd em solução (1,0 a 1,5 mmol L⁻¹) praticamente inviabilizou o crescimento do capim tanzânia após o primeiro corte. Para as plantas crescidas em meio contendo Cd na dose de 0,5 mmol L⁻¹, a alta disponibilidade de K (11,6 mmol L⁻¹) proporcionou incremento de 83,4% na produção de massa seca da parte aérea quando comparado à baixa disponibilidade de K (0,4 mmol L⁻¹) na solução nutritiva.

Figura 5. Produção de massa seca da parte aérea do capim tanzânia, no primeiro corte, em função das doses de K (A) e de Cd (B); e no segundo corte (C) e das raízes (D) em função das combinações de doses de K com as de Cd

Para a produção de massa seca das raízes do capim tanzânia foi significativa a interação doses de K × doses de Cd (Figura 5D), sendo que o aumento do fornecimento de K na solução nutritiva proporcionou maior crescimento e produção de massa das raízes de plantas expostas ao Cd. A contribuição do K no maior crescimento radicular foi mais expressiva em condições de baixa disponibilidade de Cd (até 0,5 mmol L⁻¹) na solução.

3.3.4. Concentração e acúmulo de Cd e concentração de nutrientes (K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn e Zn) na parte aérea e nas raízes

No material vegetal coletado nos dois cortes do capim tanzânia, as concentrações de Cd nas lâminas de folhas recém expandidas (LR) e nas demais partes (DP) apresentaram significância para a interação doses de K × doses de Cd

(Figuras 6 A, B, C e D). No primeiro corte, quando o capim foi exposto às doses de Cd de até $0,75 \text{ mmol L}^{-1}$, o aumento na dose de K reduziu a concentração de Cd nas LR (Figura 6A). Nas DP, considerando a dose máxima de Cd ($1,5 \text{ mmol L}^{-1}$), a maior disponibilidade de K ($11,6 \text{ mmol L}^{-1}$) causou redução na concentração de Cd de $200\text{-}250 \text{ mg kg}^{-1}$ (encontrada na menor dose de K $0,4 \text{ mmol L}^{-1}$) para $100\text{-}150 \text{ mg kg}^{-1}$ (Figura 6B). No segundo corte, em condições de baixa disponibilidade de Cd (até $0,3 \text{ mmol L}^{-1}$) à medida que foram incrementadas as doses de K foi constatada menor concentração de Cd nas LR. Por outro lado, em condições de médias a elevadas doses de Cd ($0,4$ a $1,5 \text{ mmol L}^{-1}$), o maior fornecimento de K favoreceu a obtenção da máxima concentração de Cd no tecido vegetal das LR (40 a 50 mg kg^{-1}) (Figura 6C). Entretanto, a concentração de Cd nas DP, em condições de alta disponibilidade de Cd ($1,5 \text{ mmol L}^{-1}$), foi reduzida à metade com o fornecimento da maior dose de K ($11,6 \text{ mmol L}^{-1}$) se comparada com a menor dose de K ($0,4 \text{ mmol L}^{-1}$), variando de $1200\text{-}1400$ para $600\text{-}800 \text{ mg kg}^{-1}$ (Figura 6D).

Os acúmulos de Cd na parte aérea do capim tanzânia, tanto no primeiro quanto no segundo corte, apresentaram significância para a interação doses de K x doses de Cd (Figuras 6E e F). A maior dose de K ($11,6 \text{ mmol L}^{-1}$) associada à maior dose de Cd ($1,5 \text{ mmol L}^{-1}$) foram responsáveis pelo mais alto acúmulo desse metal na parte aérea do capim, nos dois cortes.

A interação doses de K x doses de Cd foi significativa para a concentração e acúmulo de Cd no tecido radicular do capim tanzânia (Figura 7A e B). Para uma mesma dose de Cd, à medida que se aumentou o fornecimento de K a concentração de Cd nas raízes permaneceu constante. Entretanto, para uma mesma dose de K a elevação no fornecimento de Cd promoveu aumento na concentração de Cd nas raízes. Portanto, os mais altos valores de concentração de Cd no tecido radicular (1200 a 1400 mg kg^{-1}) foram encontrados na maior disponibilidade de Cd na solução nutritiva (Figura 7A). Os mais elevados acúmulos de Cd nas raízes foram encontrados nas doses de K de $11,6 \text{ mmol L}^{-1}$ e de Cd de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ (Figura 7B).

Figura 6. Concentração de Cd nas lâminas de folhas recém expandidas (LR) (A e C) e nas demais partes (DP) (B e D) e acúmulo de Cd na parte aérea (E e F) do capim tanzânia, no primeiro e segundo corte, em função das combinações de doses de K com as de Cd

$$\text{CdR} = -15,3254 + 9,4813\text{K} - 0,1660\text{K}^2 - 6,2464\text{CdK} + 1605,81\text{Cd} - 510,0111\text{Cd}^2 \quad R^2 = 0,90$$

$$\text{AcCdR} = -0,4828 + 0,2189\text{K} - 0,0103\text{K}^2 + 0,0403\text{CdK} + 4,5219\text{Cd} - 2,5730\text{Cd}^2 \quad R^2 = 0,66$$

Figura 7. Concentração (A) e acúmulo (B) de Cd nas raízes do capim tanzânia, em função das combinações de doses de K com as de Cd

Tabela 3. Concentração de nutrientes nas lâminas de folhas recém expandidas do capim tanzânia, no primeiro e segundo corte, em função das doses de K

Corte	Nutrientes nas LR	Unidade da concentração	Doses de K (mmol L ⁻¹)		
			0,4	6,0	11,6
Primeiro	K	g kg ⁻¹	5,71 c	26,25 b	32,81 a
	Ca		7,60 a	5,15 b	4,48 b
	Mg		3,29 a	2,55 ab	2,29 b
	Fe	mg kg ⁻¹	91,36 a	72,46 b	91,02 a
	Mn		83,09 a	69,95 b	55,36 c
	Zn		28,29 a	14,57 b	14,46 b
Segundo	K	g kg ⁻¹	8,30 c	26,71 b	35,20 a
	Mg		3,58 a	2,70 b	2,64 b
	Cu	mg kg ⁻¹	8,21 a	5,18 b	4,92 b
	Fe		123,63 b	121,76 b	149,42 a

Médias seguidas de mesma letra, em cada linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%.

Na concentração de K nas LR não foi significativa a interação doses de K x doses de Cd nas amostras dos dois cortes do capim tanzânia, mas respostas significativas foram observadas para as doses de K e Cd isoladamente (Tabela 3 e Figura 8A). A dose de K de 11,6 mmol L⁻¹ resultou, nos dois cortes, nas mais elevadas concentrações de K no tecido analisado (Tabela 3). Para as doses de Cd, no primeiro corte, os resultados da concentração de K nas LR se ajustaram a modelo exponencial de regressão, sendo o mais alto fornecimento de Cd responsável pelo aumento da concentração desse nutriente. No segundo corte, a concentração de K nas LR aumentou linearmente conforme o fornecimento de Cd, resultando em incremento de 51% quando se compara essa concentração em condição da mais alta dose de Cd com a da não aplicação desse metal na solução nutritiva (Figura 8A). Para a concentração de K nas raízes do capim tanzânia foi significativa a interação doses de K x doses de Cd e a mais elevada concentração desse nutriente nas raízes foi verificada na alta disponibilidade de K e média disponibilidade de Cd.

As concentrações de Ca, Mg, Mn, Zn e Fe nas LR, no primeiro corte, foram influenciadas pelas doses de K, isoladamente (Tabela 3). As doses de K de 6,0 e 11,6 mmol L⁻¹ proporcionaram mais baixas concentrações (Ca = 5,14 e 4,47 g kg⁻¹; Mg = 2,54 e 2,28 g kg⁻¹ e Zn = 14,56 e 14,46 mg kg⁻¹, respectivamente nas doses de 6,0 e 11,6 mmol L⁻¹) desses nutrientes nas LR, exceto para o Mn em que a dose de 11,6 mmol L⁻¹ resultou na mais baixa concentração (55,36 mg kg⁻¹) desse nutriente nos tecidos foliares. Entretanto, a concentração de Fe nas LR apresentou mais altos valores (91,36 e 91,01 mg kg⁻¹) nas doses de K de 0,4 e 11,6 mmol L⁻¹, respectivamente.

As concentrações de S e Cu nas LR coletadas ao final do primeiro período de crescimento tiveram significativa a interação doses de K x doses de Cd (Figuras 9A e 10A). Para uma mesma dose de Cd, o aumento do fornecimento de K na solução nutritiva resultou em mais baixa concentração de S nas LR, sendo os valores mínimos entre 0,5 a 1,0 g kg⁻¹ encontrados na dose de K de 11,6 mmol L⁻¹ (Figura 9A). As aplicações de Cd e K diminuíram a concentração de Cu nas LR e a combinação de dose de K de 0,4 mmol L⁻¹ com a não aplicação de Cd na solução nutritiva proporcionou os valores máximos (8 a 10 mg kg⁻¹) (Figura 10A).

Figura 8. Concentração de K nas lâminas de folhas recém expandidas (LR) do capim tanzânia, no primeiro e segundo corte, em função das doses de Cd (A); concentração de K nas raízes em função das combinações de doses de K com as de Cd (B); concentração de Ca nas lâminas de folhas recém expandidas (LR) do capim tanzânia, no segundo corte (C), e nas raízes em função das combinações de doses de K com as de Cd; concentração de Mg nas lâminas de folhas recém expandidas (LR) do capim tanzânia, no segundo corte, em função das doses de Cd (E) e concentração de Mg nas raízes em função das combinações de doses de K com as de Cd (F)

Nas LR coletadas no segundo corte, a interação doses de K x doses de Cd não foi significativa para as concentrações de Mg, Cu e Fe, mas foi verificado efeito

significativo isolado das doses de K e de Cd (Tabela 3 e Figuras 8E, 10B e 10D). As doses de K de 6,0 e 11,6 mmol L⁻¹ proporcionaram as mais baixas concentrações de Mg e Cu nas LR (Mg = 2,7 e 2,64 g kg⁻¹; Cu = 5,18 e 4,92 mg kg⁻¹, respectivamente), ao passo que a dose de 11,6 mmol L⁻¹ resultou em mais alta concentração de Fe (149,42 mg kg⁻¹) nos tecidos foliares do capim tanzânia (Tabela 3). O aumento das doses de Cd proporcionou redução na concentração de Mg nas LR, apresentando valor mínimo (2,09 g kg⁻¹) na dose de Cd de 1,18 mmol L⁻¹ (Figura 8E). Entretanto, constatou-se que as concentrações de Cu e Fe aumentaram com o incremento do fornecimento de Cd na solução nutritiva. Foi detectado aumento de duas vezes na concentração de Cu quando se comparou a maior dose de Cd (1,5 mmol L⁻¹) com a não aplicação desse elemento no meio de cultivo (Figura 10B). Entretanto, ocorreu aumento da concentração de Fe até a dose de Cd de 0,75 mmol L⁻¹, e para doses mais elevadas houve redução na concentração desse nutriente nas LR (Figura 10D).

Figura 9. Concentração de S nas lâminas de folhas recém expandidas (LR) do capim tanzânia, no primeiro (A) e segundo (B) corte, e nas raízes (C) em função das combinações de doses de K com as de Cd

Para as concentrações de Ca, S, Mn e Zn nas LR coletadas no segundo corte, foi significativa a interação doses de K x doses de Cd (Figuras 8C, 9B, 11A e 11C). O aumento da disponibilidade de Cd na solução nutritiva proporcionou redução nas concentrações de Ca, S e Mn no tecido foliar. Os mais altos valores de concentrações desses nutrientes ($\text{Ca} = 10\text{-}12 \text{ g kg}^{-1}$, $\text{S} = 2,1\text{-}2,4 \text{ g kg}^{-1}$, $\text{Mn} = 80\text{-}100 \text{ mg kg}^{-1}$) foram encontrados na não aplicação de Cd na solução nutritiva e associada com a mais baixa dose de K ($0,4 \text{ mmol L}^{-1}$) (Figuras 8C, 9B e 11A). Entretanto, a concentração de Zn nas LR aumentou com a elevação da disponibilidade de Cd no meio de cultivo. As doses de K de $0,4 \text{ mmol L}^{-1}$ e Cd de $1,5 \text{ mmol L}^{-1}$ proporcionaram a mais elevada concentração desse nutriente ($80\text{-}100 \text{ mg kg}^{-1}$) (Figura 11C).

Para as concentrações de Ca, Mg, S, Cu, Fe e Zn nas raízes do capim, a interação doses de K x doses de Cd foi significativa (Figuras 8D, 8F, 9C, 10C, 10E e 11D). A concentração de Ca nas raízes foi mais baixa ($2 \text{ a } 3 \text{ g kg}^{-1}$) em condições de não aplicação de Cd e alta disponibilidade de K na solução nutritiva (Figura 8D). Por outro lado, as mais altas doses de Cd e K aplicadas proporcionaram as mais baixas concentrações de Mg nas raízes ($0,5 \text{ a } 1,0 \text{ g kg}^{-1}$) (Figura 8F). As concentrações de S e Cu nos tecidos radiculares aumentaram com o incremento da dose de Cd até $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$, e o aumento do fornecimento de K reduziu discretamente as concentrações desses nutrientes nas raízes (Figuras 9C e 10C). Os mais elevados valores de concentração de Fe nas raízes ($3500 \text{ a } 4000 \text{ mg kg}^{-1}$) foram encontrados em condições de alta disponibilidade de Cd ($1,5 \text{ mmol L}^{-1}$) e baixa disponibilidade de K ($0,4 \text{ mmol L}^{-1}$) (Figura 10E). A concentração de Zn foi mais alta quando foram aplicadas as doses de Cd de $0,5 \text{ a } 1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ associadas à mais baixa dose de K na solução nutritiva (Figura 11D).

A concentração de Mn nas raízes foi influenciada pelas doses de Cd, de forma isolada. O aumento na dose de Cd resultou em redução da concentração de Mn nos tecidos radiculares, sendo que a dose de Cd de $0,91 \text{ mmol L}^{-1}$ proporcionou o valor mínimo ($26,21 \text{ mg kg}^{-1}$) de concentração desse nutriente (Figura 11B).

Figura 10. Concentração de Cu nas lâminas de folhas recém expandidas (LR) do capim tanzânia, no primeiro corte (A), e nas raízes (C), em função das combinações de doses de K com as de Cd; concentração de Cu nas LR, no segundo corte, em função das doses de Cd (B); concentração de Fe nas lâminas de folhas recém expandidas (LR) do capim tanzânia, no segundo corte, em função das doses de Cd (D) e concentração de Fe nas raízes em função das combinações de doses de K com as de Cd (E)

Figura 11. Concentração de Mn nas lâminas de folhas recém expandidas (LR) do capim tanzânia, no segundo corte, em função das combinações de doses de K com as de Cd (A); concentração de Mn nas raízes em função das doses de Cd (B) e concentração de Zn nas lâminas de folhas recém expandidas (LR) do capim tanzânia, no segundo corte (C) e nas raízes (D), em função das combinações de doses de K com as de Cd

3.3.5. Índice Relativo de Clorofila (IRC)

No primeiro crescimento, para o IRC nas lâminas de folhas recém expandidas do capim tanzânia, houve significância tanto das doses de K quanto das doses de Cd (Figura 12). Com o suprimento de K nas doses de 6,0 e 11,6 mmol L^{-1} foram obtidos maiores IRC (entre 38 e 40) do que na dose 0,4 mmol L^{-1} (29,2) (Figura 12A). Os resultados para as doses de Cd ajustaram-se ao modelo linear de regressão (Figura 12B), onde foi possível verificar que o IRC foi mais baixo à medida que se aumentaram as doses de Cd na solução, variando de 40 na não aplicação de Cd a 32 na maior dose de Cd. No segundo crescimento houve efeito significativo no IRC apenas para as doses de Cd, com os resultados ajustando-se ao modelo quadrático de regressão.

O máximo IRC foi de 38,6, obtido na dose de Cd de 0,69 mmol L⁻¹, sendo que esse índice diminuiu com o incremento na dose de Cd (1,5 mmol L⁻¹) (Figura 12B).

Figura 12. Índice Relativo de Clorofila (IRC) do capim tanzânia, no primeiro crescimento, em função das doses de K (A); e no primeiro e segundo crescimento, em função das doses de Cd (B)

3.4. Discussão

O potencial para fitoextração de metais do capim tanzânia está relacionado com sua alta produção de biomassa e a possibilidade de cortes sucessivos, o que permite alta extração de metais, que pode ser até maior que em uma espécie hiperacumuladora (Monteiro et al. 2011; Rabêlo et al. 2017; Souza Júnior et al. 2018).

A produtividade e a sobrevivência das gramíneas são influenciadas, sobretudo, pelo perfilhamento. As gemas axilares presentes nas folhas surgidas a partir do coleótilo são responsáveis pela emissão de perfilhos. Após o corte, os capins possuem mecanismo eficiente de recuperação do crescimento devido a capacidade de emissão de folhas a partir do meristema apical, que está localizado perto da superfície do solo (abaixo da altura de corte). Mesmo se alguns meristemas forem removidos pelo corte, eles podem ser substituídos pelo surgimento de novos perfilhos a partir de gemas axilares localizadas nas folhas (Cabral et al. 2017; Coutinho et al. 2014; Langer 1979). Embora essas características sejam genéticas, fatores ambientais como a disponibilidade de nutrientes, dentre eles o K, podem afetar a produção de folhas e perfilhos e, conseqüentemente a produção de massa seca da parte aérea, o que foi comprovado nesta pesquisa (Tabela 2 e Figuras 3A, 3B, 5A e 5C).

No primeiro crescimento, o número de folhas e de perfilhos foi influenciado somente pelas doses de K (Tabela 2), possivelmente porque a exposição ao Cd ocorreu após 30 dias do transplante e permaneceu pelo período de apenas cinco dias. Então, o tempo não teria sido suficiente para que as doses de Cd pudessem ocasionar diferenças significativas nessas duas variáveis. Entretanto, a área foliar e a produção de massa seca da parte aérea foram afetadas pela presença de Cd na solução nutritiva (Figuras 2 e 5B), pois esse elemento além de provocar o enrolamento das folhas, reduziu o crescimento delas (Rahman et al. 2016). No segundo crescimento, a presença de doses mais elevadas de Cd residual na solução nutritiva resultou na emissão de novas folhas e perfilhos pequenos e pouco desenvolvidos, o que refletiu em mais baixas área foliar e produção de massa seca da parte aérea (Figuras 3C e 5C), especialmente quando as concentrações de Cd nos tecidos da parte aérea (demais partes) eram mais altas ($1200-1400 \text{ mg kg}^{-1}$), condição encontrada na dose de K de $0,4 \text{ mmol L}^{-1}$ e de Cd de $1,5 \text{ mmol L}^{-1}$ (Figura 6D). Adicionalmente, o Cd ocasionou a morte desses perfilhos novos no decorrer do segundo crescimento, aumentando substancialmente a taxa de mortalidade de perfilhos a partir da dose de Cd de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ associada à mais baixa dose de K ($0,4 \text{ mmol L}^{-1}$) (Figura 3D).

Na parte aérea, o Cd acumula-se na parte basal dos colmos (Fujimaki et al. 2010), local onde se encontra a região meristemática responsável pela emissão de novas folhas e perfilhos após o corte. Portanto, as altas concentrações de Cd ($1200-1400 \text{ mg kg}^{-1}$) encontradas nas demais partes (colmo + bainhas + folhas maduras) (Figura 6D), quando as plantas foram expostas às mais altas doses desse metal, causaram a morte de perfilhos durante o segundo crescimento (Figura 3D).

O mais baixo número de folhas e de perfilhos e as mais baixas área foliar e produção de massa seca, especialmente no segundo crescimento do capim, em decorrência do estresse por Cd ocorreram em função dos efeitos adversos desse metal na biossíntese de clorofila, como comprovado pelo mais baixo IRC, que causa declínio da atividade fotossintética e na homeostase nutricional (Figuras 3 A, B e C, 5C e 12B). Além disso, a presença de Cd nos tecidos pode prejudicar o balanço hídrico das plantas (por isso as folhas apresentaram perda de turgidez) e aumentar o conteúdo de espécies reativas de oxigênio (Qadir et al. 2014; Zouari et al. 2016a; Zouari et al. 2016b). Observações similares sobre as mais baixas produção de folhas e de perfilhos, área foliar e massa seca da parte aérea do capim tanzânia ocasionadas

pelos efeitos tóxicos do Cd foram reportadas por Rabêlo et al. (2017). Outros autores também verificaram os prejuízos ocasionados pelo Cd no crescimento vegetal em plantas como mostarda (*Brassica juncea*) (Per et al. 2016), algodão (*Gossypium hirsutum*) (Daud et al. 2016), trigo (*Triticum aestivum*) (Wang et al. 2017b) e arroz (*Oryza sativa*) (Rahman et al. 2016).

O sistema radicular é importante para a manutenção do crescimento da planta. As doses mais elevadas de Cd danificaram a morfologia das raízes, resultando em mais baixos comprimento e superfície radicular, além de ocasionar baixa produção de massa comparado à não aplicação de Cd na solução nutritiva (Figuras 4A, 4B e 5D). O Cd inibe a elongação e causa deformação das raízes devido aos seus efeitos deletérios no metabolismo vegetal (Andresen e Küpper 2013). O pouco crescimento e produção de massa seca de raízes são consequências comuns da fitotoxidez por Cd, pelo fato desse elemento proporcionar inibição da divisão e crescimento celular (Gong et al. 2016; Liu et al. 2003). A redução do crescimento celular pode ser devido a limitação na disponibilidade de água para expansão celular, ao dano celular, inibição da mitose, decréscimo na síntese da parede celular e de deposição de lignina na parede celular induzidos pelo Cd (Kumari et al. 2015). Em geral, o Cd provoca mais injúrias nas raízes do que na parte aérea como resultado da mais alta concentração desse metal nos tecidos radiculares (Figura 7A).

Em contrapartida, o suprimento das plantas com as mais altas doses de K amenizou os efeitos deletérios do Cd, favorecendo mais elevadas produções de perfilhos e de folhas, área foliar, massa seca da parte aérea e raízes, comprimento e superfície radiculares e reduzindo a taxa de mortalidade de perfilhos, quando o metal foi aplicado em doses iguais ou inferiores a 1 mmol L⁻¹ (na maioria dos casos) (Figuras 3 A, B e C, 5 C e D, 4 A e B e 3D). O perfilhamento implica em intensa atividade meristemática e crescimento celular, processos dependentes da presença de K nos vegetais (Langer 1979; Oosterhuis et al. 2014). Dada a sua importância na manutenção do turgor celular, o K tem papel fundamental no crescimento vegetal, pois a osmorregulação é um passo importante na expansão celular. Além disso, o K tem grande importância na síntese de carboidratos e proteína, que são componentes da parede celular, estrutura essencial para o crescimento das células (Oosterhuis et al. 2014; Oosterhuis et al. 2013; Taiz et al. 2017). Com o incremento do número de perfilhos, mais folhas são produzidas, e assim, o crescimento foliar é estimulado. Então, há aumento da área foliar total da planta, como verificado nesta pesquisa, pois

a mais alta taxa de mortalidade de perfilhos, em condições de alta disponibilidade de Cd ($1,5 \text{ mmol L}^{-1}$) e baixa de K ($0,4 \text{ mmol L}^{-1}$), resultou em valores mínimos de área foliar e produção de massa seca da parte aérea (Figuras 3D e 3C e 5C).

O K favorece o processo fotossintético responsável pela geração de açúcares para ser convertido em energia, e conseqüentemente, em produção de biomassa tanto no estabelecimento quanto na recuperação do capim após o corte. Adicionalmente, como o K está relacionado ao transporte de carboidratos solúveis nos vegetais e ao metabolismo do N (Marschner 2012), esse nutriente controla a magnitude das reservas de carbono nas raízes, que são necessárias para a restauração dos tecidos da parte aérea das plantas após o corte. Os efeitos positivos da aplicação de K no número de perfilhos e de folhas, na área foliar e na produção de massa seca de gramíneas forrageiras têm sido relatados por diversos autores (Consolmagno Neto et al. 2007; Lavres Júnior e Monteiro 2003; Mattos et al. 2002; Megda e Monteiro 2010). Evidências similares do papel favorável desempenhado pelo K no crescimento vegetal em condições de toxidez por Cd foram documentadas por Siddiqui et al. (2012), Ahmad et al. (2016b) e Zaheer et al. (2018), em plantas de feijão fava (*Vicia faba*), grão de bico (*Cicer arietinum*) e gladiolo (*Gladiolus grandiflora*), respectivamente.

As raízes são os primeiros sítios de exposição aos íons de Cd via transporte apoplástico, o que proporciona mais elevada concentração desse metal nesse órgão da planta (Figura 7A) (Chen et al. 2011). Isso pode ser uma estratégia de defesa adotada, principalmente por plantas não hiperacumuladoras, para proteger os tecidos da parte aérea, especialmente, as células fotossintéticas metabolicamente ativas do excesso de Cd. A maior parte do Cd é sequestrado nos vacúolos dos tecidos radiculares, impedindo sua entrada no xilema, o que reduz seu transporte para a parte aérea (Rascio e Navari-Izzo 2011).

Embora exista elevada retenção de Cd nas raízes, as concentrações desse elemento na parte aérea, especialmente nas demais partes (colmos+bainhas+folhas maduras) foram relativamente altas, alcançando $100\text{-}150 \text{ mg kg}^{-1}$ e $600\text{-}800 \text{ mg kg}^{-1}$ no material coletado no primeiro e segundo corte, respectivamente, em condições de altas disponibilidades de K e Cd (Figuras 6B e D). Essa concentração foi mais elevada no tecido vegetal do segundo corte pois a colheita foi realizada rente ao substrato, coletando-se a base da parte aérea (região de encontro da parte aérea com as raízes) onde geralmente aloca-se grande parte do Cd transportado para a parte aérea

(Fujimaki et al. 2010). Esses valores de concentração indicam boa tolerância do capim ao Cd, pois as plantas não morreram nessas condições e um dos fatores considerados para classificar a planta como hiperacumuladora é a concentração de Cd nos tecidos da parte aérea acima de 100 mg kg^{-1} , indicando assim boa capacidade de fitoextração do capim (Zhang et al. 2010).

O Cd afeta o sistema fotossintético e causa mais produção de espécies reativas de oxigênio que podem conduzir as células a morte programada, provocando o aparecimento de pontos de necrose, principalmente em folhas em desenvolvimento (folhas jovens) mais do que em folhas velhas (Martins et al. 2011; Mishra et al. 2014). A isto se atribui o aparecimento dos pontos necróticos observados nas LR (Figura 1B). Assim, os sintomas visuais de toxidez observados nas LR do capim tanzânia, cujas raízes estavam expostas ao Cd, indicam que esse metal foi absorvido e transportado em maiores quantidades até as folhas de mais elevada atividade metabólica (LR), em detrimento das folhas maduras. Entretanto, as LR apresentaram concentrações máximas de Cd menores que as DP (colmos+bainhas+folhas maduras) (LR = $60\text{-}80 \text{ mg kg}^{-1}$ e $40\text{-}50 \text{ mg kg}^{-1}$; DP = $200\text{-}250 \text{ mg kg}^{-1}$ e $1200\text{-}1400 \text{ mg kg}^{-1}$, no primeiro e segundo cortes, respectivamente), pois o Cd ficou retido principalmente nos colmos, o que resultou em elevação da concentração desse elemento nas demais partes (DP) (Figura 6).

Como o maior fornecimento de K em plantas expostas ao Cd resultou em mais alta produção de massa seca da parte aérea do capim tanzânia (Figura 5C), foi obtida mais baixa concentração de Cd nos tecidos vegetais (exceto nas LR do segundo corte) nessas condições (Figura 6). O Cd estando diluído nos tecidos, permite a planta mostrar mais tolerância a esse metal. Entretanto, em decorrência do incremento de produção de massa, o acúmulo de Cd foi mais alto em condições de alta disponibilidade de K ($11,6 \text{ mmol L}^{-1}$) e de Cd ($1,5 \text{ mmol L}^{-1}$) (Figuras 6 E e F). Assim, o K aumenta o potencial de fitoextração de Cd pelo capim tanzânia, pois diminui a concentração de Cd (aumentando a tolerância da planta) e aumenta a quantidade de Cd extraído (pelo maior acúmulo de Cd na parte aérea). Considerando os acúmulos de Cd na parte aérea nos dois cortes do capim, verifica-se que ultrapassa o valor de acúmulo encontrado nas raízes (Figuras 6 E e F e 7 B), o que indica bom potencial do capim para fitoextração desse metal.

O mais elevado fornecimento de K diminuiu as concentrações de Ca, Mg, Cu, Mn e Zn nas LR do capim tanzânia (Tabela 3). Exceto Ca e Mg que possuem estreita

relação com o K quanto às proporções desses cátions absorvidos pela planta (Monteiro e Consolmagno Neto 2008), os demais nutrientes tiveram mais baixa concentração com incremento da disponibilidade de K em decorrência do aumento de produção de massa seca da parte aérea proporcionada pelo K (Figuras 5 A e C), o que provocou a diluição desses nutrientes nos tecidos das LR. Entretanto, essa redução na concentração de nutrientes ocasionada pelo K não resultou em prejuízos para a planta, pois todos os nutrientes mantiveram suas concentrações iguais ou acima da mínima requerida pelo capim tanzânia (Werner et al. 1996).

As mais altas doses de Cd resultaram em mais baixa concentração de Ca, Mg e Mn nas LR no segundo corte, e de Cu, no primeiro corte (Figuras 8C, 8E, 11A e 10A). Como o Cd não apresenta função biológica, não existem canais ou transportadores específicos para esse elemento. Então, a entrada de Cd nas células vegetais ocorre via canais de cátions como Ca (Ca^{2+}) e Mg (Mg^{2+}) ou via transportadores de outros cátions divalentes como Zn (Zn^{2+}), Cu (Cu^{2+}) ou Fe (Fe^{2+}) (Nazar et al. 2012). Portanto, a presença em excesso de íons de Cd na zona radicular pode conduzir à competição e uma relação antagônica do Cd com os outros íons de elementos essenciais. Além disso, o Cd ocasiona distúrbios na absorção de íons de nutrientes devido aos seus efeitos deletérios (peroxidação lipídica) na seletividade e permeabilidade da membrana plasmática (Zouari et al. 2016a). A diminuição da superfície radicular também provoca redução da absorção de íons nutrientes, o que pode resultar em deficiência nutricional no vegetal. Porém, o efeito do Cd na homeostase nutricional depende de alguns fatores como a concentração de Cd no meio de cultivo, a espécie vegetal, o período de exposição, dentre outros (Zouari et al. 2016b). Por isso, provavelmente devido ao tempo de exposição e a espécie vegetal utilizada nessa pesquisa, a redução da concentração de nutrientes ocasionada pelo Cd não provocou deficiência desses nutrientes, pois todos estavam em concentrações acima do nível crítico pelo capim tanzânia, exceto para a concentração de Mn nas LR, no segundo corte, em que a maior dose de Cd ($1,5 \text{ mmol L}^{-1}$) ocasionou em concentração de Mn de $0\text{-}20 \text{ mg kg}^{-1}$ (Figura 11A), valor este considerado abaixo do mínimo recomendado para o capim tanzânia (Werner et al. 1996). Wang et al. (2013), estudando *Lolium perene* em condições de toxidez por Cd verificaram redução na absorção de Ca e Mg devido a presença de Cd de $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ na solução nutritiva. De acordo com Rabêlo e Borgo (2016), a concentração de Mn na parte aérea das

gramíneas forrageiras crescidas na presença de metais pesados é reduzido em quase todas as situações.

Como o Cd (Cd^{2+}) reduziu a absorção de Ca e Mg (cátions divalentes) (Figuras 8 C e E), esse metal favoreceu a absorção de K pelo capim (Figura 8A), devido a relação existente entre esses três nutrientes catiônicos (K, Ca e Mg), resultando em mais alta concentração de K nas LR, em ambos os cortes, quando doses mais elevadas de Cd foram disponibilizadas na solução nutritiva. Segundo Mengel e Kirkby (2001), a soma total das cargas de cátions em uma planta ou em parte dela é pouco variável, portanto a redução da concentração de um cátion (neste caso, Ca e Mg) no meio usualmente resulta em absorção de outro cátion em mais alta quantidade.

A alta disponibilidade de Cd na solução nutritiva proporcionou mais alta concentração de S nas raízes e mais baixa na parte aérea do segundo corte (Figuras 9 C e B). A tolerância à toxicidade por metais está relacionada a mecanismos de detoxificação dentro da planta, como a compartimentalização nos vacúolos e/ou complexação com ligantes celulares como a glutatona, fitoquelatinas e aminoácidos, especialmente nas raízes das plantas (Maestri et al. 2010; Sharma et al. 2016). Como o S faz parte da composição dessas substâncias que podem minimizar os efeitos negativos induzidos pelo Cd (Matraszek et al. 2016), pode se considerar que o aumento da concentração de S nos tecidos radiculares, com o incremento da dose de Cd até $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$, foi importante mecanismo de defesa contra esse metal pesado, indicando maior tolerância do capim ao Cd. Como o S ficou retido nas raízes, o aumento da disponibilidade de Cd reduziu a concentração de S na parte aérea do capim. A redução da concentração de S com incremento da disponibilidade de K ocorreu em função da diluição desse nutriente nos tecidos das LR.

Por outro lado, o Cd aumentou a concentração de Fe, Zn e Cu na parte aérea do capim tanzânia, no segundo corte (Figuras 10D, 11C e 10B). Kabir et al. (2016), estudando plantas de alfafa (*Medicago sativa*), também constataram maior concentração de Fe na parte aérea do vegetal devido ao estresse por Cd. Entretanto, no presente estudo ocorreu aumento da concentração de Fe somente até a dose de Cd de $0,75 \text{ mmol L}^{-1}$, e em doses mais elevadas do metal houve redução na concentração desse nutriente nas LR (Figura 10D). Quando as concentrações de Cd estavam muito altas, esse metal pode ter substituído o Fe nos sítios ativos, resultando em clorose férrica com decréscimo da atividade fotossintética devido à redução no conteúdo de clorofila (Mishra et al. 2014), evidenciado pelo IRC mais baixo, no

segundo crescimento, a partir da dose de Cd de 0,69 mmol L⁻¹ (Figura 12B). O aumento das concentrações de Zn e Fe na parte aérea de gramíneas com o incremento das doses de Cd também foram observados por Rabêlo et al. (2017) no capim tanzânia e por Zhang et al. (2014) no capim bana (*Pennisetum americanum* × *Pennisetum purpureum*), mas os mecanismos responsáveis por esse aumento permanecem não elucidados. O Zn pode amenizar os efeitos adversos da exposição ao Cd devido sua importância no metabolismo do N e na síntese de aminoácidos (Saifullah et al. 2014; Zemanova et al. 2015). O Cu pode ser assimilado como cátion mono e bivalente e a enzima redutase férrica é responsável pela conversão de Cu²⁺ em Cu⁺. A presença de Cd pode otimizar a ação dessa enzima, justificando a alta absorção de Cu (Mwamba et al. 2016). Zhang et al. (2014) também verificaram maior concentração de Cu na parte aérea do capim bana, com o aumento do fornecimento de Cd.

O fornecimento das mais altas doses de K (6,0 e 11,6 mmol L⁻¹) proporcionou mais alto IRC (medida indireta da concentração de clorofila) (Figura 12A) porque o K previne a degradação da clorofila e do ácido aminolevulínico (ALA) recém formados (Siddiqui et al. 2012). A maior disponibilidade de Cd na solução nutritiva causou decréscimo linear no IRC no primeiro crescimento (Figura 12B). O Cd presente nos tecidos vegetais causa inibição da síntese de importantes enzimas, como a ácido delta aminolevulínico desidratase (ALA-desidratase) e protoclórofila redutase associadas com a biossíntese de clorofila (Kupper et al. 1996; Padmaja et al. 1990; Vanassche e Clijsters 1990). Entretanto, no segundo crescimento, o IRC foi diminuído a partir da dose de Cd de 0,69 mmol L⁻¹, devido à redução da concentração de Fe a partir dessa dose de Cd (Figura 10D) e da baixa concentração de Mg em virtude das mais altas doses de Cd (Figura 8E), uma vez que esses elementos são requeridos para a síntese de clorofila. Adicionalmente, danos oxidativos aos pigmentos fotossintéticos também são efeitos deletérios comuns do Cd (Nahar et al. 2016). Diversos autores já relataram redução da concentração de clorofila em plantas como mostarda (Ahmad et al. 2016a), trigo (Wang et al. 2017b), algodão (Daud et al. 2016) e arroz (Rahman et al. 2016) em função da exposição ao Cd. A clorose observada nas plantas com mais elevada concentração de Cd, decorrente do mais baixo IRC, resulta em menor fotossíntese líquida, o que conduz à inibição do crescimento das plantas de capim (Yu et al. 2013).

O capim tanzânia mostrou eficiente extração de Cd quando comparado com plantas hiperacumuladoras como *Atriplex halimus*. Os acúmulos de Cd no capim tanzânia foram de 326 $\mu\text{g/planta}$ e 952 $\mu\text{g/planta}$ no primeiro e segundo cortes, respectivamente, quando foi crescido em condições de altas disponibilidades de Cd ($1,5 \text{ mmol L}^{-1}$) e de K ($11,6 \text{ mmol L}^{-1}$) (Figuras 6E e F). Enquanto isso, a planta de *Atriplex halimus*, quando crescida em solução nutritiva contendo Cd na dose de $400 \mu\text{mol L}^{-1}$, acumulou somente 9,54 $\mu\text{g/planta}$ (Nedjimi e Daoud 2009). Sem dúvida, isso decorre da alta produção de massa do capim tanzânia. Assim, essa gramínea forrageira pode ser eficiente fitoextratora em ambientes contaminados com Cd. Respostas adaptativas na morfologia e produção de biomassa são os primeiros indicadores de tolerância (Wu et al. 2017) pelos quais o capim tanzânia pode sobreviver em ambientes contaminados por Cd, especialmente, quando bem nutrido com K. De acordo com os resultados, embora note-se mais baixo crescimento do capim com o incremento das doses de Cd, o fornecimento de altas doses de K ($6,0$ e $11,6 \text{ mmol L}^{-1}$) para plantas expostas ao Cd (até 1 mmol L^{-1}), proporcionou incremento do crescimento do capim tanzânia, o que sugere aumento da tolerância dessa gramínea ao Cd, devido à maior disponibilidade de K.

3.5. Conclusão

O capim tanzânia apresenta potencial para fitoextração de Cd em ambientes contaminados, pois acumula quantidade apreciável deste metal em seus tecidos da parte aérea. O excesso de Cd proporciona respostas fisiológicas negativas da planta em crescimento, concentração de nutrientes e IRC dessa gramínea forrageira. A aplicação de K em altas doses ($6,0$ e $11,6 \text{ mmol L}^{-1}$) ameniza a toxidez induzida por Cd quando esse metal estiver presente na solução em dose de até $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$. O K proporciona mais crescimento e produção de massa seca da parte aérea, reduzindo as concentrações de Cd nos tecidos fotossintéticos e garantindo maior tolerância e extração de Cd do meio de cultivo.

Referências

Adie GU, Osibanjo O (2010): Accumulation of lead and cadmium by four tropical forage weeds found in the premises of an automobile battery manufacturing company in Nigeria. *Toxicological and Environmental Chemistry* 92, 39-49

- Ahmad P, Ashraf M, Hakeem KR, Azooz MM, Rasool S, Chandna R, Akram NA (2014): Potassium starvation-induced oxidative stress and antioxidant defense responses in *Brassica juncea*. *Journal of Plant Interactions* 9, 1-9
- Ahmad P, Abd Allah EF, Hashem A, Sarwat M, Gucel S (2016a): Exogenous application of selenium mitigates cadmium toxicity in *Brassica juncea* L. (Czern & Cross) by up-regulating antioxidative system and secondary metabolites *Journal of Plant Growth Regulation* 35, 936-950
- Ahmad P, Abdel Latef AA, Abd_Allah EF, Hashem A, Sarwat M, Anjum NA, Gucel S (2016b): Calcium and potassium supplementation enhanced growth, osmolyte secondary metabolite production, and enzymatic antioxidant machinery in cadmium-exposed chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Frontiers in Plant Science* 7, 1-12
- Andresen E, Küpper H (2013): Cadmium Toxicity in Plants. In: Sigel A, Sigel H, Sigel RKO (Editors), *Cadmium: from toxicity to essentiality*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 395-413
- Araújo RP, Almeida AAF, Pereira LS, Mangabeira PAO, Souza JO, Pirovani CP, Ahnert D, Baligar VC (2017): Photosynthetic, antioxidative, molecular and ultrastructural responses of young cacao plants to Cd toxicity in the soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 144, 148-157
- Benáková M, Ahmadi H, Dučaiová Z, Tylová E, Clemens S, Tůma J (2017): Effects of Cd and Zn on physiological and anatomical properties of hydroponically grown *Brassica napus* plants. *Environmental Science and Pollution Research* 24, 20705-20716
- Cabral CEA, Pesqueira-Silva LCR, Barros LV, Neto AB, Abreu JG, Cabral CHA, Silva FG, Galati RL, Fiori AMR, Silva CA (2017): Defoliation height and potassium fertilization of Mulato II grass. *Semina Ciências Agrárias* 38, 2719-2726
- Carvalho CAB, Silva SC, Sbrissia AF, Pinto LFM, Carnevalli RA, Fagundes JL, Pedreira CGS (2000): Demografia do perfilhamento e taxas de acúmulo de matéria seca em capim 'tifton 85' sob pastejo. *Scientia Agrícola* 57, 591-600
- Chen X, Wang J, Shi Y, Zhao MQ, Chi GY (2011): Effects of cadmium on growth and photosynthetic activities in pakchoi and mustard. *Botanical Studies* 52, 41-46
- Consolmagno Neto D, Monteiro FA, Dechen AR (2007): Características produtivas do capim-tanzânia cultivado com combinações de potássio e de magnésio. *Acta Scientiarum Agronomy* 29, 459-467
- Coutinho ELM, Franco HCJ, Orioli V, Pasquetto JVG, Pereira LS (2014): Liming and potassium fertilization for Tifton 85 grass. *Bioscience Journal* 30, 101-111
- Crestana S, Guimarães MF, Jorge LAC, Ralisch R, Tozzi CL, Torre-Neto A, Vaz CMP (1994): Avaliação da distribuição de raízes no solo auxiliada por processamento de imagens digitais. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 18, 365-371

- Daud MK, Mei L, Azizullah A, Dawood M, Ali I, Mahmood Q, Ullah W, Jamil M, Zhu SJ (2016): Leaf-based physiological, metabolic, and ultrastructural changes in cultivated cotton cultivars under cadmium stress mediated by glutathione. *Environmental Science and Pollution Research* 23, 15551-15564
- Fujimaki S, Suzui N, Ishioka NS, Kawachi N, Ito S, Chino M, Nakamura S (2010): Tracing cadmium from culture to spikelet: noninvasive imaging and quantitative characterization of absorption, transport, and accumulation of cadmium in an intact rice plant. *Plant Physiology* 152, 1796-1806
- Gilabel AP, Nogueirol RC, Garbo AI, Monteiro FA (2014): The role of sulfur in increasing guinea grass tolerance of copper phytotoxicity. *Water, Air, and Soil Pollution* 225, 1-10
- Gong X, Liu Y, Huang D, Zeng G, Liu S, Tang H, Zhou L, Hu X, Zhou Y, Tan X (2016): Effects of exogenous calcium and spermidine on cadmium stress moderation and metal accumulation in *Boehmeria nivea* (L.) Gaudich. *Environmental Science and Pollution Research* 23, 8699-8708
- Gratão PL, Prasad MNV, Cardoso PF, Lea PJ, Azevedo RA (2005): Phytoremediation: green technology for the clean up of toxic metals in the environment. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17, 53-64
- He SY, He ZL, Yang XE, Stoffella PJ, Baligar VC (2015): Soil biogeochemistry, plant physiology, and phytoremediation of cadmium-contaminated soils. *Advances in Agronomy* 134, 135-225
- Hoagland D, Arnon DI (1950): The water culture method for growing plants without soil. California Agriculture Experimental Station, Berkeley, 32 pp
- Jiao WT, Chen WP, Chang AC, Page AL (2012): Environmental risks of trace elements associated with long-term phosphate fertilizers applications: a review. *Environmental Pollution* 168, 44-53
- Kabata-Pendias A (2010): Trace elements of group 12 - II cadmium. In: Kabata-Pendias A (Editor), Trace elements in soils and plants. CRC Press - Taylor and Francis Group, Boca Raton, pp. 287-301
- Kabir AH, Hossain MM, Khatun MA, Mandal A, Haider SA (2016): Role of silicon counteracting cadmium toxicity in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Frontiers in Plant Science* 7, 1-12
- Kumari N, Parmar P, Sharma V (2015): Differential gene expression in two contrasting wheat cultivars under cadmium stress. *Biologia Plantarum* 59, 701-707
- Kupper H, Kupper FC, Spiller M (1996): Environmental relevance of heavy metal-substituted chlorophylls using the example of water plants. *Journal of Experimental Botany* 47, 259-266
- Langer R (1979): How grasses grow. Edward Arnold Ltd, London, 66 pp

- Lavres Júnior J, Monteiro FA (2003): Tillering, leaf area and mombaçagrass root system in response to nitrogen and potassium combinations. *Revista Brasileira de Zootecnia* 32, 1068-1075
- Liang J, Feng CT, Zeng GM, Zhong MZ, Gao X, Li XD, He XY, Li X, Fang YL, Mo D (2017): Atmospheric deposition of mercury and cadmium impacts on topsoil in a typical coal mine city, Lianyuan, China. *Chemosphere* 189, 198-205
- Littell RC, Henry PR, Ammerman CB (1998): Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *Journal of Animal Science* 76, 1216-1231
- Liu BL, Ai SW, Zhang WY, Huang DJ, Zhang YM (2017): Assessment of the bioavailability, bioaccessibility and transfer of heavy metals in the soil-grain-human systems near a mining and smelting area in NW China. *Science of the Total Environment* 609, 822-829
- Liu D, Jiang W, Gao X (2003): Effects of cadmium on root growth, cell division and nucleoli in root tip cells of garlic. *Biologia Plantarum* 47, 79-83
- Luo K, Ma T, Liu H, Ren J, Nai F, Li R, Chen L, Luo Y, Christie P (2015): Efficiency of repeated phytoextraction of cadmium and zinc from an agricultural soil contaminated with sewage sludge. *Internacional Journal of Phytoremediation* 17, 575-582
- Maestri E, Marmioli M, Visioli G, Marmioli N (2010): Metal tolerance and hyperaccumulation: costs and trade-offs between traits and environment. *Environmental and Experimental Botany* 68, 1-13
- Marschner P (2012): Marschner's mineral nutrition of higher plants. Academic Press, London, 651 pp
- Martins LL, Mourato MP, Cardoso AI, Pinto AP, Mota AM, Maria ML, Varennes A (2011): Oxidative stress induced by cadmium in *Nicotiana tabacum* L.: effects on growth parameters, oxidative damage and antioxidant responses in different plant parts. *Acta Physiologiae Plantarum* 33, 1375-1383
- Matraszek R, Hawrylak-Nowak B, Chwil S, Chwil M (2016): Macroelemental composition of cadmium stressed lettuce plants grown under conditions of intensive sulphur nutrition. *Journal of Environmental Management* 180, 24-34
- Mattos WT, Santos AR, Almeida AAS, Carreiro BDC, Monteiro FA (2002): Aspectos produtivos e diagnose nutricional do capim-Tanzânia submetido a doses de potássio. *Magistra* 14, 37-44
- Megda MM, Monteiro FA (2010): Nitrogen and potassium supply and the morphogenic and productive characteristics of marandu palisadegrass. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39, 1666-1675
- Mengel K, Kirkby EA (2001): Principles of plant nutrition. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 849 pp

- Mishra B, Sangwan RS, Mishra S, Jadaun JS, Sabir F, Sangwan NS (2014): Effect of cadmium stress on inductive enzymatic and nonenzymatic responses of ROS and sugar metabolism in multiple shoot cultures of Ashwagandha (*Withania somnifera* Dunal). *Protoplasma* 251, 1031-1045
- Monteiro FA, Consolmagno Neto D (2008): Tanzania guineagrass root system as related to potassium and magnesium fertilization. *Revista Brasileira de Zootecnia* 37, 810-818
- Monteiro FA, Nogueirol RC, Melo LCA, Artur AG, Rocha F (2011): Effect of barium on growth and macronutrient nutrition in tanzania guineagrass grown in nutrient solution. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 42, 1510-1521
- Mwamba TM, Ali S, Ali B, Lwalaba JL, Liu H, Farooq MA, Shou J, Zhou W (2016): Interactive effects of cadmium and copper on metal accumulation, oxidative stress, and mineral composition in *Brassica napus*. *International Journal of Environmental Science and Technology* 13, 2163-2174
- Nahar K, Hasanuzzaman M, Alam MM, Rahman A, Suzuki T, Fujita M (2016): Polyamine and nitric oxide crosstalk: antagonistic effects on cadmium toxicity in mung bean plants through upregulating the metal detoxification, antioxidant defense and methylglyoxal detoxification systems. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 126, 245-255
- Nascimento SS, Silva EB, Alleoni LRF, Graziotti PH, Fonseca FG, Nardis BO (2014): Availability and accumulation of lead for forage grasses in contaminated soil. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 14, 783-802
- Nazar R, Iqbal N, Masood A, Khan MIR, Syeed S, Khan NA (2012): Cadmium toxicity in plants and role of mineral nutrients in its alleviation. *American Journal of Plant Sciences* 03, 1476-1489
- Nedjimi B, Daoud Y (2009): Cadmium accumulation in *Atriplex halimus* subsp. *schweinfurthii* and its influence on growth, proline, root hydraulic conductivity and nutrient uptake. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 204, 316-324
- Oosterhuis DM, Loka DA, Raper TB (2013): Potassium and stress alleviation: physiological functions and management of cotton. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 176, 331-343
- Oosterhuis DM, Loka DA, Kawakami EM, Pettigrew WT (2014): The physiology of potassium in crop production. In: Sparks DL (Editor), *Advances in Agronomy*. Elsevier Academic Press Inc, San Diego, pp. 203-233
- Padmaja K, Prasad DDK, Prasad ARK (1990): Inhibition of chlorophyll synthesis in *Phaseolus vulgaris* L. seedlings by cadmium acetate. *Photosynthetica* 24, 399-405
- Per TS, Khan NA, Masood A, Fatma M (2016): Methyl jasmonate alleviates cadmium-induced photosynthetic damages through increased S-assimilation and glutathione production in mustard. *Frontiers in Plant Science* 7, 1-13

- Qadir S, Jamshieed S, Rasool S, Ashraf M, Akram NA, Ahmad P (2014): Modulation of plant growth and metabolism in cadmium-enriched environments. In: Whitacre DM (Editor), Reviews of environmental contamination and toxicology. Springer, New York, pp. 51-88
- Rabêlo FHS, Borgo L (2016): Changes caused by heavy metals in micronutrient content and antioxidant system of forage grasses used for phytoremediation: an overview. *Ciência Rural* 46, 1368-1375
- Rabêlo FHS, Azevedo RA, Monteiro FA (2017): Proper supply of S increases GSH synthesis in the establishment and reduces tiller mortality during the regrowth of Tanzania guinea grass used for Cd phytoextraction. *Journal of Soils and Sediments* 17, 1427-1436
- Rahman A, Nahar K, Hasanuzzaman M, Fujita M (2016): Manganese-induced cadmium stress tolerance in rice seedlings: coordinated action of antioxidant defense, glyoxalase system and nutrient homeostasis. *Comptes Rendus - Biologies* 339, 462-474
- Rascio N, Navari-Izzo F (2011): Heavy metal hyperaccumulating plants: how and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Science* 180, 169-181
- Saifullah, Sarwar N, Bibi S, Ahmad M, Ok YS (2014): Effectiveness of zinc application to minimize cadmium toxicity and accumulation in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Environmental Earth Sciences* 71, 1663-1672
- Santos AR 1997: Diagnose nutricional e respostas do capim-braquiária submetido a doses de nitrogênio e enxofre. (Doutorado em Agronomia, área de concentração: Solos e Nutrição de Plantas) Tese, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 115 pp
- Sarruge J, Haag H (1974): Análises químicas em plantas. ESALQ, Piracicaba, 56 pp
- Sarwar N, Saifullah, Malhi SS, Zia MH, Naeem A, Bibia S, Farida G (2010): Role of mineral nutrition in minimizing cadmium accumulation by plants. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90, 925-937
- SAS-Institute (2011): SAS user's guide 9.3. SAS:Institute, Carry, 644 pp
- Shamsi IH, Jiang L, Wei K, Jilani G, Hua S, Zhang G-P (2010): Alleviation of cadmium toxicity in soybean by potassium supplementation. *Journal of Plant Nutrition* 33, 1926-1938
- Sharma SS, Dietz KJ, Mimura T (2016): Vacuolar compartmentalization as indispensable component of heavy metal detoxification in plants. *Plant Cell and Environment* 39, 1112-1126
- Siddiqui MH, Al-Whaibi MH, Sakran AM, Basalah MO, Ali HM (2012): Effect of calcium and potassium on antioxidant system of *Vicia faba* L. under cadmium stress. *International Journal of Molecular Sciences* 13, 6604-6619

- Souza Júnior JC, Nogueirol RC, Monteiro FA (2018): $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ratios affect nutritional homeostasis and production of Tanzania guinea grass under Cu toxicity. *Environmental Science and Pollution Research* 25, 14083-14096
- Souza LA, Piotto FA, Nogueirol RC, Azevedo RA (2013): Use of non-hyperaccumulator plant species for the phytoextraction of heavy metals using chelating agents. *Scientia Agricola* 70, 290-295
- Taiz L, Zeiger E, Moller I, Murphy A (2017): *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. Artmed, Porto Alegre, 888 pp
- Vanassche F, Clijsters H (1990): Effects of metals on enzyme-activity in plants. *Plant Cell and Environment* 13, 195-206
- Wang Q, Liang X, Dong Y, Xu L, Zhang X, Hou J, Fan Z (2013): Effects of exogenous nitric oxide on cadmium toxicity, element contents and antioxidative system in perennial ryegrass. *Plant Growth Regulation* 69, 11-20
- Wang XK, Shi M, Hao PF, Zheng WT, Cao FB (2017a): Alleviation of cadmium toxicity by potassium supplementation involves various physiological and biochemical features in *Nicotiana tabacum* L. *Acta Physiologiae Plantarum* 39, 1-11
- Wang Z, Li Q, Wu W, Guo J, Yang Y (2017b): Cadmium stress tolerance in wheat seedlings induced by ascorbic acid was mediated by NO signaling pathways. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 135, 75-81
- Werner JC, Paulino VT, Cantarella H, Andrade NO, Quaggio JA (1996): Forrageiras. In: Raij Bv, Cantarella H, Quaggio JA, Furlani AMC (Editors), *Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo*. Instituto Agrônomo de Campinas, Fundação IAC., Campinas, pp. 263-273
- Wu CF, Luo YM, Deng SP, Teng Y, Song J (2014): Spatial characteristics of cadmium in topsoils in a typical e-waste recycling area in southeast China and its potential threat to shallow groundwater. *Science of the Total Environment* 472, 556-561
- Wu Z, Liu S, Zhao J, Wang F, Du Y, Zou S, Li H, Wen D, Huang Y (2017): Comparative responses to silicon and selenium in relation to antioxidant enzyme system and the glutathione-ascorbate cycle in flowering chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *utilis*) under cadmium stress. *Environmental and Experimental Botany* 133, 1-11
- Yu L, Gao R, Qinghua S, Wang X, Wei M, Yang F (2013): Exogenous application of sodium nitroprusside alleviated cadmium induced chlorosis, photosynthesis inhibition and oxidative stress in cucumber. *Pakistan Journal of Botany* 45, 813-819
- Zaheer MM, Yasin NA, Ahmad SR, Khan WU, Ahmad A, Ali A, Rehman SU (2018): Amelioration of cadmium stress in gladiolus (*Gladiolus grandiflora* L.) by application of potassium and silicon. *Journal of Plant Nutrition* 41, 461-476

- Zemanova V, Pavlik M, Pavlikova D, Kyjakova P (2015): Changes in the contents of amino acids and the profile of fatty acids in response to cadmium contamination in spinach. *Plant Soil and Environment* 61, 285-290
- Zhang XF, Xia HP, Li ZA, Zhuang P, Gao B (2010): Potential of four forage grasses in remediation of Cd and Zn contaminated soils. *Bioresource Technology* 101, 2063-2066
- Zhang XF, Gao B, Xia HP (2014): Effect of cadmium on growth, photosynthesis, mineral nutrition and metal accumulation of bana grass and vetiver grass. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 106, 102-108
- Zhuang P, McBride MB (2013): Changes during a century in trace element and macronutrient concentrations of an agricultural soil. *Soil Science* 178, 105-108
- Zoghlami RI, Hamdi H, Boudabbous K, Hechmi S, Khelil MN, Jedidi N (2018): Seasonal toxicity variation in light-textured soil amended with urban sewage sludge: interaction effect on cadmium, nickel, and phytotoxicity. *Environmental Science and Pollution Research* 25, 3608-3615
- Zouari M, Ben Ahmed C, Elloumi N, Bellassoued K, Delmail D, Labrousse P, Ben Abdallah F, Ben Rouina B (2016a): 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 and Environmental Safety* 128, 195-205
- Zouari M, Elloumi N, Ahmed CB, Delmail D, Rouina BB, Abdallah FB, Labrousse P (2016b): Exogenous proline enhances growth, mineral uptake, antioxidant defense, and reduces cadmium-induced oxidative damage in young date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Ecological Engineering* 86, 202-209

4. POTÁSSIO REDUZ O ESTRESSE OXIDATIVO NO CAPIM TANZÂNIA EXPOSTO AO CÁDMIO

RESUMO

A toxidez por cádmio (Cd) causa estresse oxidativo, interferindo na fotossíntese e no metabolismo das plantas. O potássio (K) atua em processos fisiológicos e bioquímicos que podem atenuar a toxidez por metais pesados, inclusive do Cd. Objetivou-se avaliar o efeito do K na fotossíntese e na alteração do sistema antioxidante para amenizar o estresse oxidativo induzido pelo Cd no capim tanzânia (*Panicum maximum* cv. Tanzânia) e assim, aumentar seu potencial de fitoextração desse metal. As plantas foram cultivadas em casa de vegetação, em delineamento de blocos completos ao acaso, em esquema fatorial 3x4, com três doses de K (0,4; 6,0 e 11,6 mmol L⁻¹) combinadas com quatro doses de Cd (0,0; 0,5; 1,0 e 1,5 mmol L⁻¹) fornecidas em solução nutritiva, com três repetições. Foram avaliados dois períodos de crescimento de plantas, sendo o primeiro corte aos 35 dias após o transplantio das mudas e o segundo aos 27 dias após o primeiro. Durante o segundo crescimento não foi adicionado Cd na solução nutritiva. As taxas de assimilação de CO₂ e de transpiração, a condutância estomática, a eficiência quântica do fotossistema II e a taxa de transporte de elétrons foram incrementadas com o aumento das doses de Cd até 0,8 mmol L⁻¹, no segundo crescimento do capim. O fornecimento de mais K aumentou os valores desses parâmetros fotossintéticos em plantas expostas às doses intermediárias de Cd (0,5 a 1,0 mmol L⁻¹). A mais alta disponibilidade de Cd na solução resultou em mais elevadas concentrações de H₂O₂, MDA e de prolina na parte aérea do capim. O aumento do fornecimento de K proporcionou mais baixas concentrações de MDA em plantas expostas ao Cd. As atividades das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), guaiacol peroxidase (GPX), ascorbato peroxidase (APX) e glutatona redutase (GR) foram mais baixas em condições de altas doses de Cd, entretanto, o fornecimento de mais K incrementou a atividade dessas enzimas. O K proporcionou mais altas concentrações de espermidina (SPD) e espermina (SPM) em plantas sob efeito tóxico do Cd. Portanto, o K reduz o estresse oxidativo induzido pelo Cd no capim tanzânia por meio do aumento das atividades das enzimas antioxidantes e da concentração de poliaminas, o que aumenta a tolerância do capim tanzânia ao Cd, favorecendo sua capacidade de fitoextração desse metal.

Palavras-chave: Enzima antioxidante; Fitoextração; Fotossíntese; Poliaminas

ABSTRACT

Cadmium (Cd) toxicity causes oxidative stress, interfering with photosynthesis and plant metabolism. Potassium (K) acts in physiological and biochemical processes that can attenuate toxicity by heavy metals, including Cd. The aim of this study was to evaluate the effect of K on photosynthesis and on the changes in the antioxidant system to alleviate the oxidative stress induced by Cd in tanzania guinea grass (*Panicum maximum* cv. Tanzania) and, thus increase phytoextraction potential of this metal. Plants were grown in a greenhouse, in a randomized complete block design, using 3x4 factorial, with three replicates. Three rates of K (0.4, 6.0 and 11.6 mmol L⁻¹) were combined with four rates of Cd (0.0, 0.5, 1.0 and 1.5 mmol L⁻¹) in the nutrient solution. Two plant growth periods were evaluated, and the first harvest was done at 35 days after seedlings transplanting and the second at 27 days after the first. In the second growth, Cd was not added to the nutrient solution. The CO₂ assimilation and transpiration rates, stomatal conductance, quantum efficiency of photosystem II and the electron transport rate increased with increasing rates of Cd up to 0.8 mmol L⁻¹, in the second growth of guinea grass. The increased K supply increased the values of these photosynthetic parameters in plants exposed to intermediate rates of Cd (0.5 to 1.0 mmol L⁻¹). The higher availability of Cd in the solution resulted in

high H_2O_2 , MDA and proline concentrations in shoots of the grass. The activity of the antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), guaiacol peroxidase (GPX), ascorbate peroxidase (APX) and glutathione reductase (GR) were low in conditions of high rates of Cd, however, the high K supply increased the activity of these enzymes. High K supply resulted in high spermidine (SPD) and spermine (SPM) concentrations in plants under toxic effect of Cd. Therefore, K reduces the oxidative stress induced by Cd in tanzania guinea grass by increasing the activity of antioxidant enzymes and polyamines concentrations, which increases the tolerance of this grass to Cd, favoring the phytoextraction capacity of this metal.

Keywords: Antioxidant enzyme; Photosynthesis; Phytoextraction; Polyamines

4.1. Introdução

O cádmio (Cd) é um poluente ambiental altamente tóxico, que tem alta mobilidade no sistema solo-planta e causa impactos negativos nas plantas e nos animais (Kabata-Pendias 2010; Nazar et al. 2012). É um metal relativamente raro na natureza, entretanto sua concentração no ambiente tem aumentado nas décadas recentes em decorrência da intensificação das atividades antrópicas, principalmente de indústria e mineração, mas também agrícola (He et al. 2015).

O acúmulo de Cd em plantas pode resultar em severos danos fisiológicos, bioquímicos e estruturais (Araújo et al. 2017). Um dos principais efeitos da toxidez por Cd é o estresse oxidativo, originado a partir desbalanço entre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a capacidade de desintoxicação do sistema antioxidante da planta, o que resulta em excesso de EROs (radical superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila ($OH^\cdot$)). As EROs interferem no potencial redox das células, o que resulta em danos em proteínas, ácidos nucleicos e nas membranas lipídicas (peroxidação lipídica), que podem conduzir a célula à morte (Demidchik 2015). Esse metal provoca redução na taxa fotossintética, pois interfere nas trocas gasosas, induz alterações na estrutura dos cloroplastos, além de inibir enzimas envolvidas na fixação do CO_2 (Daud et al. 2016; Per et al. 2016; Zouari et al. 2016b).

Para se proteger dos danos oxidativos induzidos pelas EROs, as plantas possuem um sistema de defesa antioxidante, composto por diversas enzimas, tais como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), guaiacol peroxidase (GPX), ascorbato peroxidase (APX) e glutathione reductase (GR), além de compostos não-enzimáticos como a prolina. Esses antioxidantes têm a função de eliminar as EROs, transformando-as em compostos não tóxicos e representam importante mecanismo

de defesa para plantas crescidas em ambientes contaminados com metais pesados (Domínguez et al. 2010; Namdjayan et al. 2011; Zhang et al. 2014a).

O aumento de áreas contaminadas com metais tóxicos tem gerado crescente preocupação ambiental (Pereira et al. 2017). Em razão da toxicidade do Cd, há necessidade de reduzir a concentração deste metal no ambiente, o que pode ser feito de maneira mais sustentável e menos onerosa por meio da fitoextração. Nesta técnica, o contaminante é absorvido pelas raízes e transportado para a parte aérea da planta, tornando possível sua remoção do solo por meio de cortes das plantas (Souza et al. 2013; Zhang et al. 2010).

Nos anos recentes, o capim tanzânia tem sido estudado sob condições de fitotoxicidade e em recuperação de áreas contaminadas por metais pesados (Miranda et al. 2012; Nascimento et al. 2014; Rabêlo et al. 2017; Silva et al. 2016). Esse capim apresenta potencial para fitoextração de metais, pois apresenta rápido crescimento, alta produção de biomassa e permite cortes sucessivos durante anos (Gilabel et al. 2014; Monteiro et al. 2011b). Entretanto, os efeitos tóxicos do Cd podem comprometer a produção de biomassa e até mesmo a sobrevivência do capim (Rabêlo et al. 2017).

A otimização do manejo nutricional interfere positivamente na capacidade de tolerância das plantas expostas aos metais pesados, inclusive do capim tanzânia, pois incrementa a produção de biomassa e consequentemente a eficiência da fitoextração de Cd (Gilabel et al. 2014; Nazar et al. 2012; Rabêlo et al. 2017). O K é um macronutriente que atua em processos fisiológicos e bioquímicos que atenuam a severidade da toxidez por metais pesados, ao promover o aumento da taxa fotossintética e o incremento da atividade de enzimas antioxidantes (Song et al. 2015; Umar et al. 2013; Zaheer et al. 2018). Ahmad et al. (2016b) relataram que o fornecimento de K para plantas de grão de bico (*Cicer arietinum*) expostas ao Cd proporcionou mais baixo conteúdo de H₂O₂ e MDA devido a mais elevada atividade de enzimas antioxidantes (SOD, CAT, APX e GR).

O metabolismo do K também está relacionado ao conteúdo de compostos nitrogenados orgânicos de baixo peso molecular, como as poliaminas putrescina (PUT), espermidina (SPD) e espermina (SPM) (Santos et al. 2017). As poliaminas aumentam a tolerância das plantas aos estresses abióticos, incluindo a toxidez por Cd (Gong et al. 2016; Rady e Hemida 2015), atuando principalmente, como moléculas sinalizadoras do estresse que ativam o sistema antioxidante das plantas, além de estabilizar membranas lipídicas (Anjum et al. 2015a; Kebert et al. 2017). Existe uma

lacuna no conhecimento quanto à relação entre o suprimento de K e o efeito tóxico do Cd no que diz respeito aos acúmulos de poliaminas nos vegetais e, particularmente, nas gramíneas forrageiras tropicais.

Objetivou-se avaliar o efeito do K na fotossíntese e na alteração do sistema antioxidante para amenizar o estresse oxidativo induzido pelo Cd no capim tanzânia e assim, possibilitar o aumento do potencial dessa gramínea para a fitoextração desse metal.

4.2. Material e Métodos

4.2.1. Condições experimentais

O capim tanzânia foi cultivado em solução nutritiva em vasos plásticos com capacidade de 3,6 L contendo quartzo moído como substrato. Os vasos foram dispostos em casa de vegetação (latitude 22°42'30" S e longitude 47°38'00" W). O experimento foi conduzido com delineamento experimental em blocos completos ao acaso, em esquema fatorial 3 x 4, sendo três doses de K (0,4; 6,0 e 11,6 mmol L⁻¹) e quatro doses de Cd (0,0; 0,5; 1,0 e 1,5 mmol L⁻¹), com três repetições. As soluções nutritivas foram preparadas a partir da solução de Hoagland e Arnon (1950), adaptadas para atender as doses de K e Cd e forneceram os nutrientes nas doses: N = 15 mmol L⁻¹, P = 1 mmol L⁻¹, K = 0,4; 6,0 ou 11,6 mmol L⁻¹, Ca = 5 mmol L⁻¹, Mg = 2,0 mmol L⁻¹, S = 2,0 mmol L⁻¹, B = 46 µmol L⁻¹, Zn = 0,7 µmol L⁻¹, Cu = 0,3 µmol L⁻¹, Mn = 9 µmol L⁻¹, Mo = 0,1 µmol L⁻¹ e Fe = 90 µmol L⁻¹. As doses de K e Cd aplicadas em solução nutritiva foram estabelecidas com base nos estudos anteriores de Monteiro e Consolmagno Neto (2008) e Rabêlo et al. (2017), respectivamente.

As sementes do capim foram germinadas em areia lavada com água desionizada para obtenção das mudas. Quando essas mudas apresentaram duas folhas expandidas foram transplantadas em número de quinze para cada vaso e foi aplicada a solução nutritiva de Hoagland e Arnon, modificada para atender a dose de K de 0,4 mmol L⁻¹ e sem Cd e foi diluída a 20% da força iônica, a fim de se obter boa adaptação das mudas. Sete dias após o transplante, foi aplicada solução com 100% da força iônica, modificada para atender as doses de K (0,4; 6,0 e 11,6 mmol L⁻¹) e sem Cd. A solução nutritiva foi renovada a cada 14 dias.

Durante o período de adaptação das mudas (15 dias após transplântio) foram realizados desbastes de modo a permanecerem somente cinco plantas por vaso. Nesse período, a solução nutritiva foi circulada seis vezes ao dia, reduzindo o número de circulações gradativamente no decorrer dos dias, fixando em três vezes no vigésimo dia de crescimento. A solução foi drenada do vaso à noite e o volume de 1,5 L foi completado pela manhã com água desionizada, para repor a quantidade evapotranspirada diariamente.

Aos 30 dias de crescimento das plantas (sete dias de adaptação das mudas na solução diluída a 20% da força iônica acrescidos de 23 dias de crescimento das plantas na solução contendo 100% da força iônica e adaptada para as doses de K) foram aplicadas as doses de Cd, com período de exposição ao metal de cinco dias, até o primeiro corte.

As plantas foram cultivadas em dois períodos de crescimento. O primeiro corte, definido pelos sintomas severos de toxidez, ocorreu aos 35 dias após o transplântio, deixando como resíduo de plantas 5 cm acima do nível do substrato. Após o primeiro corte, a solução nutritiva foi renovada. Durante o segundo crescimento, as doses de K foram mantidas, mas o Cd não foi reaplicado pois poderia comprometer a rebrotação do capim haja visto que, no primeiro crescimento, a toxidez induzida pelo metal foi severa nas mais altas doses de Cd. Portanto, a resposta ao Cd no segundo crescimento foi avaliada com base no efeito residual desse metal no substrato e nas raízes das plantas. O segundo corte foi realizado após 22 dias do primeiro, rente ao substrato.

Para as avaliações metabólicas, nos dois cortes, a parte aérea das plantas foi separada em lâminas de folhas recém expandidas (LR) e demais partes (colmos + bainhas + folhas maduras) (DP), e imediatamente foram acondicionadas em sacos de papel alumínio e congeladas em N líquido, no intuito de cessar reações metabólicas, e em seguida foram armazenadas em *freezer* a -80°C . Posteriormente, foram trituradas com o auxílio de moinho contendo recipiente adequado para utilização de N líquido.

4.2.2. Avaliações de trocas gasosas e de fluorescência

Ao final de cada período de crescimento (dia anterior do corte das plantas) foram avaliados os parâmetros de trocas gasosas como taxa de assimilação de CO_2

(A), taxa de transpiração (E), condutância estomática (gs), bem como parâmetros relacionados à emissão de fluorescência da clorofila, como a eficiência quântica efetiva do fotossistema II (yield) e a taxa de transporte de elétrons (ETR). Para realizar essas avaliações, as plantas foram levadas para câmara de crescimento, com 12 horas de antecedência, a fim de proporcionar condições ambientais constantes. As leituras foram realizadas no terço médio de duas lâminas de folhas recém expandidas utilizando o analisador de fotossíntese IRGA WALZ-GFS-3000, equipado com luz artificial (LEDarray) e fluorômetro PAM (Pulse Amplitude Modulated) integrado 3055FL. A fonte de luz artificial foi ajustada para fornecer densidade de fluxo de fótons fotossintéticos de $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A temperatura e o fluxo de CO_2 atmosférico dentro da câmara foliar foram mantidos constantes em 25°C e $380 \mu\text{mol mol}^{-1}$, respectivamente.

4.2.3. Determinação da peroxidação lipídica e da concentração de peróxido de hidrogênio

A peroxidação lipídica das membranas foi mensurada pela concentração de malondialdeído (MDA), pelo fato desse composto ser um dos produtos secundários da oxidação de lipídios, utilizando ácido 2-tiobarbitúrio (TBA) como material reativo (Heath e Packer 1968).

Amostras (0,2 g) de tecido vegetal fresco, congelado e moído foram homogeneizadas com 2 mL de ácido tricloroacético (TCA) 1 g L^{-1} em banho de gelo, e posteriormente, centrifugadas a 10000 rpm por 5 min, a 4°C . O sobrenadante foi utilizado para determinação das concentrações de MDA e H_2O_2 , segundo metodologia de Heath e Packer (1968) e Velikova et al. (2000), respectivamente.

Para determinação da concentração de MDA no tecido, retirou-se uma alíquota de 250 μL do sobrenadante e adicionou-se 1 mL do reagente TBA (5 g L^{-1} de TBA diluído em 200 g L^{-1} de TCA). A mistura foi incubada em banho seco, a 95°C , por 30 min. Para paralisar a reação, as amostras foram colocadas em banho de gelo por 10 min e, posteriormente, em temperatura ambiente por 15 min. As leituras das absorbâncias em espectrofotômetro foram realizadas nos comprimentos de onda de 535 e 600 nm. A concentração de MDA foi calculada utilizando o coeficiente de extinção molar de $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Para determinação da concentração de H_2O_2 , retirou-se uma alíquota de 200 μL do sobrenadante e adicionaram-se 200 μL de tampão fosfato 100 mmol L^{-1} (pH 7,5) e 800 μL de iodeto de potássio (1 mol L^{-1}). A mistura foi incubada em gelo e no escuro, por 60 min. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro, a 390 nm, e a concentração de peróxido de hidrogênio foi determinada com base numa curva padrão.

4.2.4. Extração e quantificação do conteúdo de proteína

A extração proteica necessária às análises enzimáticas foi realizada com base na metodologia de Monteiro et al. (2011a). As amostras com 1 g de tecido vegetal congeladas e moídas foram homogeneizadas com 3 ou 2 mL (parte aérea ou raízes, respectivamente) de solução tampão de fosfato de potássio 100 mmol L^{-1} (pH 7,5) contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 1 mmol L^{-1} e ditioneitol (DTT) 3 mmol L^{-1} . Adicionou-se polivinilpolipirrolidona (PVPP) e procedeu-se a maceração das amostras em almofariz, em banho de gelo. O extrato foi centrifugado a 10000 rpm por 30 min, a 4°C, o sobrenadante foi coletado e alíquotas foram armazenadas em *freezer* -80°C para realização das determinações de atividades enzimáticas. A quantificação de proteína foi realizada em conformidade com Bradford (1976), utilizando uma curva padrão preparada com albumina de soro bovino (BSA). Devido a quantidade insuficiente de material vegetal, não foi possível fazer a extração proteica das amostras de lâminas de folhas recém expandidas (LR), do segundo corte, correspondentes às combinações envolvendo a dose de Cd de 1,5 mmol L^{-1} .

4.2.5. Determinação da atividade de enzimas do sistema antioxidante (SOD, CAT, APX, GPX, GR)

Para determinar a atividade da superóxido dismutase (SOD) (EC 1.15.1.1), inicialmente utilizaram-se 60 μg de proteína por amostra para realizar a separação proteica por eletroforese empregando géis de poliacrilamida (PAGE) não desnaturante, conforme descrito por Azevedo et al. (1998). Aplicou-se uma corrente elétrica constante de 15 mA para cada placa pelo período de, aproximadamente, cinco horas. Após a separação proteica por eletroforese, os géis foram lavados com água

desionizada e incubados no escuro, por 30 min, sobre mesa agitadora numa solução tampão fosfato de potássio 100 mmol L⁻¹ (pH 7,8) contendo EDTA (1 mmol L⁻¹), NBT (0,1 mmol L⁻¹), N,N,N',N'-tetrametiletilenodiamina (TEMED) e riboflavina (0,05 g L⁻¹). Em seguida, os géis foram lavados com água desionizada e colocados sob luz fluorescente por 15 min até o aparecimento das bandas de SOD (acromáticas) em fundo de cor roxa/azul. Para paralisar a reação e fixar as bandas, os géis foram imersos em solução de ácido acético (70 g L⁻¹) por 15 min. A atividade da SOD foi determinada por sua habilidade em inibir a redução fotoquímica do cloreto de tetrazólio nitroazul (NBT). As bandas da SOD referentes a cada amostra foram comparadas qualitativamente com a banda de SOD bovina (padrão).

A atividade da catalase (CAT) (EC 1.11.1.6) foi determinada, a 25 °C, em meio de reação composto por 1 mL de solução tampão fosfato de potássio (100 mmol L⁻¹, pH 7,5) contendo H₂O₂ (300 g L⁻¹), preparada imediatamente antes do uso. A reação foi iniciada com a adição de uma alíquota de 25 µL do extrato proteico. A atividade dessa enzima foi determinada pela decomposição do H₂O₂, por 1 min, realizando-se leitura em espectrofotômetro a 240 nm (Monteiro et al. 2011a). Os cálculos foram efetuados a partir do coeficiente de extinção molar do H₂O₂ (39,4 M⁻¹ cm⁻¹).

Determinou-se a atividade da ascorbato peroxidase (APX) (1.11.1.11) por meio do monitoramento da oxidação do ascorbato, a 30°C (banho maria), por 1 min, de acordo com metodologia de Nakano e Asada (1981). Ao meio de reação composto por 860 µL de solução tampão fosfato de potássio (80 mmol L⁻¹, pH 7,0) contendo ácido ascórbico (5 mmol L⁻¹) e EDTA (1 mmol L⁻¹), adicionaram-se, no momento da leitura, 100 µL de H₂O₂ (1 mmol L⁻¹) e 40 µL do extrato proteico. A leitura foi realizada em espectrofotômetro, a 290 nm, e a atividade da APX foi calculada utilizando o coeficiente de extinção molar do ascorbato de 2,8 mM⁻¹ cm⁻¹.

O método descrito por Matsuno e Uritani (1972) foi empregado para determinar a atividade da guaiacol peroxidase (GPX) (EC. 1.11.1.7). Utilizou-se um meio de reação composto por 750 µL de tampão fosfato citrato pH 5,0 (fosfato de sódio dibásico (0,2 mmol L⁻¹) mais ácido cítrico (0,1 mmol L⁻¹)), 50 µL de guaiacol (5 g L⁻¹) e 50 µL de H₂O₂ (30 g L⁻¹). Foram adicionados 50 µL do extrato proteico, agitou-se no vórtex e incubou-se a 30 °C (banho maria) por 15 min. Para paralisar a reação, as amostras foram colocadas em banho de gelo, adicionando-se 50 µL de metabissulfito de sódio (0,1 mol L⁻¹), deixando-as no gelo por 10 min. As amostras

foram retiradas do gelo, agitadas em vórtex, deixadas em repouso por 10 min e, em seguida, realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 450 nm.

A determinação da atividade da glutathione redutase (GR) (EC 1.6.4.2) foi realizada segundo a metodologia de Smith et al. (1988) com adaptações por Azevedo et al. (1998). Preparou-se um meio de reação contendo 1000 μL de tampão fosfato de potássio (100 mmol L^{-1} , pH 7,5) e 500 μL de ácido 2-nitrobenzóico (DTNB 1 mmol L^{-1}) e colocou-se em banho maria, a 30°C . No momento da leitura, adicionaram-se 100 μL de nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzida (NADPH $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$), 100 μL de glutathione oxidada (GSSG 1 mmol L^{-1}) e 50 μL do extrato proteico para dar início à reação. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 412 nm, verificando a taxa de redução da GSSG pelo monitoramento do aumento da absorbância por 1 min.

4.2.6. Determinação da concentração de prolina

A concentração de prolina foi determinada por colorimetria, de acordo com metodologia de Bates et al. (1973). Amostras de 0,3 g de tecido vegetal congelado e triturado foram homogeneizadas com 10 mL de ácido sulfosalicílico (30 g L^{-1}), em banho de gelo. A mistura foi centrifugada a 10000 rpm, a 15°C , por 20 min. Foi colocado 1 mL do sobrenadante em tubo de ensaio e adicionado 1 mL de solução de ninidrina ácida e 1 mL de ácido acético glacial. Os tubos foram incubados em banho maria, a 100°C , por 60 min. Ao final deste período, colocaram-se os tubos em banho de gelo, por 10 min, para paralisar a reação. Foram adicionados 2 mL de tolueno em cada amostra e agitou-se em vórtex por 15 seg. Os tubos foram mantidos em repouso por 10 min para ocorrer a separação das fases. A fase orgânica (tolueno) foi coletada e colocada em cubetas de vidro para leitura da absorbância em espectrofotômetro a 520 nm. Os valores de concentração foram obtidos por meio de uma curva padrão de prolina.

4.2.7. Determinação da concentração de poliaminas

As concentrações das poliaminas putrescina (PUT), espermidina (SPD) e espermina (SPM) foram determinadas de acordo com método proposto por Flores e Galston (1982) e adaptado por Lima et al. (2008). Amostras (0,1 g para LR e 0,2 g

para DP e raízes) de tecido vegetal congeladas e trituradas foram homogeneizadas com 2 mL de ácido perclórico 50 mL L⁻¹, em banho de gelo, com posterior centrifugação em 10.000 rpm, a 4 °C, por 10 min. Procedeu-se a reação de dansilação, adicionando em um tubo de ensaio 200 µL do sobrenadante, 200 µL de carbonato de sódio saturado e 400 µL de cloreto de dansila (Cloreto de 5-[N,N-dimetilamino] naftaleno-1-sulfonila), diluído em acetona (5 mg mL⁻¹). Os tubos de ensaio foram vedados com parafilme e mantidos no escuro, em temperatura ambiente, por 16 horas. Então, adicionaram-se 100 µL de prolina (100 mg L⁻¹), vedou-se novamente e os tubos foram deixados em repouso por mais 30 min no escuro, à temperatura ambiente. Para extrair as poliaminas dansiladas foram adicionados 500 µL de tolueno, agitaram-se os tubos em vórtex e coletou-se a fase orgânica (extrato dansilado). As poliaminas foram separadas por cromatografia de camada delgada. Aplicaram-se 40 µL do extrato dansilado em placas cromatográficas de vidro (20 x 20 cm) recobertas por sílica gel 60G-Merck (250 µm de espessura) previamente ativadas a 160 °C por 90 min. Essas placas foram colocadas em cubas de vidro e a cromatografia foi desenvolvida utilizando clorofórmio:triethylamina (12:2 v/v) como fase móvel. A separação cromatográfica foi acompanhada por luz ultravioleta a 365 nm. Uma mistura contendo os três padrões das aminas (50 nmols de PUT e 25 nmols de SPD e SPM) foi processada paralelamente às amostras, sendo aplicados na placa 15 µL do extrato dansilado, que corresponde a 1,5 nmols de PUT e 0,75 nmol de SPD e de SPM.

Ao término da cromatografia, as placas foram secas em estufa de circulação de ar, a 50 °C, e em seguida, os compostos dansilados foram ativados com luz UV a 365 nm, e realizaram-se leituras da intensidade de fluorescência a 507 nm, no fotodocumentador UVP GelDoc-It Imaging System, utilizando o software *VisionWorksLS Acquisition and Analysis*. As poliaminas foram quantificadas por comparação com os padrões também aplicados nas placas, relacionando-se a intensidade de fluorescência dos padrões com as das amostras.

4.2.8. Análises estatísticas

Os resultados foram analisados estatisticamente utilizando o software “Statistical Analysis System” (SAS-Institute 2011). Inicialmente foi realizada a análise de variância, pelo procedimento GLM, e quando a interação doses de K x doses de

Cd foi significativa efetuou-se o estudo de regressão polinomial (superfície de resposta) pelo procedimento RSREG. Nos casos em que a interação doses de K x doses de Cd não foi significativa, foi realizado o estudo de regressão de primeiro e segundo graus para o efeito do Cd e comparação de médias pelo teste de Tukey para as doses de K. Foi adotado o nível de significância de 5% em todos os testes estatísticos. Para os resultados das análises enzimáticas, nas lâminas de folhas recém expandidas (LR), do segundo corte, foi considerado fatorial 3x3, pois o material vegetal obtido nas combinações envolvendo a maior dose de Cd ($1,5 \text{ mmol L}^{-1}$) não foi suficiente para fazer a extração proteica. Neste caso, tanto para as doses de K quanto para as doses de Cd, realizou-se a comparação de médias pelo teste de Tukey, quando não foi significativa a interação doses de K x doses de Cd.

4.3. Resultados

4.3.1. Trocas gasosas e fluorescência

As taxas de assimilação de CO_2 (A) e de transpiração (E) bem como a condutância estomática (g_s) nas lâminas foliares do capim tanzânia apresentaram significância para as doses de K e Cd, isoladamente, no primeiro crescimento (Figuras 13 A, B, D e E e 14 A e B). Os mais altos valores foram observados nas doses de K de $6,0$ e $11,6 \text{ mmol L}^{-1}$, cujos aumentos foram de três a quatro vezes para A e de duas a três vezes para E e g_s , em relação às condições de deficiência de K ($0,4 \text{ mmol L}^{-1}$) (Figuras 13 A, D e 14A). Para as doses de Cd, foram observados decréscimos lineares de 76, 55 e 58% para A , E e g_s do capim tanzânia, respectivamente, quando se compara a não aplicação de Cd na solução nutritiva com a mais alta dose desse metal ($1,5 \text{ mmol L}^{-1}$) (Figuras 13 B e E e 14B).

Figura 13. Taxa de assimilação de CO_2 e taxa de transpiração do capim tanzânia, no primeiro crescimento, em função das doses de K (A e D) e de Cd (B e E) e, no segundo crescimento, em função das combinações de doses de K com as de Cd (C e F)

No segundo crescimento, a interação doses de K $\times$ doses de Cd foi significativa para A, E e g_s (Figuras 13 C e F e 14 C). É possível observar que plantas cultivadas sob doses residuais baixas e intermediárias de Cd (até $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$) associadas com alta disponibilidade de K ($11,6 \text{ mmol L}^{-1}$) resultaram em maiores valores de A do que em condições de baixa disponibilidade de K ($0,4 \text{ mmol L}^{-1}$) (Figura

13C). É possível notar que as combinações envolvendo a mais baixa dose de K (0,4 mmol L⁻¹) não estão contempladas na faixa de mais altas taxas de assimilação de CO₂ (14 a 16 μmol m⁻² s⁻¹). Quando se consideram baixas doses residuais de Cd (0 a 0,5 mmol L⁻¹) associadas com alta disponibilidade de K (11,6 mmol L⁻¹) na solução nutritiva, os valores de *E* e *gs* foram mais altos do que em baixo suprimento de K (0,4 mmol L⁻¹). Entretanto, quando se aumentou a concentração de Cd residual na solução (mais alto que 0,5 mmol L⁻¹), as variações nos valores de *E* e *gs* não dependeram do suprimento de K (Figuras 13 F e 14 C).

Figura 14. Condutância estomática do capim tanzânia, no primeiro crescimento, em função das doses de K (A) e de Cd (B) e, no segundo crescimento, em função das combinações de doses de K com as de Cd (C)

Nos dois crescimentos do capim tanzânia, a eficiência quântica efetiva do fotossistema II (*yield*) e a taxa de transporte de elétrons (*ETR*) mostraram significância da interação doses de K × doses de Cd na solução nutritiva (Figura 15). No primeiro crescimento, os valores mínimos de *yield* e *ETR* foram verificados na baixa disponibilidade de K (0,4 mmol L⁻¹) combinada com alta disponibilidade de Cd (1,5

mmol L⁻¹). Nota-se que o aumento do suprimento de K em plantas expostas ao Cd proporcionou incrementos mais expressivos nos valores de yield e ETR no intervalo de doses de Cd de 0 a 1,0 mmol L⁻¹. Para as plantas crescidas em meio contendo Cd na dose de 0,5 mmol L⁻¹, a alta disponibilidade de K (11,6 mmol L⁻¹) proporcionou incremento de 35% nos valores de yield e ETR quando comparados à baixa disponibilidade de K (0,4 mmol L⁻¹) na solução nutritiva (Figuras 15 A e C). No segundo crescimento do capim, o aumento do fornecimento de K resultou em mais elevados valores de yield e ETR em plantas submetidas a baixas doses residuais de Cd (0 a 0,5 mmol L⁻¹) (Figuras 15 B e D).

Figura 15. Eficiência quântica efetiva do fotossistema II, no primeiro (A) e segundo crescimento (B) e taxa de transporte de elétrons do capim tanzânia, no primeiro (C) e segundo crescimento (D), em função das combinações de doses de K com as de Cd

4.3.2. Peroxidação lipídica e concentração de peróxido de hidrogênio

A interação doses de K x doses de Cd revelou significância para a peroxidação lipídica (concentração de MDA) nas lâminas de folhas recém expandidas (LR) no primeiro corte, e nas demais partes (DP) no segundo corte do capim tanzânia (Figuras 16 A e E). Tanto nas LR quanto nas DP, os mais altos valores de concentração de MDA foram encontrados em condições de alta disponibilidade de Cd ($1,5 \text{ mmol L}^{-1}$) e baixa disponibilidade de K ($0,4 \text{ mmol L}^{-1}$). O mais elevado fornecimento de K ($11,6 \text{ mmol L}^{-1}$) proporcionou redução de 26 e 36% nas concentrações de MDA das LR e DP, respectivamente, de plantas de capim tanzânia cultivadas em solução contendo alta dose de Cd ($1,5 \text{ mmol L}^{-1}$). Nas DP colhidas no primeiro corte, a concentração de MDA foi significativamente alterada pelas doses de K e de Cd, isoladamente (Figuras 16 B e C). O mais elevado valor de MDA foi observado em condições de deficiência de K ($0,4 \text{ mmol L}^{-1}$) (Figura 16B). O fornecimento de Cd promoveu aumento linear da concentração de MDA nas DP, verificando-se incremento de aproximadamente 35% ao comparar a dose de Cd de $1,5 \text{ mmol L}^{-1}$ com a não contaminação com esse metal (Figura 16C). As doses residuais de Cd aumentaram, de forma não proporcional a concentração de MDA nas LR do segundo corte (Figura 16D). Não houve significância para as doses de K e de Cd, nem da interação doses de K x doses de Cd para concentração de MDA nas raízes do capim tanzânia, a qual apresentou valor médio de $11,7 \text{ nmol g}^{-1}$ massa fresca.

As concentrações de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) nas LR, no primeiro corte, e nas DP, em ambos os cortes, do capim tanzânia variaram com as doses de Cd, de forma isolada (Figura 17). No primeiro corte, a mais alta dose de Cd ($1,5 \text{ mmol L}^{-1}$) proporcionou aumento de 37 e 25% na concentração de H_2O_2 , respectivamente, nas LR e DP, quando comparada com a não disponibilização de Cd no meio de cultivo (Figura 17 A e B). No segundo corte, a concentração de H_2O_2 nas DP foi aumentada, de forma não proporcional, à medida que se aumentou a dose de Cd residual na solução nutritiva (Figura 17B). As concentrações de H_2O_2 nas LR do segundo corte e nas raízes não apresentaram significância para os fatores estudados, apresentando valores médios de 3,0 e $1,2 \text{ nmol g}^{-1}$ massa fresca, respectivamente.

Figura 16. Peroxidação lipídica (MDA), no primeiro corte, nas lâminas de folhas recém expandidas (LR) do capim tanzânia, em função das combinações de doses de K com as de Cd (A) e nas demais partes (DP), em função das doses de K (B) e de Cd (C); e no segundo corte, nas LR, em função das doses de Cd (D) e nas DP, em função das combinações de doses de K com as de Cd (E)

Figura 17. Concentração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) nas lâminas de folhas recém expandidas (LR) do capim tanzânia, no primeiro corte (A), e nas demais partes (DP) no primeiro e segundo corte, em função das doses de Cd (B)

4.3.3. Atividade de enzimas do sistema antioxidante (SOD, CAT, APX, GPX e GR)

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) em PAGE, nas lâminas de folhas recém expandidas (LR) e nas demais partes (DP) do capim tanzânia, coletadas no primeiro corte, apresentou diferença nas intensidades das bandas em decorrência das doses de K e de Cd, especialmente na isoforma II (Figura 18). Nas LR, as isoformas I, II ou III mostraram maior intensidade para as plantas cultivadas em condições de deficiência de K ($0,4 \text{ mmol L}^{-1}$), e o aumento das doses de Cd, nessas condições, diminuiu essa intensidade. Assim, as combinações envolvendo as doses de Cd de $1,0$ e $1,5 \text{ mmol L}^{-1}$ resultaram em menor intensidade de bandas do que naquelas sem Cd e na dose de Cd de $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$. Esses resultados foram mais nítidos para a isoforma II. Para as plantas crescidas em doses de K de $6,0$ e $11,6 \text{ mmol L}^{-1}$ a isoforma III foi praticamente indetectável e as intensidades das bandas não variaram conforme a dose de Cd (Figura 18A). Nas DP, as diferenças de intensidades das bandas para as variadas combinações de K com Cd na solução nutritiva foram mais sutis do que nas LR, mas foi possível notar, especialmente por meio das isoformas II e III, que as bandas foram mais intensas com o mais baixo fornecimento de K ($0,4 \text{ mmol L}^{-1}$), da mesma forma que nas LR. Na dose de K de $11,6 \text{ mmol L}^{-1}$, o aumento da disponibilidade de Cd ocasionou aumento da atividade da SOD, verificada por meio do aumento da intensidade das bandas das isoformas I e II (Figura 18B).

Figura 18. Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) em géis de poliacrilamida (PAGE) não desnaturante, nas lâminas de folhas recém expandidas (LR) (A) e nas demais partes (DP) (B) do capim tanzânia, no primeiro corte, em função das combinações de doses de K com as de Cd. As setas indicam as isoformas identificadas em PAGE

No segundo corte, a atividade da SOD em PAGE, nas LR e DP do capim tanzânia, também mostraram diferenças nas intensidades das bandas conforme as doses de K e Cd (Figura 19). O fornecimento da dose de K de 11,6 mmol L⁻¹ às plantas, proporcionou maior intensidade das bandas (principalmente das isoformas II e III) nas LR, do que em condições de deficiência de K (0,4 mmol L⁻¹), especialmente quando estava presente a dose residual de Cd de 0,5 mmol L⁻¹ (Figura 19A). Nas DP, a dose de K de 11,6 mmol L⁻¹ também foi responsável pelas mais elevadas intensidades de bandas de SOD, nas três isoformas (sendo que a isoforma III só foi possível de ser detectada nesta condição). As mais altas disponibilidades de Cd residual (1,0 e 1,5 mmol L⁻¹) na solução nutritiva proporcionaram aumento na intensidade das bandas, principalmente da isoforma II, em plantas crescidas em meio contendo dose de K de 11,6 mmol L⁻¹ (Figura 19B).

Figura 19. Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) em géis de poliacrilamida (PAGE) não desnaturante, nas lâminas de folhas recém expandidas (LR) (A), nas demais partes (DP) (B) e nas raízes (C) do capim tanzânia, no segundo corte, em função das combinações de doses de K com as de Cd. As setas indicam as isoformas identificadas em PAGE

Nas raízes, verificou-se a presença apenas das isoformas I e II. As diferenças de intensidade das bandas de SOD entre as doses de K e Cd foram sutis e mais nítidas na isoforma II. Por meio dessa isoforma foi possível notar que apenas as raízes crescidas em meio contendo dose de K de 11,6 mmol L⁻¹ apresentaram bandas de SOD nítidas e não variáveis em intensidade para todas doses de Cd. Nas doses de K de 0,4 e 6,0 mmol L⁻¹, tanto a não aplicação quanto a mais alta dose residual de Cd (1,5 mmol L⁻¹) tornaram as bandas praticamente indetectáveis (Figura 19C).

Para as atividades da catalase (CAT) e da ascorbato peroxidase (APX) nas LR do capim tanzânia, no primeiro corte, foram verificadas significâncias das doses de K. O suprimento de K nas doses de 6,0 e 11,6 mmol L⁻¹, respectivamente, proporcionaram maiores atividades da CAT e da APX do que na dose de K de 0,4 mmol L⁻¹ (Figuras 20 A e 22 A). Não foram obtidos efeitos significativos das doses de K e de Cd para as atividades da CAT e APX nas DP e da guaiacol peroxidase (GPX) nas LR e DP do capim, as quais tiveram valores médios de 55,08 µmol min⁻¹ mg⁻¹ proteína, 54,65 nmol min⁻¹ mg⁻¹ proteína, 19,65 e 29,37 µmol min⁻¹ mg⁻¹ proteína, respectivamente.

No segundo corte, as atividades das enzimas CAT, APX e GPX nas LR do capim foram significativamente alteradas pelas doses de Cd. As mais baixas atividades dessas enzimas foram verificadas na mais alta dose de Cd residual (1,5 mmol L⁻¹), indicando que o aumento da disponibilidade desse metal compromete a atividade da CAT, APX e GPX (Figuras 20 B, 22 B e 21 A). Nas DP do capim tanzânia, para as atividades da CAT, APX e GPX foi verificada significância da interação doses de K × doses de Cd (Figuras 20 C, 22 C e 21 B). As mais baixas atividades dessas enzimas foram obtidas com baixa disponibilidade de K (0,4 mmol L⁻¹) e alta disponibilidade de Cd residual (1,5 mmol L⁻¹). Observou-se que para uma mesma dose de Cd, o aumento no fornecimento de K promoveu incremento na atividade da CAT, APX e GPX. Portanto, a disponibilização do Cd induziu diminuição das atividades dessas enzimas, mas o fornecimento de mais K, mesmo em condições de doses elevadas de Cd residual, favoreceu o aumento das atividades da CAT, APX e GPX.

Por outro lado, a atividade da APX nas raízes foi influenciada pelas doses de K, com mais alto valor verificado na condição de deficiência de K (0,4 mmol L⁻¹) (Figura 22D). Para as doses de Cd, as atividades da CAT e APX nas raízes aumentaram linearmente com o incremento da aplicação de Cd na solução nutritiva, em resposta contrária da verificada na parte aérea (Figuras 20 D e 22 E). A atividade da GPX nas

raízes não foi influenciada significativamente pelas doses de K e de Cd e apresentou valor médio de $160,15 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{ proteína}$.

Figura 20. Atividade da enzima catalase (CAT), no primeiro corte, nas lâminas de folhas recém expandidas (LR) do capim tanzânia, em função das doses de K (A); e no segundo corte, nas LR, em função das doses de Cd (B); e nas demais partes (DP), em função das combinações de doses de K com as de Cd (C); e nas raízes, em função das doses de Cd (D)

Figura 21. Atividade da enzima guaiacol peroxidase (GPX), no segundo corte, nas lâminas de folhas recém expandidas (LR) do capim tanzânia, em função das doses de Cd (A) e nas demais partes (DP), em função das combinações de doses de K com as de Cd (B)

Figura 22. Atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX), no primeiro corte, nas lâminas de folhas recém expandidas (LR) do capim tanzânia, em função das doses de K (A); e no segundo corte, nas LR, em função das doses de Cd (B); e nas demais partes (DP), em função das combinações de doses de K com as de Cd (C); e nas raízes, em função das doses de K (D) e de Cd (E)

Nas LR coletadas no primeiro corte do capim tanzânia, as doses de K e de Cd, de forma isolada, alteraram significativamente a atividade da enzima glutatona redutase (GR) (Figuras 23A e B). Assim como encontrado para a atividade da CAT, a mais alta atividade da GR foi verificada nas mais elevadas doses de K (6,0 e 11,6 mmol L⁻¹) (Figura 23A). Para as doses de Cd, os resultados ajustaram-se ao modelo de segundo grau, sendo que o fornecimento da dose de Cd de 0,66 mmol L⁻¹ resultou

na mais baixa atividade dessa enzima. Entretanto, doses de Cd superiores a 0,66 mmol L⁻¹ resultaram em aumento na atividade da GR (Figura 23B). Nas DP do capim tanzânia, no primeiro corte, para a atividade da GR foi detectada resposta significativa para as doses de K e verificou-se a mais alta atividade dessa enzima nas mais elevadas doses de K (6,0 e 11,6 mmol L⁻¹) (Figura 23C).

Figura 23. Atividade da enzima glutathione reductase (GR), no primeiro corte, nas lâminas de folhas recém expandidas (LR) do capim tanzânia, em função das doses de K (A) e de Cd (B) e nas demais partes (DP) em função das doses de K (C); e no segundo corte, nas LR, em função das doses de K (D) e de Cd (E) e nas DP, em função das combinações de doses de K com as de Cd (F)

No segundo corte do capim tanzânia, a atividade da GR nas LR do capim tanzânia aumentou com o incremento das doses de K, apresentando máxima atividade na dose de K de 11,6 mmol L⁻¹, e reduziu com o incremento das doses de Cd (Figuras 23 D e E). Nas DP do capim, a interação doses de K × doses de Cd foi significativa para a atividade da GR (Figura 23 F). A mínima atividade da GR foi encontrada na mais alta dose de Cd residual (1,5 mmol L⁻¹) associada ao mais baixo fornecimento de K (0,4 mmol L⁻¹). Foi possível notar que o aumento da disponibilidade de Cd reduz a atividade da GR, contudo o aumento do suprimento de K, aumenta a atividade dessa enzima. A atividade da GR nas raízes não foi alterada pelas doses de K e de Cd, apresentando valor médio de 3,51 µmol min⁻¹ mg⁻¹ proteína.

4.3.4. Concentração de prolina

Para a concentração de prolina nas lâminas de folhas recém expandidas (LR) coletadas no primeiro corte do capim tanzânia, a interação doses de K × doses de Cd foi significativa (Figura 24A). Verificou-se a máxima concentração de prolina nas condições de mais elevada disponibilidade de Cd (1,5 mmol L⁻¹) associada à mais baixa dose de K (0,4 mmol L⁻¹) na solução nutritiva. Portanto, a mais elevada concentração de prolina foi encontrada na situação de maior estresse evidenciado pela toxidez por Cd acompanhada da deficiência de K. Para uma mesma dose de Cd, o aumento do suprimento de K reduz a concentração de prolina na planta, indicando redução do estresse com o aumento do fornecimento de K na solução nutritiva. Nas demais partes (DP) do capim tanzânia verificou-se significância das doses de K e de Cd, isoladamente, na concentração de prolina (Figuras 24 B e E). A dose de K de 11,6 mmol L⁻¹ resultou em redução de 2,7 vezes na concentração de prolina, quando se comparou com a dose de K de 0,4 mmol L⁻¹ na solução nutritiva (Figura 24B). Para as doses de Cd, a concentração de prolina aumentou linearmente à medida em que se incrementou a disponibilidade de Cd na solução nutritiva (Figura 24E).

No segundo corte, a concentração de prolina nas LR do capim tanzânia aumentou linearmente com as doses de Cd, onde a presença de Cd residual na dose de 1,5 mmol L⁻¹ incrementou em 57,6% a concentração de prolina quando comparada à situação de não aplicação de Cd (Figura 24C). Nas DP do capim tanzânia, a dose mais alta de K proporcionou mais elevada concentração de prolina (Figura 24D). O aumento das doses de Cd também proporcionou incremento na concentração de

prolina, porém os resultados ajustaram-se ao modelo quadrático de regressão, onde o Cd residual na dose de 1,02 mmol L⁻¹ aumentou em mais de três vezes a concentração de prolina em relação às condições de não contaminação com esse metal (Figura 24E). A concentração de prolina nas raízes não foi alterada tanto pelas doses de K quanto pelas doses de Cd, apresentando valor médio de 0,28 µmol g⁻¹ massa fresca.

Figura 24. Concentração de prolina, no primeiro corte, nas lâminas de folhas recém expandidas (LR) do capim tanzânia, em função das combinações de doses de K com as de Cd (A), e nas demais partes (DP), em função das doses de K (B) e de Cd (D); e no segundo corte, nas LR em função das doses de Cd (C) e nas DP, em função das doses de K e de Cd (D e E)

4.3.5. Concentração de poliaminas

A concentração de putrescina nas lâminas de folhas recém expandidas (LR) e nas demais partes (DP) do capim tanzânia, no primeiro corte, mostrou significância para as doses de K (Tabela 4). As concentrações de putrescina foram mais elevadas nas plantas com deficiência de K ($0,4 \text{ mmol L}^{-1}$), as quais foram cerca de 40 e 34% mais elevadas, respectivamente, para LR e DP, do que nos casos com suprimento de 6,0 e $11,6 \text{ mmol L}^{-1}$ desse nutriente. No material colhido no segundo corte, para as concentrações de putrescina nas LR, DP e raízes do capim tanzânia foi obtida significância da interação doses de K x doses de Cd (Figura 25). Os mais altos valores de concentração de putrescina foram encontrados em condições de baixa disponibilidade de K ($0,4 \text{ mmol L}^{-1}$) associada à não disponibilização de Cd na solução nutritiva. Nota-se, portanto, que o aumento da quantidade de Cd residual na solução nutritiva proporcionou mais baixa concentração de putrescina nas plantas de capim tanzânia. Adicionalmente, o fornecimento de mais K resultou em mais baixa concentração de putrescina tanto em plantas que não foram expostas ao Cd quanto aquelas que cresceram em meio contendo Cd residual na dose de até $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$.

Para a concentração de espermidina nas DP, no primeiro corte, verificou-se significância das doses de K. Para a concentração de espermina, foram constatados efeitos significativos das doses de K nas LR e DP (Tabela 4). Verificaram-se maiores concentrações de espermidina nas DP e espermina nas LR e DP nas doses de K de 6,0 e $11,6 \text{ mmol L}^{-1}$ do que com o fornecimento de $0,4 \text{ mmol L}^{-1}$. No segundo corte da gramínea, observou-se significância da interação doses de K x doses de Cd para a concentração de espermidina e espermina nas LR e DP do capim tanzânia (Figuras 26 A e B e 27 A e B). Foi possível observar que plantas expostas a doses residuais de Cd apresentaram mais elevadas concentrações de espermidina e espermina, tanto nas LR quanto nas DP, quando foram crescidas em condições de alta disponibilidade de K ($11,6 \text{ mmol L}^{-1}$). Não se obteve efeito significativo das doses de K e de Cd para a concentração de espermidina nas LR do primeiro corte, e de espermidina e espermina nas raízes do capim tanzânia, cujas médias foram de 644,42, 362,78 e $303,96 \text{ nmols g}^{-1}$ massa fresca, respectivamente.

Tabela 4. Concentração de poliaminas nas amostras coletadas no primeiro corte do capim tanzânia, em função das doses de K

Doses de K (mmol L ⁻¹)	Putrescina		Espermidina	Espermina	
	nmol g ⁻¹ massa fresca				
	LR	DP	DP	LR	DP
0,4	2113,47 a	955,97 a	290,23 b	564,09 b	292,62 b
6,0	1277,87 b	647,75 b	333,72 a	660,56 a	329,53 a
11,6	1257,42 b	636,69 b	333,98 a	654,21 a	327,24 a

Médias seguidas de mesma letra, em cada coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%.

Figura 25. Concentração de putrescina, no segundo corte, nas lâminas de folhas recém expandidas (LR) (A), nas demais partes (DP) (B) e nas raízes (C) do capim tanzânia, em função das combinações de doses de K com as de Cd

Figura 26. Concentração de espermidina, no segundo corte, nas lâminas de folhas recém expandidas (LR) (A) e nas demais partes (DP) (B) do capim tanzânia, em função das combinações de doses de K com as de Cd

Figura 27. Concentração de espermina, no segundo corte, nas lâminas de folhas recém expandidas (LR) (A) e nas demais partes (DP) (B) do capim tanzânia, em função das combinações de doses de K com as de Cd

4.4. Discussão

A toxicidade da planta induzida pelo Cd interfere em diversos processos fisiológicos e bioquímicos, inibindo a fotossíntese e respiração e causando danos irreversíveis nas estruturas celulares em decorrência do estresse oxidativo ocasionado por esse metal (He et al. 2015).

No primeiro corte, o Cd afetou o aparato fotossintético do capim tanzânia causando danos severos, que proporcionaram menor taxa de transpiração (E), condutância estomática (g_s), eficiência efetiva do fotossistema II ($yield$) e taxa de transporte de elétrons (ETR), resultando assim, em mais baixa taxa de assimilação de

CO₂ (A) (fotossíntese líquida) (Figuras 13E, 14B, 15A, 15C, 13B). A redução da atividade fotossintética no capim tanzânia exposto a doses de Cd pode estar relacionada às limitações estomatais e não estomatais (Varone et al. 2012). Como comprovado nessa pesquisa, ocorreu decréscimo na taxa de transpiração e na condutância estomática do capim tanzânia sob estresse por Cd (Figuras 13E e 14B), possivelmente pelo fechamento dos estômatos, o que acarretou menor difusão de CO₂. As limitações não estomatais estão relacionadas com a alteração provocada pelo Cd na estrutura dos cloroplastos, na composição das membranas dos tilacóides (o que reduz o conteúdo de clorofila (Figura 12B)) e no transporte de elétrons na cadeia transportadora, proporcionando baixos valores de eficiência quântica efetiva do fotossistema II e de taxa de transporte de elétrons (Figuras 15 A e 15C), além do Cd reduzir a eficiência da Rubisco na fixação de carbono (Araújo et al. 2017; Daud et al. 2016; Pereira et al. 2017). Essas limitações não estomatais ocorrem, principalmente, porque em condições de toxidez por Cd, há acúmulo em excesso de espécies reativas de oxigênio (EROs) que promovem estresse oxidativo nos cloroplastos, uma das principais organelas onde as EROs são produzidas (Choudhury et al. 2017).

A eficiência quântica efetiva do fotossistema II (*yield*) é usada como indicador de estresse, pois ela avalia a integridade do fotossistema II (Ibrahim et al. 2015; Xue et al. 2013). Portanto, o mais baixo valor de *yield* verificado em condições de toxidez por Cd (Figura 15A) indica que houve mudança na estrutura das membranas dos tilacóides, proporcionando fotoinibição e dano no centro de reação do fotossistema II (Baker 2008). Além disso, os mais baixos valores de *yield* e de *ETR* mostram que a regeneração da ribulose-1,5-bisfosfato (RUBP), a qual necessita de adequado transporte de elétrons a partir do fotossistema II para o aceptor de elétrons, pode ter sido comprometida pela toxidez por Cd (Ibrahim et al. 2015). A inibição do transporte de elétrons aumenta a possibilidade de produção de EROs, resultando em danos às membranas (Sandalio et al. 2001).

No segundo crescimento do capim tanzânia, como não foi reaplicado Cd, as plantas rebrotaram em condições de toxidez menos severas com as doses residuais do que no verificado no primeiro crescimento. As plantas que receberam Cd no primeiro crescimento tiveram expressivo aumento na sua concentração de prolina para tentar sobreviver em condições de toxidez por esse metal (Figura 24A). Dentre as funções da prolina nas plantas estão a regulação osmótica e a prevenção contra a degradação de pigmentos fotossintéticos induzida pelo Cd (Zouari et al. 2016b). Por

isso, as plantas que, no primeiro crescimento, receberam doses baixas a intermediárias de Cd (até 1,0 mmol L⁻¹), apresentaram no segundo crescimento valores mais elevados de *A*, *E*, *gs*, *yield* e *ETR*, quando comparadas às plantas que não receberam Cd (Figuras 13C, 13F, 14C, 15B e 15D). Esse efeito benéfico da prolina na atividade fotossintética foi relatado anteriormente em plantas de *Phoenix dactylifera* (Zouari et al. 2016b) e *Solanum melongena* (Singh et al. 2015).

O fornecimento de mais K para plantas sob estresse por Cd (em condições intermediárias de toxidez) resultaram em mais elevados valores de *A*, *E*, *gs*, *yield* e *ETR*, no segundo corte (Figuras 13C, 13F, 14C, 15B e 15D). Esses resultados indicam o papel positivo do K em aumentar a eficiência fotossintética dos cloroplastos de plantas sob toxidez por Cd. O K é o principal soluto vacuolar que atua no ajuste osmótico das células, que também controla a pressão de turgor das células guarda, e consequentemente, regula a abertura e fechamento dos estômatos (Amjad et al. 2016; Marschner 2012; Shabala e Pottosin 2014). Portanto, o K favorece a condutância estomática (*gs*) e a taxa de transpiração (*E*). O aumento dos valores de *yield* e *ETR* em decorrência do incremento da disponibilidade de K está relacionado à atuação desse nutriente na redução do estresse oxidativo em plantas expostas ao Cd, como verificado pela redução do conteúdo de MDA e aumento da atividade de enzimas antioxidantes (Figuras 16E, 20C, 21B, 22C e 23F). Assim, o K evita danos na estrutura dos cloroplastos sob estresse por Cd. Adicionalmente, o K atua na ativação de enzimas envolvidas com o aumento da atividade fotossintética (Marschner 2012) e a deficiência de K ativa vias de sinalização que reduzem a produção de clorofila, além de afetar a síntese e ativação da enzima Rubisco (Hermans et al. 2006; Mengel e Kirkby 2001). Sendo assim, o K consegue amenizar os efeitos tóxicos do Cd, aumentando a taxa de assimilação de CO₂ (*A*), ou, fotossíntese líquida (Figura 13C).

O decréscimo na taxa de assimilação de CO₂ (fotossíntese) do capim tanzânia encontrado no presente estudo em decorrência da exposição ao Cd corrobora os encontrados por Ahmad et al (2016a) em *Brassica juncea*, Pereira et al. (2017) em *Calophyllum brasiliense*, Zhang et al. (2014b) em *Pennisetum americanum* x *P. purpureum*, Vaculík et al. (2015) em *Zea mays*, Nikolic et al. (2014) em *Triticum aestivum* e *Zea mays*. Aumentos da fotossíntese em função do suprimento de K para plantas submetidas a estresse por metais foram observados também em plantas de *Gladiolus grandiflora* (Zaheer et al. 2018), *Cicer arietinum* (Ahmad et al. 2016b),

Glycine max (Shamsi et al. 2010), *Brassica campestris* (Umar et al. 2008) e *Prunus persica* (Song et al. 2015).

Uma das principais causas da toxidez por Cd é o estresse oxidativo originado a partir do excesso de EROs (radical superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila ($OH^\cdot$)) que resulta em danos às membranas (peroxidação lipídica), proteínas e moléculas de DNA e RNA, que podem conduzir a célula à morte (Sharma et al. 2012). O estresse oxidativo no capim tanzânia em decorrência da toxidez por Cd foi constatado por meio do incremento das concentrações de H_2O_2 e de MDA (peroxidação lipídica) nos tecidos da parte aérea dessa gramínea com o aumento da disponibilidade de Cd na solução nutritiva (Figuras 17 A e B, 16 A, C, D e E). Para o MDA, tanto nas amostras coletadas no primeiro quanto no segundo corte, os mais altos valores foram encontrados em condições de baixa disponibilidade de K ($0,4 \text{ mmol L}^{-1}$) combinada à alta disponibilidade de Cd ($1,5 \text{ mmol L}^{-1}$) (Figuras 16 A e E), situação em que as plantas apresentaram mais elevada concentração de Cd em seus tecidos da parte aérea (Figuras 6A e D). Esses resultados estão de acordo com outros autores que também encontraram aumento das concentrações de H_2O_2 e de MDA em decorrência da mais alta concentração de Cd nos tecidos vegetais (Deng et al. 2017; Li et al. 2017; Lou et al. 2017).

O Cd é um metal não redox, portanto, não pode produzir radicais hidroxilas ($OH^\cdot$) (um tipo de ERO bem tóxico), por meio das reações de Haber-Weis e Fenton (Clemens 2006). Entretanto, esse metal pesado induz o estresse oxidativo, de forma indireta, acumulando outros tipos de EROs, por meio de sua interferência nas cadeias transportadoras de elétrons (bloqueio) e de sua relação negativa com os compostos que fazem parte do sistema de defesa antioxidante (inibição de enzimas antioxidantes devido a alta afinidade do Cd por grupos tióis) (Gallego et al. 2012; Ulusu et al. 2017). Verificou-se que o Cd inibiu a atividade de enzimas antioxidantes no capim tanzânia, o que pode ser responsável pelo estresse oxidativo induzido por esse metal (Figuras 20C, 21B, 22C e 23F).

A aplicação da mais alta dose de K ($11,6 \text{ mmol L}^{-1}$) para plantas estressadas por Cd amenizou o dano oxidativo induzido por esse metal, verificado por meio da mais baixa concentração de MDA nos tecidos do capim tanzânia nessas condições (Figuras 16 A e E), o que resultou em mais desenvolvimento das plantas no segundo crescimento (Figura 5C). Esse resultado pode ser atribuído à capacidade desse nutriente em eliminar EROs, devido ao aumento da atividade de enzimas

antioxidantes pela presença do K (Figuras 20C, 21B, 22C e 23F). Siddiqui et al. (2012), estudando plantas de *Vicia faba* cultivadas por sete dias com a dose de Cd de 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$, observaram que o suplemento com K na dose de 6 mmol L^{-1} proporcionou mais baixo acúmulo de MDA nos tecidos vegetais devido ao aumento da atividade das enzimas SOD e CAT.

As enzimas antioxidantes como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), guaiacol peroxidase (GPX), ascorbato peroxidase (APX) e glutathione redutase (GR), dentre outras enzimas e compostos antioxidantes não enzimáticos (prolina, por exemplo), têm grande importância na prevenção do estresse oxidativo em plantas. Portanto, uma das respostas mais imediatas das plantas a estresses ambientais está na ativação do sistema antioxidante (Domínguez et al. 2010; Namdjoyan et al. 2011). O Cd pode aumentar ou reduzir a atividade dessas enzimas dependendo da concentração e duração da exposição ao metal, da espécie vegetal, do órgão e do estágio de desenvolvimento da planta (Anjum et al. 2015b; Tran e Popova 2013).

A SOD, uma metaloenzima produzida em diversos compartimentos celulares, é a primeira enzima na linha de defesa contra as EROs, a qual catalisa a dismutação do superóxido (O_2^-) para O_2 e H_2O_2 . CAT e GPX são importantes enzimas que eliminam o H_2O_2 e o convertem em H_2O e oxigênio molecular (Malar et al. 2014). Além da SOD, CAT e GPX, existe outro importante sistema antioxidante que é o ciclo AsA-GSH presente nos cloroplastos, também responsável pela eliminação do H_2O_2 . Esse ciclo desempenha importante papel no equilíbrio entre a produção e eliminação de EROs em plantas expostas a condições de estresse por Cd. Ele é composto principalmente por enzimas como APX e GR e compostos antioxidantes como ascorbato e glutathione (Lou et al. 2017).

Existem isoenzimas de SOD localizadas em diversos compartimentos celulares (Azevedo et al. 1998), que respondem de forma diferente de acordo com a espécie vegetal e o órgão da planta (Gonçalves et al. 2009). Foram detectadas três isoformas de SOD no capim tanzânia sob estresse por Cd (Figuras 18 e 19). As mudanças que foram observadas no perfil dessa enzima indicam seu envolvimento nos mecanismos de detoxificação do capim tanzânia. Plantas crescidas em condições da mais alta dose de K (11,6 mmol L^{-1}) mantiveram elevada atividade da SOD, no segundo corte, mesmo em altas concentrações de Cd (Figura 19B), sugerindo melhor eficiência em converter O_2^- em H_2O_2 , o qual foi eliminado pelas peroxidases, que

também apresentaram atividades mais altas em condições de alta disponibilidade de K (Figuras 20C, 21B, 22C e 23F).

No geral, no segundo corte, as peroxidases CAT e GPX bem como as enzimas que fazem parte do ciclo AsA-GSH (APX e GR) foram inibidas em altas concentrações de Cd (Figuras 20 B e C, 21 A e B, 22 B e C, 23 E e F), o que resultou em maior acúmulo de H_2O_2 (Figura 17B) e peroxidação lipídica (acúmulo de MDA) (Figuras 16 D e E). Portanto, elas desempenham papel crucial na resistência do capim ao estresse por Cd. Este metal provoca inibição de enzimas pela sua alta afinidade com resíduos de cisteína (grupos tióis) de suas estruturas, além de comprometer a transcrição e tradução de genes responsáveis pela síntese dessas enzimas (DalCorso et al. 2013; Ulusu et al. 2017). Wu et al. (2017) observaram mais baixa atividade das enzimas CAT, APX e GR e Wang et al. (2013) das enzimas CAT e APX, em plantas de *Brassica campestris* e *Lolium perenne*, respectivamente, expostas ao Cd.

A CAT tem uma das mais altas taxas de *turnover* de todas as enzimas, sendo que ela é responsável por eliminar o excesso de H_2O_2 (Ahmad et al. 2016b). A GPX, além de fazer parte do sistema antioxidante, é a principal enzima peroxidase envolvida na síntese de lignina, composto importante para a ligação do Cd nas paredes celulares, protegendo o protoplasto dos efeitos tóxicos deste metal, o que também constitui um mecanismo de tolerância ao Cd (Podazza et al. 2012; Wojcik et al. 2005).

O decréscimo observado nas atividades da APX e da GR em decorrência da toxidez por Cd (Figuras 22 B e C, 23 B, E e F) também pode ser devido a distúrbios nos cloroplastos, onde essas enzimas são encontradas (Lou et al. 2017). A APX tem alta afinidade pelo H_2O_2 e por isso é responsável pela manutenção de níveis baixos (ajuste fino) dessa ERO. A GR é necessária para a manutenção da atividade da APX, pois durante a regeneração do ascorbato (substrato da APX), a glutathiona reduzida (GSH) tem seu grupo tiol oxidado em glutathiona (GSSG), e a reação inversa (redução da GSSG) é catalisada pela GR usando NADPH (Hasanuzzaman et al. 2012). O aumento no suprimento de K incrementou a atividade das enzimas APX e GR, o que é muito importante para proteger os cloroplastos de danos oxidativos e pode ser responsável pela maior capacidade fotossintética (A) em plantas expostas ao Cd (Figura 13C).

A resposta das enzimas CAT e APX em plantas de capim tanzânia expostas ao Cd foi oposta nas raízes em relação à parte aérea, já que esse metal incrementou a atividade dessas enzimas nos tecidos radiculares (Figuras 20D e 22E), indicando

que o Cd pode influenciar a resposta de algumas enzimas de forma diferente em cada órgão da planta. Kabir et al. (2016) observaram maior atividade da CAT e Liu et al. (2015) constataram mais alta atividade da APX nas raízes de plantas de *Medicago sativa* e *Trifolium repens*, respectivamente.

A importância do K em amenizar o estresse por Cd está relacionada com sua função em regular o sistema de defesa antioxidante enzimático. O suprimento de K para plantas sob toxidez por Cd, no segundo corte, incrementou a atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT, GPX e das enzimas do ciclo AsA-GSH (APX e GR) nas demais partes do capim tanzânia (Figuras 19B, 20C, 21B, 22C e 23F), reduzindo a peroxidação lipídica, verificada pela mais baixa concentração de MDA (Figura 16E). O aumento da capacidade antioxidante é muito importante para a sobrevivência de plantas crescidas em ambientes contaminados por metais (Habiba et al. 2015). Portanto, a aplicação de K aumenta a tolerância dessa gramínea forrageira ao estresse por Cd. Respostas positivas do K no sistema antioxidante de plantas expostas a toxidez por Cd, também foram encontradas por Ahmad et al. (2016b) que verificaram mais alta atividade das enzimas SOD, APX e GR em *Cicer arietinum* e por Zaheer et al. (2018) que observaram incremento das atividades da CAT e APX em *Gladiolus grandiflora*.

O aumento da atividade de enzimas antioxidantes pode ser devido ao reconhecido papel do K como ativador enzimático (Marschner 2012). Em condições de estresse, o K desempenha importante papel na síntese de proteínas, por exemplo, as thioredoxinas, glutaredoxinas, dentre outras, que facilitam a regeneração da forma reduzida das peroxiredoxinas, as quais participam na redução da formação de EROs em plantas sob estresses ambientais (Siddiqui et al. 2012; Tripathi et al. 2009).

A concentração de prolina na parte aérea do capim tanzânia foi mais elevada quando as plantas apresentaram a mais alta concentração de Cd em seus tecidos (Figuras 6 A, B, C e D e Figuras 24 A, C e E), o que indica que o estresse por Cd estimula a produção de osmoprotetores. Mesmo com o mais elevado acúmulo de prolina, as doses mais altas de Cd proporcionaram mais alto acúmulo de MDA na parte aérea do capim (Figuras 16 A, C, D e E), indicando que a prolina não conseguiu proteger integralmente as membranas, mas provavelmente evitou danos mais severos, o que permitiu a sobrevivência e emissão de novas folhas e perfilhos no segundo crescimento do capim tanzânia cultivado com doses intermediárias de Cd (Figuras 3 A e B). A mais elevada concentração de prolina em decorrência do estresse

por Cd também foi verificado em plantas de *Brassica juncea* (Ahmad et al. 2016a), *Oryza sativa* (Rahman et al. 2016), *Vigna radiata* (Roychoudhury et al. 2016) e *Trifolium repens* (Liu et al. 2015).

O fornecimento de mais K no decorrer do primeiro crescimento do capim proporcionou mais baixa concentração de prolina nas LR de plantas expostas ao Cd (Figura 24A), equiparando com a concentração de prolina das plantas que não receberam Cd, indicando que em condições de disponibilidade mais elevada de K as plantas apresentaram menos estresse.

O acúmulo de prolina é uma estratégia de adaptação das plantas para sobreviver sob condições de estresse por Cd, pois além de atuar como osmoprotetor para ajuste osmótico, elimina o excesso de EROs (evitando a degradação de pigmentos fotossintéticos), estabiliza a estrutura das membranas celulares e proteínas, regula o potencial redox das células, mantém o transporte de elétrons no fotossistema II, participa da quelação de metais formando complexos não tóxicos, além de servir como fonte de N e C (Dawood et al. 2014; Zouari et al. 2016a; Zouari et al. 2016b; Zouari et al. 2016c). Sendo assim, a prolina contribui para o aumento da tolerância do capim tanzânia sob toxidez por Cd.

A concentração de PUT foi mais alta nas plantas do capim com deficiência de K (Tabela 4 e Figuras 25 A e B), enquanto as concentrações de SPD e SPM foram mais baixas nessa condição (Tabela 4, Figuras 26 A e B e 27 A e B), nos dois cortes do capim tanzânia. Entretanto, com o mais alto fornecimento de K, a concentração de PUT diminuiu e as de SPD e SPM aumentaram (Tabela 4 e Figuras 25 A e B, 26 A e B e 27 A e B). Diversos autores já relataram que em plantas deficientes em K há incremento da concentração de PUT, devido a superexpressão da arginina descarboxilase (ADC), para manter o balanço cátion-ânion nos tecidos vegetais (Bouchereau et al. 1999; Chen et al. 2016; Flores 1991; Panicot et al. 2002), porém as concentrações de SPD e SPM não incrementam proporcionalmente (Watson e Malmberg 1996). O declínio de PUT com o aumento do fornecimento de K pode ser devido à inibição das enzimas responsáveis pela sua biossíntese. O incremento observado nas concentrações de SPD e SPM em função de mais aplicação de K pode ser resultado do estímulo de enzimas responsáveis por sua síntese (espermidina e espermina sintase) ou da inibição da poliamina oxidase (PAO).

As mais altas doses de Cd residual proporcionaram, no segundo corte, mais baixas concentrações de PUT, SPD e SPM quando se compara à não aplicação de

Cd (Figuras 25 A e B, 26 A e B, 27 A e B). Diversos estudos apontam que o estresse por Cd provoca ruptura na homeostase das poliaminas, devido ao incremento na concentração de PUT e decréscimo nas de SPD e SPM, resultando em alta razão PUT:(SPD+SPM), o que é prejudicial para o desenvolvimento das plantas (Qiao et al. 2015; Yang et al. 2013; Yang et al. 2010). Entretanto, no presente estudo verificou-se que o estresse por Cd reduziu tanto a concentração de SPD e SPM quanto de PUT. Esse resultado pode ser atribuído a mais síntese de prolina em condições de toxidez por Cd (Figura 24E), pois como a biossíntese de prolina ocorre por meio da ativação de precursores em comum com a PUT (arginina e ornitina) (Szabados e Savoure 2010), o incremento na síntese de prolina proporcionou a mais baixa concentração de PUT no capim tanzânia. O decréscimo na concentração de PUT resultou em mais baixas concentrações de SPD e SPM, pois a PUT é uma molécula precursora dessas poliaminas. Além disso, a atividade da poliamina oxidase (PAO) possivelmente foi incrementada em plantas com Cd, e conseqüentemente as concentrações de SPD e SPM foram mais baixas.

As poliaminas SPD e SPM desempenham importante papel de proteção em plantas expostas a estresses por regular a homeostase redox das células, por atuar como queladoras de metais, como componentes das vias de sinalização de estresses eliminando EROs por meio da ativação do sistema de defesa antioxidante das plantas, além de estabilizar membranas lipídicas (Anjum et al. 2015a; Kebert et al. 2017). Groppa et al. (2001) encontraram que a mais alta concentração de SPD e SPM restauraram a atividade da GR que foi inibida pelo estresse por Cu ou Cd e a SPM reverteu o decréscimo da atividade da SOD induzido pelo estresse por Cu em plantas de *Helianthus annuus*.

A SPD e a SPM podem se ligar fortemente a cargas negativas dos componentes celulares como fosfolipídeos e proteínas, devido sua natureza policatiónica em pH fisiológico, estabilizando as membranas (inclusive dos tilacóides), evitando a peroxidação lipídica (Gong et al. 2016). Então, o decréscimo na concentração de MDA proporcionado pelo K (Figura 16E) pode ser resultado do aumento na concentração de SPD e SPM (Figuras 26 A e B e 27 A e B) causado por esse nutriente em plantas expostas ao Cd.

O fornecimento de alta dose de K (11,6 mmol L⁻¹) para as plantas sob estresse por Cd resultou em mais altas concentrações de SPD e SPM, alcançando valores mais próximos dos encontrados nas plantas que não ficaram expostas ao Cd, mostrando a

ação estimulante do K na síntese dessas poliaminas. Então, o K pode amenizar os efeitos tóxicos do estresse proporcionado pelo Cd por aumentar a concentração de poliaminas (SPD e SPM) no capim tanzânia.

4.5. Conclusão

O suprimento abundante de K aumenta a atividade fotossintética e reduz o estresse oxidativo induzido pelo Cd no capim tanzânia, o que é evidenciado pelo decréscimo na concentração de MDA na parte aérea dessa forrageira. A mitigação da toxidez por Cd com o incremento da disponibilidade de K resulta do incremento da atividade das enzimas antioxidantes e da concentração das poliaminas SPD e SPM. Portanto, o K aumenta a tolerância do capim tanzânia ao Cd, o que favorece a capacidade de fitoextração do metal pesado por essa gramínea forrageira.

Referências

- Ahmad P, Abd Allah EF, Hashem A, Sarwat M, Gucel S (2016a): Exogenous application of selenium mitigates cadmium toxicity in *Brassica juncea* L. (Czern & Cross) by up-regulating antioxidative system and secondary metabolites Journal of Plant Growth Regulation 35, 936-950
- Ahmad P, Latef AAA, Abd Allah EF, Hashem A, Sarwat M, Anjum NA, Gucel S (2016b): Calcium and potassium supplementation enhanced growth, osmolyte secondary metabolite production, and enzymatic antioxidant machinery in cadmium-exposed chickpea (*Cicer arietinum* L.). Frontiers in Plant Science 7, 1-12
- Amjad M, Akhtar J, Murtaza B, Abbas G, Jawad H (2016): Differential accumulation of potassium results in varied salt-tolerance response in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) cultivars. Horticulture Environment and Biotechnology 57, 248-258
- Anjum NA, Hasanuzzaman M, Hossein MA, Thangavel P, Roychoudhury A, Gill SS, Rodrigo MAM, Adam V, Fujita M, Kizek R, Duarte AC, Pereira E, Ahmed I (2015a): Jacks of metal/metalloid chelation trade in plants-an overview. Frontiers in Plant Science 6, 1-17
- Anjum SA, Tanveer M, Hussain S, Bao M, Wang L, Khan I, Ullah E, Tung SA, Samad RA, Shahzad B (2015b): Cadmium toxicity in maize (*Zea mays* L.): consequences on antioxidative systems, reactive oxygen species and cadmium accumulation. Environmental Science and Pollution Research 22, 17022-17030

- Araújo RP, Almeida AAF, Pereira LS, Mangabeira PAO, Souza JO, Pirovani CP, Ahnert D, Baligar VC (2017): Photosynthetic, antioxidative, molecular and ultrastructural responses of young cacao plants to Cd toxicity in the soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 144, 148-157
- Azevedo RA, Alas RM, Smith RJ, Lea PJ (1998): Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. *Physiologia Plantarum* 104, 280-292
- Baker NR (2008): Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. *Annual Review of Plant Biology* 59, 89-113
- Bates LS, Waldren RP, Teare ID (1973): Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39, 205-207
- Bouchereau A, Aziz A, Larher F, Martin-Tanguy J (1999): Polyamines and environmental challenges: recent development. *Plant Science* 140, 103-125
- Bradford MM (1976): A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72, 248-254
- Chen D, Cao B, Qi L, Yin L, Wang S, Deng X (2016): Silicon-moderated K-deficiency-induced leaf chlorosis by decreasing putrescine accumulation in sorghum. *Annals of Botany* 118, 305-315
- Choudhury FK, Rivero RM, Blumwald E, Mittler R (2017): Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. *Plant Journal* 90, 856-867
- Clemens S (2006): Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie* 88, 1707-1719
- DalCorso G, Manara A, Furini A (2013): An overview of heavy metal challenge in plants: from roots to shoots. *Metallomics* 5, 1117-1132
- Daud MK, Mei L, Azizullah A, Dawood M, Ali I, Mahmood Q, Ullah W, Jamil M, Zhu SJ (2016): Leaf-based physiological, metabolic, and ultrastructural changes in cultivated cotton cultivars under cadmium stress mediated by glutathione. *Environmental Science and Pollution Research* 23, 15551-15564
- Dawood MG, Taie HAA, Nassar RMA, Abdelhamid MT, Schmidhalter U (2014): The changes induced in the physiological, biochemical and anatomical characteristics of *Vicia faba* by the exogenous application of proline under seawater stress. *South African Journal of Botany* 93, 54-63
- Demidchik V (2015): Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. *Environmental and Experimental Botany* 109, 212-228
- Deng Y, Li DF, Huang YM, Huang SQ (2017): Physiological response to cadmium stress in kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) seedlings. *Industrial Crops and Products* 107, 453-457

- Domínguez DM, García FC, Raya AC, Santiago RT (2010): Cadmium-induced oxidative stress and the response of the antioxidative defense system in *Spartina densiflora*. *Physiologia Plantarum* 139, 289-302
- Flores HE, Galston AW (1982): Analysis of polyamines in higher-plants by high-performance liquid-chromatography. *Plant Physiology* 69, 701-706
- Flores HE (1991): Changes in polyamine metabolism in response to abiotic stress. In: Slocum R, Flores H (Editors), *The biochemistry and physiology of polyamines in plants*. CRC Press, Boca Raton, pp. 214-255
- Gallego SM, Pena LB, Barcia RA, Azpilicueta CE, Iannone MF, Rosales EP, Zawoznik MS, Groppa MD, Benavides MP (2012): Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: insight into regulatory mechanisms. *Environmental and Experimental Botany* 83, 33-46
- Gilabel AP, Nogueirol RC, Garbo AI, Monteiro FA (2014): The role of sulfur in increasing guinea grass tolerance of copper phytotoxicity. *Water, Air, and Soil Pollution* 225, 1-10
- Gonçalves JF, Tabaldi LA, Cargnelutti D, Pereira LB, Maldaner J, Becker AG, Rossato LV, Rauber R, Bagatini MD, Bisognin DA, Schetinger MRC, Nicoloso FT (2009): Cadmium-induced oxidative stress in two potato cultivars. *Biometals* 22, 779-792
- Gong X, Liu Y, Huang D, Zeng G, Liu S, Tang H, Zhou L, Hu X, Zhou Y, Tan X (2016): Effects of exogenous calcium and spermidine on cadmium stress moderation and metal accumulation in *Boehmeria nivea* (L.) Gaudich. *Environmental Science and Pollution Research* 23, 8699-8708
- Groppa MD, Tomaro ML, Benavides MP (2001): Polyamines as protectors against cadmium or copper-induced oxidative damage in sunflower leaf discs. *Plant Science* 161, 481-488
- Habiba U, Ali S, Farid M, Shakoob MB, Rizwan M, Ibrahim M, Abbasi GH, Hayat T, Ali B (2015): EDTA enhanced plant growth, antioxidant defense system, and phytoextraction of copper by *Brassica napus* L. *Environmental Science and Pollution Research* 22, 1534-1544
- Hasanuzzaman M, Hossain MA, Fujita M (2012): Exogenous selenium pretreatment protects rapeseed seedlings from cadmium-induced oxidative stress by upregulating antioxidant defense and methylglyoxal detoxification systems. *Biological Trace Element Research* 149, 248-261
- He SY, He ZL, Yang XE, Stoffella PJ, Baligar VC (2015): Soil biogeochemistry, plant physiology, and phytoremediation of cadmium-contaminated soils. *Advances in Agronomy* 134, 135-225
- Heath RL, Packer L (1968): Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125, 189-198

- Hermans C, Hammond JP, White PJ, Verbruggen N (2006): How do plants respond to nutrient shortage by biomass allocation? *Trends in Plant Science* 11, 610-617
- Hoagland D, Arnon DI (1950): The water culture method for growing plants without soil. California Agriculture Experimental Station, Berkeley, 32 pp
- Ibrahim W, Ahmed IM, Chen X, Cao F, Zhu S, Wu F (2015): Genotypic differences in photosynthetic performance, antioxidant capacity, ultrastructure and nutrients in response to combined stress of salinity and Cd in cotton. *BioMetals* 28, 1063-1078
- Kabata-Pendias A (2010): Trace elements of group 12 - II cadmium. In: Kabata-Pendias A (Editor), Trace elements in soils and plants. CRC Press - Taylor and Francis Group, Boca Raton, pp. 287-301
- Kabir AH, Hossain MM, Khatun MA, Mandal A, Haider SA (2016): Role of silicon counteracting cadmium toxicity in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Frontiers in Plant Science* 7, 1-12
- Kebert M, Rapparini F, Neri L, Bertazza G, Orlović S, Biondi S (2017): Copper-induced responses in poplar clones are associated with genotype- and organ-specific changes in peroxidase activity and proline, polyamine, ABA, and IAA levels. *Journal of Plant Growth Regulation* 36, 131-147
- Li P, Zhao CZ, Zhand YQ, Wang XM, Wang JF, Wang F, Bi YR (2017): Silicon enhances the tolerance of *Poa annua* to cadmium by inhibiting its absorption and oxidative stress. *Biologia Plantarum* 61, 741-750
- Lima GPP, Rocha SA, Takaki M, Ramos PRR, Ono EO (2008): Comparison of polyamine, phenol and flavonoid contents in plants grown under conventional and organic methods. *International Journal of Food Science and Technology* 43, 1838-1843
- Liu S, Yang R, Pan Y, Ma M, Pan J, Zhao Y, Cheng Q, Wu M, Wang M, Zhang L (2015): Nitric oxide contributes to minerals absorption, proton pumps and hormone equilibrium under cadmium excess in *Trifolium repens* L. plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 119, 35-46
- Lou L, Kang J, Pang H, Li Q, Du X, Wu W, Chen J, Lv J (2017): Sulfur protects pakchoi (*Brassica chinensis* L.) seedlings against cadmium stress by regulating ascorbate-glutathione metabolism. *International Journal of Molecular Sciences* 18, 1628-1628
- Malar S, Vikram SS, Favas PJC, Perumal V (2014): Lead heavy metal toxicity induced changes on growth and antioxidative enzymes level in water hyacinths *Eichhornia crassipes* (Mart.). *Botanical Studies* 55, 1-11
- Marschner P (2012): Marschner's mineral nutrition of higher plants. Academic Press, London, 651 pp

- Matsuno H, Uritani I (1972): Physiological behavior of peroxidase isoenzymes in sweet potato root tissue injured by cutting or with black rot. *Plant and Cell Physiology* 13, 1091-1101
- Mengel K, Kirkby EA (2001): Principles of plant nutrition. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 849 pp
- Miranda VS, Ribeiro KG, Silva AC, Pereira RC, Pereira OG, Torrado PV, Fernandes JSC, Oliveira MC (2012): Rehabilitation with forage grasses of an area degraded by urban solid waste deposits. *Revista Brasileira de Zootecnia* 41, 18-23
- Monteiro CC, Carvalho RF, Gratão PL, Carvalho G, Tezotto T, Medici LO, Peres LEP, Azevedo RA (2011a): Biochemical responses of the ethylene-insensitive Never ripe tomato mutant subjected to cadmium and sodium stresses. *Environmental and Experimental Botany* 71, 306-320
- Monteiro FA, Consolmagno Neto D (2008): Tanzania guineagrass root system as related to potassium and magnesium fertilization. *Revista Brasileira de Zootecnia* 37, 810-818
- Monteiro FA, Nogueirol RC, Melo LCA, Artur AG, Rocha F (2011b): Effect of barium on growth and macronutrient nutrition in tanzania guineagrass grown in nutrient solution. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 42, 1510-1521
- Nakano Y, Asada K (1981): Hydrogen-peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach-chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22, 867-880
- Namdjoyan SH, Khavari-Nejad RA, Bernard F, Nejdassattari T, Shaker H (2011): Antioxidant defense mechanisms in response to cadmium treatments in two safflower cultivars. *Russian Journal of Plant Physiology* 58, 467-477
- Nascimento SS, Silva EB, Alleoni LRF, Graziotti PH, Fonseca FG, Nardis BO (2014): Availability and accumulation of lead for forage grasses in contaminated soil. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 14, 783-802
- Nazar R, Iqbal N, Masood A, Khan MIR, Syeed S, Khan NA (2012): Cadmium toxicity in plants and role of mineral nutrients in its alleviation. *American Journal of Plant Sciences* 03, 1476-1489
- Nikolić N, Pajević S, Župunski M, Topić M, Arsenov D (2014): Responses of wheat (*Triticum aestivum* L.) and maize (*Zea mays* L.) plants to cadmium toxicity in relation to magnesium nutrition. *Acta Botanica Croatica* 73, 359-373
- Panicot M, Masgrau C, Borrell A, Cordeiro A, Tiburcio AF, Altabella T (2002): Effects of putrescine accumulation in tobacco transgenic plants with different expression levels of oat arginine decarboxylase. *Physiologia Plantarum* 114, 281-287
- Per TS, Khan NA, Masood A, Fatma M (2016): Methyl jasmonate alleviates cadmium-induced photosynthetic damages through increased S-assimilation and glutathione production in mustard. *Frontiers in Plant Science* 7, 1-13

- Pereira AS, Cortez PA, Almeida AAF, Prasad MNV, Franca MGC, Cunha M, Jesus RM, Mangabeira PAO (2017): Morphology, ultrastructure, and element uptake in *Calophyllum brasiliense* Cambess. (Calophyllaceae J. Agardh) seedlings under cadmium exposure. *Environmental Science and Pollution Research* 24, 15576-15588
- Podazza G, Arias M, Prado FE (2012): Cadmium accumulation and strategies to avoid its toxicity in roots of the citrus rootstock Citrumelo. *Journal of Hazardous Materials* 215, 83-89
- Qiao X, Wang P, Shi G, Yang H (2015): Zinc conferred cadmium tolerance in *Lemna minor* L. via modulating polyamines and proline metabolism. *Plant Growth Regulation* 77, 1-9
- Rabêlo FHS, Azevedo RA, Monteiro FA (2017): Proper supply of S increases GSH synthesis in the establishment and reduces tiller mortality during the regrowth of Tanzania guinea grass used for Cd phytoextraction. *Journal of Soils and Sediments* 17, 1427-1436
- Rady MM, Hemida KA (2015): Modulation of cadmium toxicity and enhancing cadmium-tolerance in wheat seedlings by exogenous application of polyamines. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 119, 178-185
- Rahman A, Nahar K, Hasanuzzaman M, Fujita M (2016): Manganese-induced cadmium stress tolerance in rice seedlings: coordinated action of antioxidant defense, glyoxalase system and nutrient homeostasis. *Comptes Rendus - Biologies* 339, 462-474
- Roychoudhury A, Ghosh S, Paul S, Mazumdar S, Das G, Das S (2016): Pre-treatment of seeds with salicylic acid attenuates cadmium chloride-induced oxidative damages in the seedlings of mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek). *Acta Physiologiae Plantarum* 38, 1-18
- Sandalio LM, Dalurzo HC, Gomez M, Romero-Puertas MC, del Rio LA (2001): Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. *Journal of Experimental Botany* 52, 2115-2126
- Santos EF, Macedo FG, Zanchim BJ, Lima GPP, Lavres Júnior J (2017): Prognosis of physiological disorders in physic nut to N, P, and K deficiency during initial growth. *Plant Physiology and Biochemistry* 115, 249-258
- SAS-Institute (2011): SAS user's guide 9.3. SAS:Institute, Carry, 644 pp
- Shabala S, Pottosin I (2014): Regulation of potassium transport in plants under hostile conditions: implications for abiotic and biotic stress tolerance. *Physiologia Plantarum* 151, 257-279
- Shamsi IH, Jiang L, Wei K, Jilani G, Hua S, Zhang G-P (2010): Alleviation of cadmium toxicity in soybean by potassium supplementation. *Journal of Plant Nutrition* 33, 1926-1938

- Sharma P, Jha AB, Dubey RS, Pessarakli M (2012): Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany* 2012, 1-26
- Siddiqui MH, Al-Whaibi MH, Sakran AM, Basalah MO, Ali HM (2012): Effect of calcium and potassium on antioxidant system of *Vicia faba* L. under cadmium stress. *International Journal of Molecular Sciences* 13, 6604-6619
- Silva EB, Fonseca FG, Alleoni LRF, Nascimento SS, Graziotti PH, Nardis BO (2016): Availability and toxicity of cadmium to forage grasses grown in contaminated soil. *International Journal of Phytoremediation* 18, 847-852
- Singh M, Singh VP, Dubey G, Prasad SM (2015): Exogenous proline application ameliorates toxic effects of arsenate in *Solanum melongena* L. seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 117, 164-173
- Smith IK, Vierheller TL, Thorne CA (1988): Assay of glutathione-reductase in crude tissue-homogenates using 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid). *Analytical Biochemistry* 175, 408-413
- Song ZZ, Duan CL, Guo SL, Yang Y, Feng YF, Ma RJ, Yu ML (2015): Potassium contributes to zinc stress tolerance in peach (*Prunus persica*) seedlings by enhancing photosynthesis and the antioxidant defense system. *Genetics and Molecular Research* 14, 8338-8351
- Souza LA, Piotto FA, Nogueirol RC, Azevedo RA (2013): Use of non-hyperaccumulator plant species for the phytoextraction of heavy metals using chelating agents. *Scientia Agricola* 70, 290-295
- Szabados L, Savoure A (2010): Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science* 15, 89-97
- Tran TA, Popova LP (2013): Functions and toxicity of cadmium in plants: recent advances and future prospects. *Turkish Journal of Botany* 37, 1-13
- Tripathi BN, Bhatt I, Dietz KJ (2009): Peroxiredoxins: a less studied component of hydrogen peroxide detoxification in photosynthetic organisms. *Protoplasma* 235, 3-15
- Ulus Y, Ozturk L, Elmastas M (2017): Antioxidant capacity and cadmium accumulation in parsley seedlings exposed to cadmium stress. *Russian Journal of Plant Physiology* 64, 883-888
- Umar S, Diva I, Anjum NA, Iqbal M (2008): Potassium nutrition reduces cadmium accumulation and oxidative burst in mustard (*Brassica campestris* L.). *Optimizing Crop Nutrition* 16, 6-9
- Umar S, Gauba N, Anjum NA, Siddiqi TO (2013): Arsenic toxicity in garden cress (*Lepidium sativum* Linn.): significance of potassium nutrition. *Environmental Science and Pollution Research* 20, 6039-6049

- Vaculík M, Pavlovič A, Lux A (2015): Silicon alleviates cadmium toxicity by enhanced photosynthetic rate and modified bundle sheath's cell chloroplasts ultrastructure in maize. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 120, 66-73
- Varone L, Ribas-Carbo M, Cardona C, Galle A, Medrano H, Gratani L, Flexas J (2012): Stomatal and non-stomatal limitations to photosynthesis in seedlings and saplings of Mediterranean species pre-conditioned and aged in nurseries: different response to water stress. *Environmental and Experimental Botany* 75, 235-247
- Velikova V, Yordanov I, Edreva A (2000): Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant Science* 151, 59-66
- Wang Q, Liang X, Dong Y, Xu L, Zhang X, Hou J, Fan Z (2013): Effects of exogenous nitric oxide on cadmium toxicity, element contents and antioxidative system in perennial ryegrass. *Plant Growth Regulation* 69, 11-20
- Watson MB, Malmberg RL (1996): Regulation of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh arginine decarboxylase by potassium deficiency stress. *Plant Physiology* 111, 1077-1083
- Wojcik M, Vangronsveld J, D'Haen J, Tukiendorf A (2005): Cadmium tolerance in *Thlaspi caerulescens*: II. Localization of cadmium in *Thlaspi caerulescens*. *Environmental and Experimental Botany* 53, 163-171
- Wu Z, Liu S, Zhao J, Wang F, Du Y, Zou S, Li H, Wen D, Huang Y (2017): Comparative responses to silicon and selenium in relation to antioxidant enzyme system and the glutathione-ascorbate cycle in flowering chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *utilis*) under cadmium stress. *Environmental and Experimental Botany* 133, 1-11
- Xue ZC, Gao HY, Zhang LT (2013): Effects of cadmium on growth, photosynthetic rate and chlorophyll content in leaves of soybean seedlings. *Biologia Plantarum* 57, 587-590
- Yang HY, Shi GX, Wang HX, Xu QS (2010): Involvement of polyamines in adaptation of *Potamogeton crispus* L. to cadmium stress. *Aquatic Toxicology* 100, 282-288
- Yang HY, Shi GX, Li WL, Wu WL (2013): Exogenous spermidine enhances *Hydrocharis dubia* cadmium tolerance. *Russian Journal of Plant Physiology* 60, 770-775
- Zaheer MM, Yasin NA, Ahmad SR, Khan WU, Ahmad A, Ali A, Rehman SU (2018): Amelioration of cadmium stress in gladiolus (*Gladiolus grandiflora* L.) by application of potassium and silicon. *Journal of Plant Nutrition* 41, 461-476
- Zhang H, Guo Q, Yang J, Chen T, Zhu G, Peters M, Wei R, Tian L, Wang C, Tan D, Ma J, Wang G, Wan Y (2014a): Cadmium accumulation and tolerance of two castor cultivars in relation to antioxidant systems. *Journal of Environmental Sciences* 26, 2048-2055

- Zhang XF, Xia HP, Li ZA, Zhuang P, Gao B (2010): Potential of four forage grasses in remediation of Cd and Zn contaminated soils. *Bioresource Technology* 101, 2063-2066
- Zhang XF, Zhang XH, Gao B, Li ZA, Xia HP, Li HF, Li J (2014b): Effect of cadmium on growth, photosynthesis, mineral nutrition and metal accumulation of an energy crop, king grass (*Pennisetum americanum* x *P. purpureum*). *Biomass & Bioenergy* 67, 179-187
- Zouari M, Ben Ahmed C, Elloumi N, Bellassoued K, Delmail D, Labrousse P, Ben Abdallah F, Ben Rouina B (2016a): 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 and Environmental Safety* 128, 195-205
- Zouari M, Ben Ahmed C, Zorrig W, Elloumi N, Rabhi M, Delmail D, Ben Rouina B, Labrousse P, Ben Abdallah F (2016b): Exogenous proline mediates alleviation of cadmium stress by promoting photosynthetic activity, water status and antioxidative enzymes activities of young date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 128, 100-108
- Zouari M, Elloumi N, Ahmed CB, Delmail D, Rouina BB, Abdallah FB, Labrousse P (2016c): Exogenous proline enhances growth, mineral uptake, antioxidant defense, and reduces cadmium-induced oxidative damage in young date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Ecological Engineering* 86, 202-209