



MATEUS MOREIRA BERNARDES

**PLASTICIDADE TRANSGERACIONAL EM SEMENTES E
PLÂNTULAS DE GIRASSOL SUBMETIDAS AO CÁDMIO E
MANGANÊS**

LAVRAS-MG

2021

MATEUS MOREIRA BERNARDES

**PLASTICIDADE TRANSGERACIONAL EM SEMENTES E PLÂNTULAS DE
GIRASSOL SUBMETIDAS AO CÁDMIO E MANGANÊS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal, área de concentração Crescimento e Desenvolvimento de Plantas, para a obtenção do título de Mestre.

Prof.^a Dra. Fernanda Carlota Nery

Orientadora

Prof.^a Dra. Elisa Monteze Bicalho

Prof. Renato Paiva, Ph.D

Coorientadores

LAVRAS-MG

2021

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Bernardes, Mateus Moreira.

Plasticidade transgeracional em sementes e plântulas de girassol submetidas ao cádmio e manganês / Mateus Moreira Bernardes. - 2021.

57 p. : il.

Orientador(a): Fernanda Carlota Nery.

Coorientador(a): Elisa Monteze Bicalho, Renato Paiva.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Transmissão transgeracional. 2. Helianthus annuus L. 3. elementos traço. I. Nery, Fernanda Carlota. II. Bicalho, Elisa Monteze. III. Paiva, Renato. IV. Título.

MATEUS MOREIRA BERNARDES

**PLASTICIDADE TRANSGERACIONAL EM SEMENTES E PLÂNTULAS DE
GIRASSOL SUBMETIDAS AO CÁDMIO E MANGANÊS**

**TRANSGENERATIONAL PLASTICITY IN SUNFLOWER SEEDS AND
SEEDLINGS SUBJECTED TO CADMIUM AND MANGANESE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal, área de concentração Crescimento e Desenvolvimento de Plantas, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 30 de abril de 2021.

Dr. Eduardo Gusmão Pereira UFV

Dra. Elisa Monteze Bicalho UFLA

Dra. Débora de Oliveira Prudente CTC

Prof.^a Dra. Fernanda Carlota Nery

Orientadora

Prof.^a Dra. Elisa Monteze Bicalho

Prof. Renato Paiva, Ph.D

Coorientadores

LAVRAS-MG

2021

AGRADECIMENTOS

À minha família pelo apoio durante o período de execução deste trabalho.

A todos os amigos pelas contribuições ao projeto e companheirismo durante a execução do mesmo.

À Fernanda Carlota Nery e Eliza Monteze Bicalho pela orientação e acompanhamento.

Ao Programa de Pós-graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

Muito obrigado!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

RESUMO

A alta atividade antrópica pode elevar os níveis de elementos traço em um ambiente. Uma vez absorvidos pelas plantas, estes elementos, como é o caso do cádmio, podem ser translocados e bioacumulados em diferentes órgãos e tecidos, inclusive nas sementes. As etapas de germinação e estabelecimento de plântulas constituem pontos altamente sensíveis no desenvolvimento de plantas e podem ser impactadas pelas condições ambientais externas. Todavia, plantas podem transmitir informações que garantam melhor aclimatação de seus descendentes quando estes enfrentarem condições similares as vivenciadas pela geração parental, através de um mecanismo denominado plasticidade transgeracional. Neste trabalho, objetivou-se compreender se sementes de quatro origens distintas possuem algum mecanismo que possibilite melhor aclimatação em ambientes adversos similares aos que a planta-mãe que gerou tais sementes havia sido cultivada, acompanhando a etapa de germinação e estabelecimento de plântulas. O experimento foi realizado em esquema fatorial inteiramente casualizado com 4 origens de sementes (Controle, 0Cd0Mn, 5Cd e 5Cd400Mn) e 3 condições de cultivo (Controle, 5Cd e 5Cd400Mn) com 4 repetições cada e dividido em 2 etapas. Na primeira etapa, as sementes foram caracterizadas quanto sua germinação e curva de embebição e foram realizadas análises bioquímicas como o teor de H₂O₂, MDA, açúcares solúveis e redutores, proteínas, aminoácidos, prolina, além da atividade de SOD, CAT e APX em sementes coletadas em 8 e 24 horas após início da embebição. Na segunda etapa, as sementes foram cultivadas em solo por um período de 25 dias seguida de coleta para as mesmas análises bioquímicas da primeira etapa, além da quantificação de cádmio e manganês, fluorescência da clorofila *a* e de biomassa. De forma geral foi possível evidenciar a atividade de SOD e APX principalmente como possíveis indicadores de plasticidade transgeracional, além de verificar a influência da origem das sementes nos estágios de germinação e estabelecimento. Para sementes, a origem do material promoveu atrasos na embebição e germinação, principalmente nas sementes '5Cd400Mn' em relação às demais. Nas plantas, os efeitos da planta-mãe embora pouco evidenciados, foram menos preponderantes do que a condição de cultivo. Porém, plantas de origem '5Cd' e '5Cd400Mn' mostraram diferenças na capacidade fotoquímica em relação às demais na presença de cádmio.

Palavras-chave: Planta-mãe. *Helianthus annuus*. Transmissão transgeracional. Elemento traço.

ABSTRACT

High anthropogenic activity can elevate the levels of trace elements in an environment. Once absorbed by plants, these elements, such as cadmium, can be translocated and bioaccumulated in different organs and tissues, including seeds. The stages of germination and seedling establishment are highly sensitive points in plant development and can be impacted by external environmental conditions. However, plants can transmit information that ensure better acclimation of their offspring when they face conditions similar to those experienced by the parental generation, through a mechanism called transgenerational plasticity. In this work, the objective was to understand if seeds from four different origins have some mechanism that allows them a better acclimatization in adverse environments similar to those in which the mother plant that generated such seeds was grown, monitoring the stage of germination and establishment of seedlings. The experiment was performed in an entirely randomized factorial scheme with 4 seed origins (Control, 0Cd0Mn, 5Cd and 5d400Mn) and 3 conditions (Control, 5Cd and 5Cd400Mn) with 4 repetitions each and divided into 2 stages. In the first stage, seeds were characterized as to their germination and imbibition curve and biochemical analyses were performed as to the content of H₂O₂, MDA, soluble and reducing sugars, proteins, amino acids, proline, besides the activity of SOD, CAT and APX in seeds collected 8 and 24 hours after the beginning of imbibition. In the second stage, the seeds were grown in soil for a period of 25 days followed by collection for the above biochemical analyses, in addition to cadmium and manganese quantification, chlorophyll a fluorescence and biomass. In general, it was possible to evidence the activity of SOD and APX mainly as possible indicators of transgenerational plasticity, besides verifying the influence of the origin of the seeds in the stages of germination and establishment. For seeds, the origin of the material promoted delays in soaking and germination, especially in seeds '5Cd400Mn' in relation to the others. In plants, the effects of the parent plant although little evidenced, were less preponderant than the cultivation condition. However, plants of '5Cd' and '5Cd400Mn' origin showed differences in photochemical capacity relative to the others in the presence of cadmium.

Keywords: Mother-plant. *Helianthus annuus*. Transgenerational transmission. Trace element.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	5
2.	REFERENCIAL TEÓRICO	6
2.1.	Impactos antropogênicos e fitorremediação	6
2.2.	Elementos traço e os efeitos do cádmio em plantas.....	10
2.3.	O papel do manganês nas plantas.....	12
2.4.	Transmissão transgeracional e o ‘efeito da planta-mãe’	13
3.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	15
3.1.	Descrição das condições de origem das sementes.....	15
3.2.	Curva de embebição	16
3.3.	Condução do experimento.....	17
3.3.1.	Experimento 1: Efeito da origem das sementes na germinação em condições similares às condições de cultivo da planta-mãe	17
3.3.2.	Experimento 2: Efeito da origem das sementes no crescimento de plântulas cultivadas em condições similares às condições de cultivo da planta-mãe	17
3.4.	Análises bioquímicas.....	17
3.4.1.	Peroxidação lipídica e teor de peróxido de hidrogênio.....	18
3.4.2.	Atividade enzimática do sistema antioxidante	18
3.4.3.	Proteínas totais, aminoácidos totais e prolina	19
3.4.4.	Açúcares solúveis e açúcares redutores	20
3.4.5.	Pigmentos fotossintéticos.....	21
3.5.	Fluorescência da clorofila <i>a</i>	21
3.6.	Análises morfológicas	21
3.7.	Quantificação de cádmio e manganês	22
3.8.	Análise estatística	22
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
5.	CONCLUSÃO	44
	REFERÊNCIAS	45

1. INTRODUÇÃO

A presença de diferentes elementos potencialmente tóxicos no ambiente constitui um dos principais impactos negativos das atividades antrópicas como o uso excessivo de fertilizantes, atividade mineradora e descarte incorreto de resíduos (ALI; KHAN; ILAHI, 2019). A concentração elevada destes elementos no solo aumenta a probabilidade de serem absorvidos por plantas, bioacumulados e se inserirem na cadeia alimentar. Dentre estes poluentes, elementos traço como cobre, cádmio, chumbo, níquel, entre outros requerem uma atenção devido ao risco à saúde humana, além de serem fitotóxicos à maior parte das espécies de plantas.

Altas concentrações de elementos traço no ambiente são capazes de afetar negativamente o crescimento e o desenvolvimento de plantas, inclusive a germinação, promovendo atrasos nestes processos e estresse oxidativo. Elementos traço como o cádmio, são capazes de competir por sítios de absorção com nutrientes essenciais, como o manganês, zinco, fósforo, magnésio, entre outros (QIN et al., 2020). Uma vez absorvidos pelas células vegetais, o cádmio pode também interagir com moléculas de DNA, alterando o padrão de condensação da cromatina (RIZWAN et al., 2016). Além disso, a capacidade de bioacumulação do cádmio em órgãos reprodutores e nas sementes e sua interação com o material genético constitui uma via de transmissão e herança de informações e respostas fisiológicas decorrentes do cádmio aos descendentes de plantas cultivadas em ambientes contaminados com este elemento.

Efeitos provenientes da planta-mãe são definidos como alterações fenotípicas nos descendentes devido às condições ambientais diferenciais vividas pelos indivíduos maternos (FERNÁNDEZ-FARNOCCHIA et al., 2019). A transmissão transgeracional de informações sobre ambientes estressantes pode estar atribuída à herança materna de plastídios e sementes, bem como o particionamento de proteínas, açúcares, nutrientes e outros metabólitos durante o desenvolvimento de sementes (WEISS et al., 2013).

Nesse contexto, poucos estudos abordam o uso de descendentes de plantas fitorremediadoras em uma matriz contaminada. Espécies como o girassol (*Helianthus annuus* L.) podem ser consideradas como planta modelo para este tipo de estudo, haja vista sua capacidade de se desenvolverem e gerarem uma grande quantidade de sementes nestes ambientes adversos, passíveis de bioacumularem cádmio e outros elementos como o manganês. Considerando ainda a presença de cádmio no ambiente, são ainda incipientes trabalhos envolvendo a capacidade deste elemento traço em propiciar a transmissão transgeracional de

características fisiológicas que possibilitem melhor aclimação da progênie nestas condições, denominada plasticidade transgeracional.

Com isso o trabalho parte da hipótese de que plantas provenientes de sementes de girassol contendo cádmio tendem a apresentar uma melhor aclimação em um ambiente também contaminado com este elemento. Desta forma, este trabalho objetivou compreender como a presença de cádmio e manganês em sementes de girassol oriundas de plantas cultivadas em solo contaminado, pode influenciar na germinação, estabelecimento, crescimento e desenvolvimento de descendentes quando sujeitos a condições de cultivo similares as enfrentadas pela planta-mãe durante a formação da progênie.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Impactos antropogênicos e fitorremediação

A intensificação da atividade antropogênica constitui um dos fatores capazes de propiciar impactos negativos no ambiente, pelo aumento do despejo de poluentes no solo e cursos d'água. Em grande parte, esses elementos poluentes são decorrentes de atividades como a mineração, metalurgia e pelo uso excessivo e/ou incorreto de fertilizantes durante o manejo agrícola (YOUSAF et al., 2016). Dentre estes poluentes, pode-se citar os elementos traço como principais contaminantes do solo. De forma geral, estes elementos são absorvidos pelo sistema radicular, podendo ser armazenados nesta região ou transportados até a parte aérea das plantas, onde podem ser acumulados e propiciar a introdução destes metais tóxicos na cadeia heterotrófica (TEKLIĆ et al., 2013; BALDANTONI et al., 2016).

Segundo CHEN et al. (2014), uma vez instaurada a contaminação por elementos traço em um ambiente, estes podem afetar negativamente a biodiversidade e atividade microbiana, assim como a fertilidade do solo a longo prazo. A retenção destes metais no solo pode influenciar no ciclo do carbono orgânico do solo, afetando também a fertilidade do mesmo (XU et al., 2018). Desta forma, a contaminação por elementos traço pode propiciar um desequilíbrio ecológico, influenciando na produtividade agrícola do local contaminado. Além disso, pode-se ainda expor o ser humano a níveis tóxicos destes elementos pelo consumo direto ou indireto, através da cadeia alimentar (MAO et al., 2015).

Considerando os impactos negativos da contaminação do solo por elementos traço, estratégias que visam a diminuição e/ou remoção destes elementos têm sido consideradas para recuperação destes ambientes. Ao longo do tempo, métodos químicos e físicos têm sido implementados para remediar o local contaminado, porém estes requerem um custo elevado e

apresentam alta complexidade durante sua aplicação (TANGAHU et al., 2011). Além disso, tais métodos podem alterar a dinâmica do solo e gerar poluentes secundários que, por necessitarem de gestão e tratamento, oneram o processo (KHALID et al., 2017).

Outro ponto a ser destacado está no fato de muitas das tecnologias convencionais de remoção de contaminantes serem frequentemente ineficientes quando estes encontram-se em baixas concentrações no solo (ALI; KHAN; SAJAD, 2013; DALCORSO et al., 2019). Após a proposta de criação de um conceito de gestão sustentável do solo em 2002 (VIK; EILEN; BARDOS, 2002), aliado à necessidade de tecnologias rentáveis e eficientes de remediação, houve uma crescente do chamado movimento GSR (*green and sustainable remediation*). Este movimento incentivou o desenvolvimento e adoção de metodologias ecologicamente amigáveis de remediação focadas no equilíbrio das implicações ambientais, sociais e econômicas, a curto e longo prazo, e não somente na remediação dos contaminantes (HOU et al., 2018; JIA et al., 2019).

A fitorremediação, inserida nesse contexto, consiste em uma estratégica baseada no uso de plantas capazes de extrair poluentes do solo ou reduzir a sua biodisponibilidade no ambiente (BERTI; CUNNINGHAN, 2000). É considerada uma técnica eficiente, economicamente viável e ajustável ao ambiente (JACOB et al., 2018; NEDJIMI, 2020). A fitorremediação pode ainda ser classificada em fitodegradação, fitofiltração, fitoextração, fitoestabilização e fitovolatilização, de acordo com as condições do solo, os poluentes e as espécies vegetais utilizadas.

A fitoestabilização consiste no uso de plantas resistentes para reduzirem a biodisponibilidade de elementos traço no solo através de imobilização por precipitação ou redução da valência destes elementos, alterando assim a mobilidade e absorção pelas células radiculares (GINN; SZYMANOWSKI; FEIN, 2008; GERHARDT; GERWING; GREENBERG, 2017). De maneira geral, plantas capazes de fitoestabilizar elementos traço tendem a apresentar sistemas radiculares bem desenvolvidos, capacidade de produção de biomassa elevada e baixa taxa de translocação de metais da raiz a parte aérea (ALKORTA; BECERRIL; GARBISU, 2010). Além disso, é comum observar nestas espécies associações simbióticas com fungos micorrízicos, capazes de auxiliar no processo de fitoestabilização (SIDDIQUEE et al., 2015).

A fitovolatilização é uma estratégia onde as plantas removem os contaminantes do solo e os liberam na atmosfera pelas folhas, através do fluxo transpiratório, após os converterem em

formas voláteis menos tóxicas (YAN et al., 2020). Dentre os principais contaminantes elementos traço, o selênio, mercúrio e arsênio são os principais alvos da técnica de volatilização, por apresentarem fácil volatilização após metabolização pelas plantas (MAHAR et al., 2016). Entretanto, a fitovolatilização constitui uma alternativa que apenas transfere os contaminantes do solo para atmosfera em formas voláteis menos tóxicas, mas que podem novamente retornar ao solo através de precipitação (VANGRONSVELD et al., 2009).

Entende-se por fitofiltração o processo onde contaminantes de cursos d'água ou superfícies de águas residuais são removidos pelas plantas, principalmente através do sistema radicular destas (rizofiltração) (YAN et al., 2020). Nesta técnica, as raízes adsorvem/absorvem os contaminantes presentes na matriz aquática, os precipitando através da liberação de exsudatos que alteram o pH da rizosfera e, desta forma, reduzem a mobilidade destes contaminantes (JAVED et al., 2019). Após este processo, as plantas são então coletadas e eliminadas (WUANA; OKIEIMEN, 2011). Algumas espécies terrestres como a mostarda oriental (*Brassica juncea*) e, a espécie em estudo neste trabalho, o girassol (*Helianthus annuus*) apresentam raízes mais longas e com grande área superficial quando comparadas com plantas aquáticas no geral e, por isso, têm sido estudadas como alternativas para acúmulo de contaminantes durante a rizofiltração (TOMÉ; RODRÍGUEZ; LOZANO, 2008; REZANIA et al., 2016).

Na fitodegradação, os contaminantes absorvidos pelas plantas são degradados a formas menos complexas e tóxicas, através do metabolismo vegetal no interior celular ou por ação de enzimas secretadas pelas plantas (SIVARAMAKRISHNAN et al., 2018). Após degradação, estes compostos mais simples serão incorporados e destinados ao crescimento da planta. Esta estratégia é bastante comum para tratamento de pesticidas, solventes orgânicos, além de compostos orgânicos ou inorgânicos presentes no meio (NEWMAN; REYNOLDS, 2004). A eficiência do processo relaciona-se com a eficiência da planta utilizada em absorver tais contaminantes, a concentração deles no meio e a atividade de enzimas comumente utilizadas para degradação dos compostos, como nitroreduases, desalogenases, lacases, peroxidases, entre outras (SIVARAMAKRISHNAN et al., 2018). Espécies como a mostarda oriental (*Brassica juncea*) e até mesmo arbóreas como o tulipeiro (*Liliodendron tulipifera*) têm sido estudadas biotecnologicamente como estratégia de plantas geneticamente modificadas com melhor potencial de fitodegradação (KÄRENLAMPI et al., 2000).

Já a fitoextração constitui uma das principais estratégias de fitorremediação e baseia-se no uso de plantas capazes de absorver contaminantes do meio e acumulá-los naturalmente como

biomassa nos tecidos acima do solo (ALI et al., 2013; SARWAR et al., 2017; JACOB et al., 2018). No contexto de elementos traço, estes são mobilizados para a rizosfera destas espécies, absorvidos pelas células radiculares, translocados para a parte aérea e compartimentalizados nestes tecidos (ALI et al., 2013).

Não somente para fitoextração, mas também nas demais vertentes da fitorremediação, a escolha e utilização das plantas em ambientes contaminados requer que estas apresentem elevada resistência aos efeitos celulares nocivos decorrentes da presença dos elementos traço. Outros aspectos desejáveis consistem em alta capacidade de extração e acúmulo de elementos traço nos tecidos da parte aérea, alta produção de biomassa com crescimento rápido desejado, sistemas radiculares bem desenvolvidos, fácil aclimatação às condições ambientais no qual a contaminação esteja instaurada e fácil cultivo. Além disso, é recomendável que tais plantas sejam repulsivas a herbívoros visando a não inserção de contaminantes na cadeia alimentar (ALI et al., 2013; SARWAR et al., 2017).

Plantas hiperacumuladoras têm ganhado destaque nas últimas décadas pelo seu potencial uso em ambientes contaminados por elementos traços, sendo mais recentemente alvos de estratégias biotecnológicas, como transformação genética e edição gênica, para melhorar suas performances frente tais contaminantes (RAI et al., 2020). Naturalmente, hiperacumuladoras podem acumular cerca de 100 vezes mais metais do que espécies não acumuladoras nas mesmas condições (RASCIO; NAVARI-IZZO, 2011). Atualmente, mais de 450 espécies de plantas, divididas em no mínimo 45 famílias de angiospermas, já foram identificadas como hiperacumuladoras de metais (SUMAN et al., 2018), incluindo desde ervas anuais a arbustos e árvores perenes (SALT; SMITH; RASKIN, 1998; DUSHENKOV, 2003). Espécies com alto rendimento de biomassa, como girassol, *Cannabis sativa*, tabaco e milho já foram relatadas com eficiente capacidade de remoção de elementos traço do solo (TLUSTOŠ et al., 2006).

O girassol (*Helianthus annuus* L.) é uma planta oleaginosa nativa da América do Norte e posteriormente difundida mundialmente. O interesse econômico na espécie se destaca principalmente em suas sementes, que podem ser destinadas ao uso como ração animal, à extração de óleo de valor agregado para fabricação de biodiesel ou até mesmo no consumo humano (LEITE et al., 2005). A versatilidade em seu uso está associada à sua adaptação a diferentes condições edafoclimáticas e características agrônômicas de interesse, como o seu rápido ciclo de cultural (entre 90 a 130 dias após semeadura) e alto potencial de produtividade agrícola atrelada a sua flexibilidade no período de semeadura (CASTRO et al., 1997). Além

disso, o girassol consiste em uma das espécies mais estudadas para a fitorremediação de solos contaminados por elementos traço, com maior potencial de absorção e tolerância aos mesmos (GAJDOS et al., 2012; BOONYAPOOKANA et al., 2005).

2.2. Elementos traço e os efeitos do cádmio em plantas

A contaminação de cursos d'água e do solo com elementos traço, inicialmente definidos como elementos de densidade acima de 5 g.cm^{-3} (HAWKES, 1997), potencialmente tóxicos constitui uma grande preocupação ambiental, tendo em vista o efeito negativo no crescimento e desenvolvimento de plantas aliado ao risco para a saúde humana através da cadeia alimentar (RIZWAN et al., 2016; SHAHEEN; RINKLEBE, 2015). Segundo a Resolução nº 420 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), valores de cádmio superiores a 3 mg.kg^{-1} e 5 mg.kg^{-1} já são considerados acima do limite praticável para solo e águas subterrâneas respectivamente, representando risco à saúde humana. Sabe-se que a presença de elementos traço nas células vegetais é capaz de afetar negativamente etapas cruciais do ciclo de vida de uma planta, como a germinação das sementes, fotossíntese e absorção de nutrientes minerais, além de levar a um desequilíbrio redox podendo culminar em estresse oxidativo (ANWAR et al., 2016; JABEEN et al., 2016; RIZWAN et al., 2016).

De forma geral, plantas podem absorver elementos traço encontrados na rizosfera por via simplástica, onde estes elementos atravessam a membrana plasmática das células por canais iônicos específicos, ou por via apoplástica entre as paredes celulares (THAKUR et al., 2016; CHAUDHARY; AGARWAL; KHAN, 2018). Alguns transportadores de metais já foram relatados no envolvimento de absorção celular de elementos traço, como é o caso de permeases Zn/Fe (ZIP), as proteínas macrofágicas associados à resistência natural (NRAMP), os trocadores catiônicos (CAXs), os facilitadores de difusão catiônica (CDF), entre outros (PINTO et al., 2014; SARWAR et al., 2017; CHANDRA; KUMAR; SINGH, 2018). Além disso, o acúmulo de elementos traço nas plantas é influenciado por características inerentes aos elementos traço como a solubilidade e mobilidade destes no solo ou água, taxa de translocação do elemento e também pela espécie (LASAT, 2002), podendo ocorrer em diferentes órgãos vegetais (KANWAR et al., 2020).

O cádmio, dentre os elementos traço, destaca-se pela sua alta mobilidade no solo e apresenta elevada toxidez para plantas e animais, devido sua alta solubilidade em condições fisiológicas (CHANEY, 2015; KABATA-PENDIAS, 2011). Em plantas, o cádmio é considerado um elemento não essencial e, devido sua configuração eletrônica, compete por

canais de absorção radicular como outros elementos divalentes essenciais, como por exemplo magnésio, zinco, ferro, cálcio e manganês (QIN et al., 2020).

Uma vez dentro das células, o cádmio é capaz de desencadear um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) por diferentes mecanismos. O cádmio pode interagir com proteínas substituindo o sítio de interação do ferro, o liberando no meio (MOULIS, 2010). Este por sua vez, é passível de sofrer reações de Fenton e Haber-Weiss que são fontes direta de geração de EROS, aumentando, assim, os seus níveis (CUYPERS et al., 2012). Outra possibilidade consiste na atuação inibitória de enzimas do sistema antioxidante ou estimulante de NADPH oxidases por cádmio, culminando no desbalanço entre a geração de EROS e atuação dos mecanismos antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos e consequente dano oxidativo (CUYPERS et al., 2012; SCHUTZENDUBEL; POLLE, 2002).

Alguns estudos mostram que a redução de biomassa de plantas cultivadas na presença de cádmio no solo pode ser um resultado indireto de um desbalanço nutricional. Segundo CARVALHO BERTOLI et al. (2012), a presença de cádmio em plântulas de tomate promoveu menores níveis de potássio, cálcio, manganês e zinco nos tecidos da parte aérea, menor quantidade de potássio nas frutas e teor reduzido de manganês no sistema radicular. Além disso, elementos como cobre e fósforo tiveram seu índice de translocação afetado na presença deste elemento traço.

Durante o processo germinativo, à medida que a semente é embebida e o tegumento torna-se mais permeável, a exposição ao cádmio nesta fase pode propiciar um incremento nos níveis deste metal nos tecidos internos da semente (SFAXI-BOUSBIH; CHAOUI; FERJANI, 2010). Sabe-se que o cádmio pode inibir a germinação de sementes por dois mecanismos principais (HUYBRECHTS et al., 2019). O primeiro consiste no comprometimento da absorção de água, limitando a disponibilidade de água nos tecidos embrionários em desenvolvimento, além de inibição da mobilização de amido do endosperma acompanhada de uma translocação deficiente de açúcares solúveis para o eixo embrionário (HUYBRECHTS et al., 2019).

O segundo mecanismo de atuação do cádmio na germinação consiste na indução de estresse oxidativo por elevação dos níveis de EROS (HUYBRECHTS et al., 2019). De acordo com SMIRI e colaboradores (2013), este estresse induzido foi capaz de oxidar isoformas de tioredoxina em sementes de ervilha (*Pisum sativum*), alterando o status redox celular. Além disso, SMIRI e colaboradores (2011) também verificaram que estas sementes apresentavam

níveis menores de glutaniona reduzida (GSH) e atividade da glutaciona redutase (GR) reduzida nas sementes sob exposição ao cádmio, indicando a presença de estresse oxidativo intracelular.

2.3. O papel do manganês nas plantas

O manganês é um elemento essencial para as plantas e está presente em diferentes processos do metabolismo vegetal, atuando como cofator enzimático, molécula antioxidante e até como catalizador de reações essenciais, como a fotossíntese. Estima-se que as plantas necessitam de cerca de 20 a 40 mg de Mn kg⁻¹ de matéria seca (MENGEL; KIRKBY, 1987), porém a maioria das plantas absorvem além do requisitado deste elemento, chegando a exibir entre 30 a 500 mg de Mn kg⁻¹ de matéria seca (MILLALEO et al., 2010).

Sintomas de deficiência por manganês, principalmente a clorose intervenal, acontecem quando a concentração deste elemento é inferior a 10 a 20 mg kg⁻¹ de matéria seca em lâminas foliares completamente expandidas, de maneira independente da espécie ou cultivar (EATON, 2015). Por outro lado, as plantas apresentam diferentes formas de responder ao excesso de manganês, resultando em valores de toxicidade distintos de acordo com a espécie ou cultivar. Por exemplo, plantas de milho apresentam inibição de crescimento em concentrações de 200 mg kg⁻¹ de matéria seca (EDWARDS; ASHER, 1981). No caso de plantas de girassol, a concentração tóxica do elemento encontra-se próxima de 5300 mg kg⁻¹ de matéria seca (EDWARDS; ASHER, 1981).

O manganês é um dos principais elementos divalentes constituintes das enzimas do metabolismo vegetal. Considerando o genoma de *Arabidopsis*, cerca de 398 enzimas já foram previstas em conter o manganês como elemento presente no sítio de ligação a metais e que 20% o requeriam como cofator enzimático (ALEJANDRO et al., 2020). Em relação à atividade enzimática, grande parte destas enzimas podem utilizar outros elementos divalentes, como cálcio, cobalto, magnésio, cobre ou zinco. Porém, há enzimas cuja atividade é induzida exclusivamente quando o manganês é o cofator, sendo o caso da MnSOD, oxalato oxidase e o complexo OEC (*Oxygen Envolving Center*) do PSII responsável pela oxidação da molécula de água durante a fotossíntese (ALEJANDRO et al., 2020).

O manganês possui um papel importante na manutenção da homeostase redox dentro das células (ALEJANDRO et al., 2017). Na mitocôndria e peroxissomos, atua como cofator de uma isoforma de SOD exclusiva destes compartimentos (CORPAS et al., 2017). Além disso, sua forma divalente é capaz de atuar como molécula antioxidante seja atuando sozinha ou

através da formação de complexos com moléculas de fosfato, a depender das concentrações locais dos dois elementos (REDDI et al., 2009; MCNAUGHTON et al., 2010).

Dentre as reações no qual o manganês participa, a mais estudada consiste na fotólise de moléculas de água no fotossistema II durante a fotossíntese (ALEJANDRO et al., 2020). Neste processo, o manganês, associado a moléculas de cálcio, formam um complexo (Mn_4O_5Ca) onde duas moléculas de H_2O são oxidadas a oxigênio molecular com liberação de quatro prótons e dois pares de elétrons (BRICKER et al., 2012). A presença do manganês no complexo permite uma geometria adequada para receber as moléculas de água, permitindo também um *turnover* de liberação de 25 a 90 moléculas de O_2 por segundo (NAJAFPOUR et al., 2016). Outro aspecto importante relacionado à fotossíntese, consiste na possibilidade de moléculas de Mn substituírem o magnésio do sítio ativo da RUBISCO, modulando sua atividade (BLOOM; LANCASTER, 2018).

A absorção e transporte de manganês pelas células vegetais ocorre majoritariamente por transportadores não específicos deste metal e isso, se relaciona com o transporte de outros elementos divalentes como ferro (Fe^{2+}), zinco (Zn^{2+}), cádmio (Cd^{2+}), cálcio (Ca^{2+}), cobalto (Co^{2+}), cobre (Cu^{2+}) e níquel (Ni^{2+}) (SOCHA; GUERINOT, 2014). Dentre os principais destaca-se os transportadores da família NRAMP (*Natural Resistance Associated Macrophage Protein*), ZIP (*Zinc/iron-regulated transporter-like protein*), YSL (*Yellow Stripe-Like Transporter*) e canais permeáveis ao cálcio (SOCHA; GUERINOT, 2014; SHAO et al., 2017).

2.4. Transmissão transgeracional e o ‘efeito da planta-mãe’

Durante o crescimento e desenvolvimento, as plantas apresentam respostas fisiológicas decorrentes das condições que são submetidas durante seu ciclo de vida (KNUDSEN et al., 2018). Este desempenho dinâmico em resposta ao ambiente é denominado plasticidade fenotípica e pode ser definido como a capacidade de um organismo de modificar características fisiológicas, morfológicas e/ou respostas em decorrência de oscilações ambientais abióticas e bióticas (WHITMAN; AGRAWAL, 2009).

Nesse contexto, quando as alterações de características fenotípicas são transmitidas verticalmente e expressas nos descendentes das plantas em função do ambiente, há o que se chama de plasticidade transgeracional (LATZEL; KLIMEŠOVÁ, 2010). Inicialmente, acreditava-se que este tipo de plasticidade resultava apenas em efeitos negativos em resposta de ambientes parentais estressantes, como a produção de sementes menores por plantas em limitação nutricional ou por estresse térmico (HERMAN; SULTAN, 2011). Posteriormente,

verificou-se que em alguns casos, este tipo de transmissão pode incluir alterações específicas que variam desde o particionamento de sementes e alterações bioquímicas até modificações epigenéticas, como a metilação do DNA (HERMAN; SULTAN, 2011; FERNÁNDEZ-FARNOCCHIA et al., 2019).

Pressupõe-se que a transmissão transgeracional de informação ocorra em situações onde o ambiente parental preveja de forma confiável o ambiente dos descendentes e a possibilidade de que a nova geração enfrente situações específicas similares aos seus antecessores (GALLOWAY, 2005). Do ponto de vista evolutivo, acredita-se que a plasticidade transgeracional aumenta a probabilidade de que os fenótipos dos descendentes sejam compatíveis com as condições do ambiente no qual ele será inserido (SIMON, 2011). Além disso, estima-se que a maior ocorrência deste tipo de transmissão ocorra em virtude de alterações vivenciadas pela planta-mãe (SIMON, 2011).

Em relação a transmissão transgeracional decorrente de fatores abióticos, WHITTLE e colaboradores (2009) verificaram possíveis respostas transgeracionais persistentes por até duas gerações de plantas de *Arabidopsis thaliana* submetidas a estresse térmico. Neste estudo, foi evidenciado que a progênie F3 aumentava a produção de sementes em até 5 vezes se as gerações F0 e F1 também tivessem sido expostas ao estresse térmico. Alterações edáficas também já foram avaliadas quanto à capacidade de transmissão entre gerações. Plantas de *Arabidopsis* e de arroz, cultivadas sob limitação de nitrogênio e sob estresse salino, apresentaram descendentes mais tolerantes a estas condições e com maior biomassa, por até duas gerações no caso das plantas de arroz (BOYKO et al., 2010; KOU et al., 2011).

Um dos mecanismos de transmissão de informação entre gerações consiste no particionamento das sementes e alocação diferencial de carboidratos, lipídios, proteínas e/ou biomoléculas como hormônios e mRNAs pela planta-mãe (HERMAN; SULTAN, 2011). Este processo é bastante influenciado pelas condições ambientais, geralmente limitantes como a falta de luz ou de nutrientes, e pode promover o desenvolvimento anormal dos descendentes (FENNER; THOMPSON, 2005). Algumas plantas conseguem manter ou otimizar o particionamento das sementes, de forma a garantir ou aumentar o sucesso da ambientação da progênie no ambiente (HERMAN; SULTAN, 2011). Todavia, a plasticidade transgeracional mediada por particionamento de sementes depende do cenário ecológico específico enfrentado pela nova geração (FERNÁNDEZ-FARNOCCHIA et al., 2019).

Em relação a elementos traço, alguns estudos em sementes de feijão-fava (*Vicia faba*) mostraram que a presença de cádmio é capaz de alterar o conteúdo de açúcares, proteínas e outros metabólitos (MOHSEN; GHORABA, 2016). No entanto, há poucos indícios e estudos que possam afirmar a ocorrência de transmissão transgeracional específica ao estresse por elementos traço. Utilizando duas cultivares (sensível e tolerante a Cd) de tomate, CARVALHO et al. (2018) verificaram que sementes originárias de plantas cultivadas na presença de cádmio mantiveram o conteúdo de elementos como magnésio, zinco, cálcio, entre outros inalterado em relação a plantas não expostas ao elemento traço. Além disso, durante reexposição ao cádmio, sementes oriundas de plantas previamente em contato com o elemento traço apresentaram germinação similar (cultivar sensível) ou superior (cultivar tolerante) em comparação às sementes cuja planta-mãe não teve contato prévio com o elemento (CARVALHO et al., 2018).

CARVALHO et al. (2018) também verificaram alterações na comunidade endofítica de sementes em resposta ao cádmio que podem estar relacionadas à melhor adaptação em regiões contaminadas por este elemento traço. TRUYENS et al. (2013) estimam que alterações na população endofítica de sementes de *Arabidopsis thaliana* podem constituir um mecanismo de transmissão transgeracional capazes de promover descendentes melhor adaptados às condições enfrentadas pelas gerações anteriores.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Crescimento e Desenvolvimento de Plantas e em casa de vegetação localizados no Setor de Fisiologia Vegetal, na Universidade Federal de Lavras (UFLA). A UFLA está situada na latitude 21°14' Sul e longitude 45°00' Oeste, a uma altitude de 918 m. De acordo com Koppen, a classificação do clima é Cwa, considerado quente e temperado, com uma temperatura média de 19,9 °C e pluviosidade anual de 1486 mm.

3.1. Descrição das condições de origem das sementes

As sementes utilizadas neste experimento são do híbrido simples de girassol HELIO250. Sendo uma parcela proveniente do lote comercial 04, produzidas no ano de 2019 pela empresa Heliagro Agricultura e Pecuária LTDA e outra proveniente da primeira geração de plantas oriundas deste lote cultivadas em latossolo vermelho, pH 6.4, contaminado com cádmio (Cd) em temperatura média de 22 ± 2 °C e umidade relativa de 24 ± 1 %. Para o experimento utilizou-se quatro grupos experimentais que diferem entre si quanto à origem das sementes utilizadas. São eles:

- Sementes ‘Controle’: são sementes do lote comercial original;
- Sementes ‘0Cd0Mn’: primeira geração de sementes provenientes de plantas cultivadas em solo sem adição de cádmio ou de manganês.
- Sementes ‘5Cd’: primeira geração de sementes provenientes de plantas cultivadas em solo contaminado com 5 mg. L⁻¹ de cádmio;
- Sementes ‘5Cd400Mn’: primeira geração de sementes provenientes de plantas cultivadas em solo contaminado com 5 mg. L⁻¹ de cádmio, porém acrescido de 400 mg. L⁻¹ de manganês.

Estas sementes, além da origem, diferem entre si em relação ao teor de cádmio e manganês encontrados em seus tecidos, conforme descrito na Tabela 01.

Tabela 01 – Teor de cádmio e manganês nas sementes de origem Controle, 0Cd0Mn, 5Cd e 5Cd400Mn.

IDENTIFICAÇÃO/ORIGEM	CÁDMIO (mg.kg ⁻¹)	MANGANÊS (mg.kg ⁻¹)
CONTROLE	nd	28.6980 ± 1.5519 ^B
0CD0MN	nd	25.1860 ± 0.3562 ^B
5CD	3.6390 ± 0.5052 ^B	43.1500 ± 0.1628 ^B
5CD400MN	8.1460 ± 0.2286 ^A	682.8205 ± 9.3268 ^A

Os valores representam média ± erro padrão. Letras comparam a diferença estatística entre as origens das sementes. Letras iguais indicam que não houve diferença estatística entre as variáveis a nível de significância de 5%. (nd) = não detectado.
 Fonte: Do autor (2021).

3.2. Curva de embebição

Para construção da curva de embebição de cada origem das sementes, quatro repetições contendo 25 sementes cada tiveram seu peso fresco inicial aferido e posteriormente embebidas em placas de Petri contendo papel de germinação umedecido com água destilada. Durante este procedimento, as sementes foram retiradas, tiveram suas superfícies secas com papel toalha, pesadas e posteriormente mantidas a temperatura ambiente (25 ± 2 °C). A cada intervalo de uma hora, o peso das sementes era novamente aferido até que houvesse estabilização do mesmo ou germinação das sementes.

A curva de embebição foi construída com base no peso das sementes ao longo do tempo em horas. Após a construção da curva, o padrão trifásico de embebição foi traçado para cada uma das origens analisadas e definiu-se 8 horas como sendo o período equivalente à metade da

fase II de germinação e 24 horas como sendo o período equivalente à terceira fase da germinação. Foi considerada a protrusão da radícula (2mm) como critério para germinação .

3.3. Condução do experimento

3.3.1. Experimento 1: Efeito da origem das sementes na germinação em condições similares às condições de cultivo da planta-mãe

Nesta primeira etapa, foram realizadas análises nas sementes coletadas nos dois tempos definidos após a obtenção da curva de embebição (8 e 24 horas). Nesta etapa, as quatro origens de sementes foram cultivadas em placas de Petri contendo papel de germinação e umedecidas com três soluções: (i) controle (água deionizada); (ii) 5Cd (solução de cádmio a 5 mg L⁻¹) e (iii) 5Cd400Mn (solução de cádmio a 5 mg L⁻¹ + solução de manganês a 400 mg L⁻¹), gerando um esquema fatorial 4x3 sendo 4 origens e 3 condições com 4 repetições cada. Estas então foram acondicionadas em câmara de germinação em fotoperíodo de 12 horas a 40 µmol fótons m⁻² s⁻¹, temperatura de 25 °C e umidade relativa de 60%. As amostragens foram realizadas nos períodos de 8 e 24 horas após semeadas nas placas.

3.3.2. Experimento 2: Efeito da origem das sementes no crescimento de plântulas cultivadas em condições similares às condições de cultivo da planta-mãe

Nesta segunda etapa, as quatro origens de sementes foram cultivadas em vasos de 10 L, contendo latossolo vermelho de pH 6.4 em temperatura média de 23 ± 2 °C e umidade relativa de 24 ± 1 %, em três condições de cultivo, sendo elas: (i) controle (solo não contaminado); (ii) 5Cd (solo contaminado com 5 mg. L⁻¹ de cádmio) e (iii) 5Cd400Mn (solo contaminado com 5 mg. L⁻¹ de cádmio acrescido de 400 mg. L⁻¹ de manganês), gerando um esquema fatorial 4x3 sendo 4 origens e 3 condições com 4 repetições cada. Os solos foram contaminados e mantidos em incubação antes que houvesse a semeadura e após 25 dias de cultivo foi realizada a coleta de material para as análises.

3.4. Análises bioquímicas

As análises bioquímicas foram realizadas em sementes coletadas às 8 horas e 24 horas de cada tratamento após o início da embebição (Experimento 1) e também em raízes e folhas das plantas coletadas após 25 dias (Experimento 2), quando atingiram o estágio fenológico V3 (três pares de folha completamente expandidos), cultivadas igualmente nos tratamentos supracitados. Todo o material coletado foi armazenado em freezer a -80 °C até o momento das

análises. No caso de sementes, foram retirados os tegumentos antes de serem maceradas para os ensaios bioquímicos.

3.4.1. Peroxidação lipídica e teor de peróxido de hidrogênio

A quantificação de peroxidação lipídica em plantas ocorreu conforme o método do ácido tiobarbitúrico, descrito por HEATH E PACKER (1968) e modificado por PEIXOTO et al. (1999). 100 mg de cada uma das amostras vegetais foram maceradas em nitrogênio líquido e polivinilpolipirrolidona (PVPP) e posteriormente homogeneizado em 1 mL de TCA 1% (v/v) e centrifugado a 12000 g por 15 min a 4 °C. Uma alíquota do sobrenadante foi submetida à reação com um meio de reação composto por ácido tiobarbitúrico 0,5% e TCA 20% e mantida em banho maria a 95 °C durante 30 min. Após resfriamento e paralização da reação em banho de gelo, as amostras foram lidas em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 535 nm e 600 nm e através de cálculos específicos a peroxidação lipídica foi estimada.

Para sementes utilizou-se protocolo de DU E BRAMLAGE (1992), onde a extração é realizada com etanol 80% acrescido de BHT, centrifugado a 10000g por 10 min a 4 °C, sendo este procedimento realizado 3 vezes. Posteriormente, adicionou-se uma alíquota de sobrenadante ao meio de reação composto por ácido tiobarbitúrico 0,65%, BHT 0,01% e TCA 20% e mantida em banho maria a 95 °C durante 25 min. Logo após resfriamento, fez-se a leitura nos comprimentos de onda de 400, 532 e 600 nm, estimando a concentração de MDA através de cálculos específicos.

Os níveis de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) foram quantificados pelo método de VELIKOVA et al. (2000). Pelo método, 100 mg de material vegetal foram maceradas em nitrogênio líquido, homogeneizados com 1 mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% e centrifugadas a 12000g por 15 minutos a 4 °C. A alíquota do sobrenadante resultante da centrifugação foi solubilizada com tampão fosfato de potássio (KH₂PO₄) 10 mM, pH 7,0 e iodeto de potássio (KI) a 1M. Posteriormente, estas amostras foram analisadas em espectrofotômetro com leitura da absorbância à 390 nm e os níveis de H₂O₂ foram quantificados por meio de comparação com curva padrão.

3.4.2. Atividade enzimática do sistema antioxidante

Para a extração enzimática de catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e ascorbato peroxidase (APX), cerca de 100 mg de matéria fresca foram maceradas em nitrogênio líquido

e polivinilpirrolidona (PVPP), homogeneizadas com 1 mL de tampão fosfato (100 mM pH 7,8) contendo ácido etilenodiaminatetracético (EDTA) 100 mM e ácido ascórbico 1 mM.

O meio de reação para CAT consistiu em tampão fosfato de potássio 67 mM (pH 7,0), H₂O₂ 10 mM e a alíquota do extrato enzimático. O consumo de H₂O₂ foi mensurado seguindo sua absorvância a 240 nm (ANDERSON; PRASAD; STEWART, 1995).

A atividade da SOD foi mensurada em meio de reação contendo 50 mM de tampão fosfato (pH 7,8) 50 mM, L-metionina 13 mM, EDTA 0,1 mM, riboflavina 0,002 mM e NBT 0,075 mM, segundo descrito por GIANNOPOLITIS E RIES (1977). A reação ocorreu em luz fluorescente (15 W) durante 7 minutos. O composto azul de formazan, derivado da redução do NBT, foi quantificado espectrofotometricamente a 575 nm. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para inibir em 50% a redução do NBT.

A atividade da APX foi aferida em meio composto por tampão fosfato (pH 7,0) 50 mM, ácido ascórbico 0,5 mM, H₂O₂ 2 mM e a alíquota do extrato enzimático. A oxidação de ascorbato foi acompanhada à 290 nm seguindo o descrito por NAKANO E ASADA (1981).

3.4.3. Proteínas totais, aminoácidos totais e prolina

Para extração de proteínas, aproximadamente 100 mg de matéria fresca de cada parcela experimental de sementes e plântulas foram maceradas juntamente com nitrogênio líquido e polivinilpirrolidona (PVPP) antes da homogeneização, realizada em 10 mL de tampão fosfato de potássio (KH₂PO₄) (100 mM, pH 8), acrescido de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 0,1 mM e ácido ascórbico (C₆H₈O₆) 10 mM. O material resultante foi centrifugado a 13000 g durante 10 min, em temperatura de 4 °C, sendo o sobrenadante utilizado para as análises específicas.

A determinação de proteínas se deu de acordo com o método de BRADFORD (1976), utilizando o corante Comassie Blue G-250, H₃PO₄ 85% (v/v) e etanol 95% (v/v). Durante o procedimento, 100 mg de Comassie Blue G-250 foram diluídos em 50 ml de etanol 95%, acrescentando 100 mL de H₃PO₄ 85% e posteriormente tendo o volume completado para 1 L com água destilada. Para a quantificação, 100 µL do extrato enzimático bruto foram acrescidos de 5 mL do reagente preparado, seguindo de agitação em vórtex e repouso por 5 minutos à temperatura ambiente após agitação. A absorvância de cada amostra foi lida em um espectrofotômetro no comprimento de onda de 595 nm. Ao final, o teor de proteínas pôde ser

determinado por intermédio de curva de calibração, fazendo uso de albumina de soro bovino (BSA) 1 mg. mL⁻¹ como padrão.

A quantificação de aminoácidos totais foi feita segundo YEMM E COCKING (1955). Segundo este método, a 1 mL de extrato adiciona-se 500 µL de tampão citrato de sódio 0,2 M pH 5,8, 200 µL de uma solução de ninhidrina 5% (m/v) diluída em éter monometílico de etilenoglicol acrescido de 1 mL de solução KCN 0,0002 M. Este mix foi então aquecido a 100° C em banho-maria por 20 minutos e, após resfriamento, acrescentou-se 1 mL de álcool etílico 60%. Posteriormente realizou-se leitura de alíquota deste ensaio em espectrofotômetro no comprimento de onda de 570 nm, sendo os resultados expressos em µmol.g⁻¹ MS.

O método utilizado para quantificação de prolina foi o descrito por CARILLO E GIBBON (2011) contendo algumas modificações. 100 mg de matéria fresca foram homogeneizadas com etanol 60% e centrifugadas a 14000g durante 5 minutos. Em um tubo de ensaio contendo 500 µL do sobrenadante, foi adicionado 1 ml de ninhidrina 1% em ácido acético 60% e etanol 20%. Posteriormente, foi aquecido por 20 minutos em banho-maria a 95° C, seguido de resfriamento em banho de gelo. Após resfriada, à solução foram acrescidos 1 ml de etanol 60% e depois realizada leitura em espectrofotômetro a 520 nm. As absorbâncias obtidas foram comparadas com uma curva-padrão de prolina e os resultados foram expressos em µg.mg⁻¹MF.

3.4.4. Açúcares solúveis e açúcares redutores

A quantificação de açúcares solúveis totais ocorreu de acordo com o método de antrona (hidroxiantraceno). 40 mg de antrona foram pesadas e adicionadas à 1 mL de água destilada, seguido de um incremento de 20 mL de ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄) a solução. Posteriormente, alíquotas do extrato bruto foram submetidas a reação com a solução de antrona mantendo-se o sistema em banho de gelo. Em seguida, a solução resultante foi levemente agitada e levada à banho-maria a 100 °C durante três minutos. Por fim, fez-se a leitura da solução em espectrofotômetro no comprimento de onda de 620 nm.

A quantificação de açúcares redutores foi baseada na metodologia por DNS, que contém os seguintes reagentes: ácido dinitrossalicílico (DNS), hidróxido de sódio, tartarato de sódio e potássio (KNaC₄H₄O₆·4H₂O) (sal de Rochelle) e glicose 10 mM. O preparo da solução estoque consistiu na adição de 50 mL de hidróxido de sódio a 2,5 g de DNS e 125 mL de água destilada, sendo esta agitada até a sua total dissolução. Posteriormente, foram adicionados 75 g de sal de Rochelle, completando o volume da solução para 250 mL utilizando água destilada. O

recipiente contendo esta solução foi coberto com papel alumínio devido a sua instabilidade na presença de luz e CO₂. Após o preparo da solução de DNS, adicionou-se o extrato bruto sob agitação em vórtex. Posteriormente, esta solução foi mantida em banho-maria a 100°C durante cinco minutos. Após o resfriamento, as leituras em espectrofotômetro foram realizadas no comprimento de onda de 540 nm.

3.4.5. Pigmentos fotossintéticos

Para a quantificação dos pigmentos, aproximadamente 100 mg de tecido foliar foram macerados em 5 mL de acetona 80% (v/v) e filtrado em lã de vidro. Os extratos de cada parcela foram completados para o volume de 10 mL e mantidos em condições de baixa luminosidade.

As concentrações de clorofila a e b foram determinadas utilizando-se a medida da absorbância dos extratos, lidas em espectrofotômetro a 663 e 646 nm, enquanto que os carotenoides fazem uso de leitura a 470 nm. A determinação das clorofilas a e b e dos carotenoides totais ocorreu de acordo com os cálculos propostos por LICHTENTHALER (1987).

3.5. Fluorescência da clorofila a

As análises fotoquímicas foram realizadas em folhas totalmente expandidas com o fluorômetro portátil Mini-PAM (Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Alemanha). A fluorescência inicial (F₀) foi obtida após exposição de 0,3 μmol de fótons.m⁻².s⁻¹ a tecidos foliares previamente aclimatados ao escuro por 40 minutos. Posteriormente, a fluorescência máxima (F_m) foi obtida por meio de pulso de luz saturante (10.000 μmol de fótons.m⁻².s⁻¹). A eficiência quântica máxima do FSII foi calculada pela relação descrita abaixo.

$$\frac{Fv}{Fm} = \frac{(Fm - F_0)}{Fm}$$

Já o rendimento quântico efetivo do fotossistema II foi obtido pela equação descrita abaixo:

$$\Phi_{II} = \frac{(Fm' - F)}{Fm'}$$

As medições foram realizadas ao término de 25 dias após a semeadura das sementes, com as plantas de girassol em seu estágio V3 de desenvolvimento.

3.6. Análises morfológicas

Quatro repetições de plantas de cada tratamento foram coletadas após 25 dias de crescimento para as análises de massa fresca e matéria seca e medidas de comprimento da parte aérea e das raízes.

3.7. Quantificação de cádmio e manganês

Amostras de solo e plantas, bem como as sementes de diferentes origens, foram utilizadas para quantificar cádmio e manganês. A quantificação destes metais ocorreu por uso de espectrometria de emissão óptica em plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) após digestão com ácido nitroperclórico concentrado. Os resultados são expressos em mg.kg^{-1} de material.

O fator de bioacumulação (FB) foi calculado baseado no proposto por ZAYED et al. (1998) segundo a fórmula a seguir:

$$FB = \frac{\text{concentração de metal na plântula (mg.kg}^{-1} \text{ MS)}}{\text{concentração de metal no solo (mg.kg}^{-1} \text{ MS)}}$$

3.8. Análise estatística

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado em fatorial 4x3, contando com 4 origens de sementes e três condições de cultivo, com 4 repetições cada. Os dados foram verificados quanto sua distribuição por meio da análise de variância (ANOVA) e, em caso de normalidade, tiveram suas médias comparadas por teste de Tukey a nível de significância de 5%, através do software estatístico RBio. Dados não paramétricos foram avaliados pelo teste de Kruskal-Wallis e analisados pela correlação de Spearman ou pela Análise de Componentes Principais (PCA).

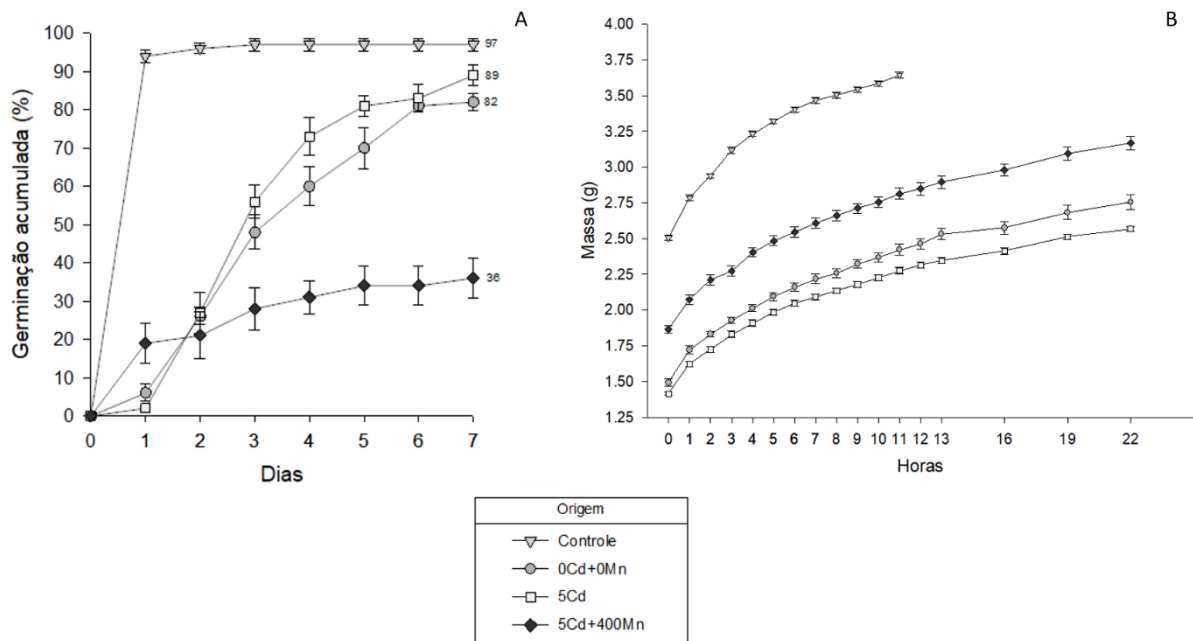
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A origem das sementes influenciou o processo de embebição (FIGURA 1B) e germinação das sementes (FIGURA 1A). As sementes ‘5Cd400Mn’ apresentaram um atraso durante a embebição, estendendo o período correspondente à fase II da germinação em aproximadamente 16 horas, enquanto que para as sementes ‘Controle’ esta fase durou cerca de 8 horas. Quando verificado a porcentagem de germinação, este atraso refletiu em uma menor porcentagem de germinação (36%).

Esta baixa porcentagem de germinação das sementes ‘5Cd400Mn’ pode estar relacionada a maior presença de manganês que possivelmente acelerou a lignificação do

tegumento, atrasando a absorção de água e consequentemente reduzindo a germinação. O manganês envolve-se na rota de biossíntese de lignina em dois momentos. Primeiramente, pode atuar como cofator enzimático da fenilalanina amônia liase (PAL), além do magnésio, aumentando a síntese de monolignóis pela via de fenilpropanoides (Engelsma, 1972). Posteriormente, os íons manganês em sua forma trivalente (Mn^{3+}) podem oxidar os monolignóis, gerando compostos que serão adicionados a grupos fenóis que resultam nas cadeias de lignina (ÖNNERUD et al., 2002). Outra possibilidade consiste na atuação inibitória do cádmio, que também encontra-se elevado nesta origem de semente, aos canais de aquaporina, limitando por sua vez a permeabilidade da água aos tecidos das sementes (PRZEDPELSKA-WASOWICZ; WIERZBICKA, 2011).

Figura 1 – Germinação acumulada (A) e curva de embebição (B) de sementes de girassol das origens Controle, 0Cd0Mn, 5Cd e 5Cd400Mn.



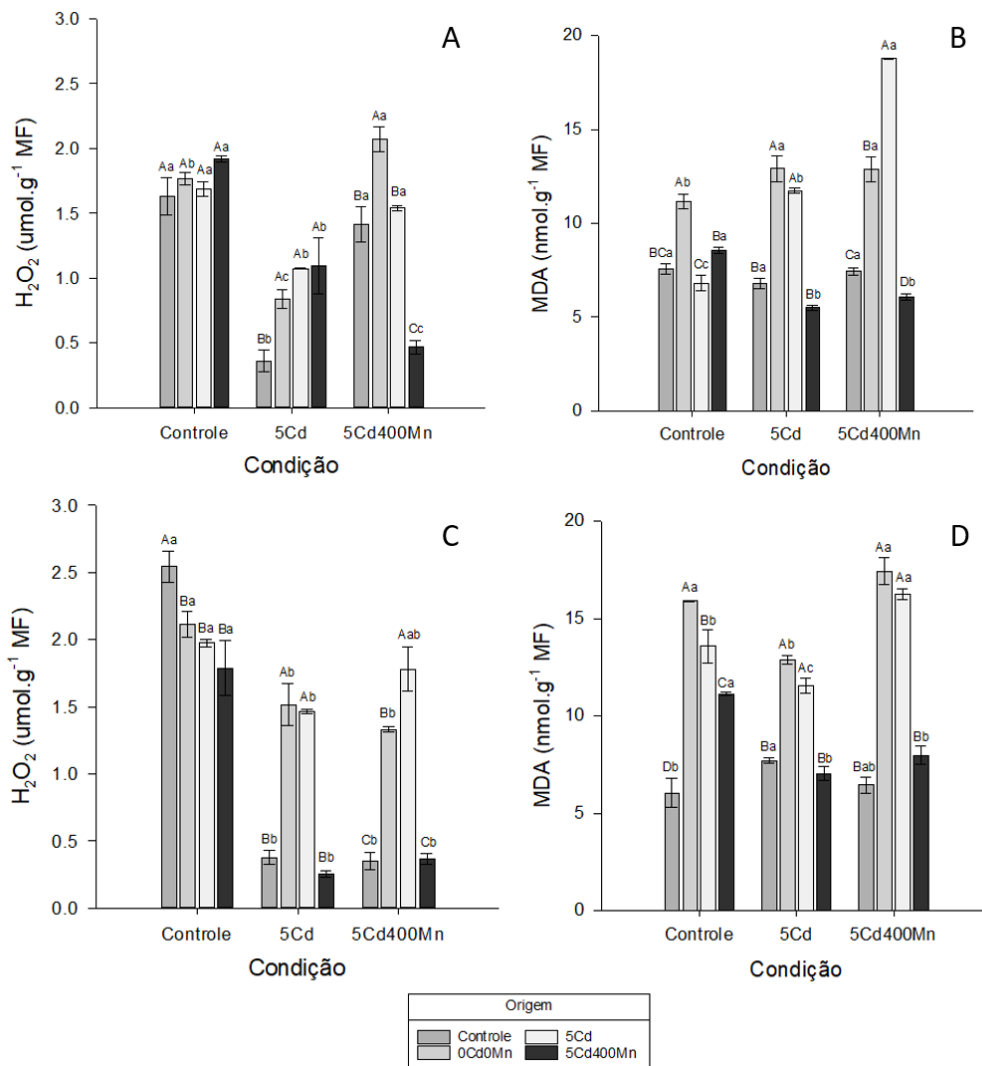
Valores expressos como média \pm erro padrão. Fonte: Do autor (2021).

Quando avaliados os níveis endógenos de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), verificou-se que, com 8 horas de embebição (FIGURA 2A), as sementes de origem '5Cd400Mn' apresentaram valores inferiores quando submetidas ao tratamento contendo 5 mg. L^{-1} de cádmio acrescido de 400 mg. L^{-1} de manganês (5Cd400Mn). A presença de manganês no meio externo contribuiu para a redução de H_2O_2 nas sementes '5Cd400Mn', enquanto que para sementes '5Cd' esta presença estimulou um aumento de peróxido de hidrogênio. Às 24 horas (FIGURA 2C), a presença de cádmio no meio promoveu os menores valores de H_2O_2 nas sementes de origem '5Cd400Mn' e 'Controle', independente da presença de manganês ou não associado ao

meio. Por outro lado, sementes '5Cd', assim como a origem '0Cd0Mn' apresentaram valores superiores de H₂O₂ nestas mesmas condições.

A peroxidação lipídica, mensurada pelo marcador malondialdeído (MDA), nas sementes avaliadas às 8 horas demonstrou um comportamento antagônico entre as origens '5Cd' e '5Cd400Mn' (FIGURA 2B). Sementes '5Cd' apresentaram maiores quantidades de MDA em relação ao tratamento controle, enquanto que sementes '5Cd400Mn' tiveram valores de MDA inferiores comparado aos valores das sementes do tratamento controle. Quando avaliadas em 24 horas de embebição, este comportamento se mantém apenas para a origem '5Cd400Mn' (FIGURA 2D). Já a origem '5Cd' apresentou níveis de MDA similares nas demais condições avaliadas.

Figura 2 - Peróxido de hidrogênio (A e C) e peroxidação lipídica (B e D), mensurada pelo marcador malondialdeído (MDA), em sementes de girassol das origens Controle, 0Cd0Mn, 5Cd e 5Cd400Mn, cultivadas em meio sem cádmio (Controle), com 5mg.L⁻¹ de cádmio (5Cd) e com 5mg.L⁻¹ de cádmio + 400 mg.L⁻¹ de manganês (5Cd400Mn), às 8 e 24 horas após o início da embebição.



(A) e (B) consistem em análises nos materiais coletados 8 horas após embebição. (C) e (D) consistem em análises nos materiais coletados 24 horas após embebição. Barras representam valores de média \pm erro padrão. Letras maiúsculas comparam a diferença estatística entre as origens de semente dentro de um tratamento, enquanto que letras minúsculas comparam as origens entre os tratamentos. Letras iguais indicam que não houve diferença estatística entre as variáveis a nível de significância de 5%. Fonte: Do autor (2021).

Sabe-se que manganês e cádmio competem pelos mesmos transportadores, como por exemplo os da família NRAMP e ZIP e também pelo mesmo sítio de interação a outras moléculas devido à similaridade eletrônica (SHAO et al., 2017). Desta forma, por possuir um elevado teor de manganês e em maior quantidade comparado ao cádmio, pode-se inferir que sementes ‘5Cd400Mn’ tenham evitado maiores efeitos tóxicos do metal por competição do manganês com cádmio, evidenciado pelos valores inferiores de H₂O₂ e MDA. Por outro lado, uma menor quantidade endógena de manganês nas sementes ‘5Cd’ em comparação à origem ‘5Cd400Mn’, associado a quantidades similares de manganês e cádmio, pode estar relacionado a não competição entre estes elementos de forma tão proeminente. Nesta possibilidade, haveria uma maior interação do cádmio a outras moléculas, levando a maiores efeitos tóxicos por

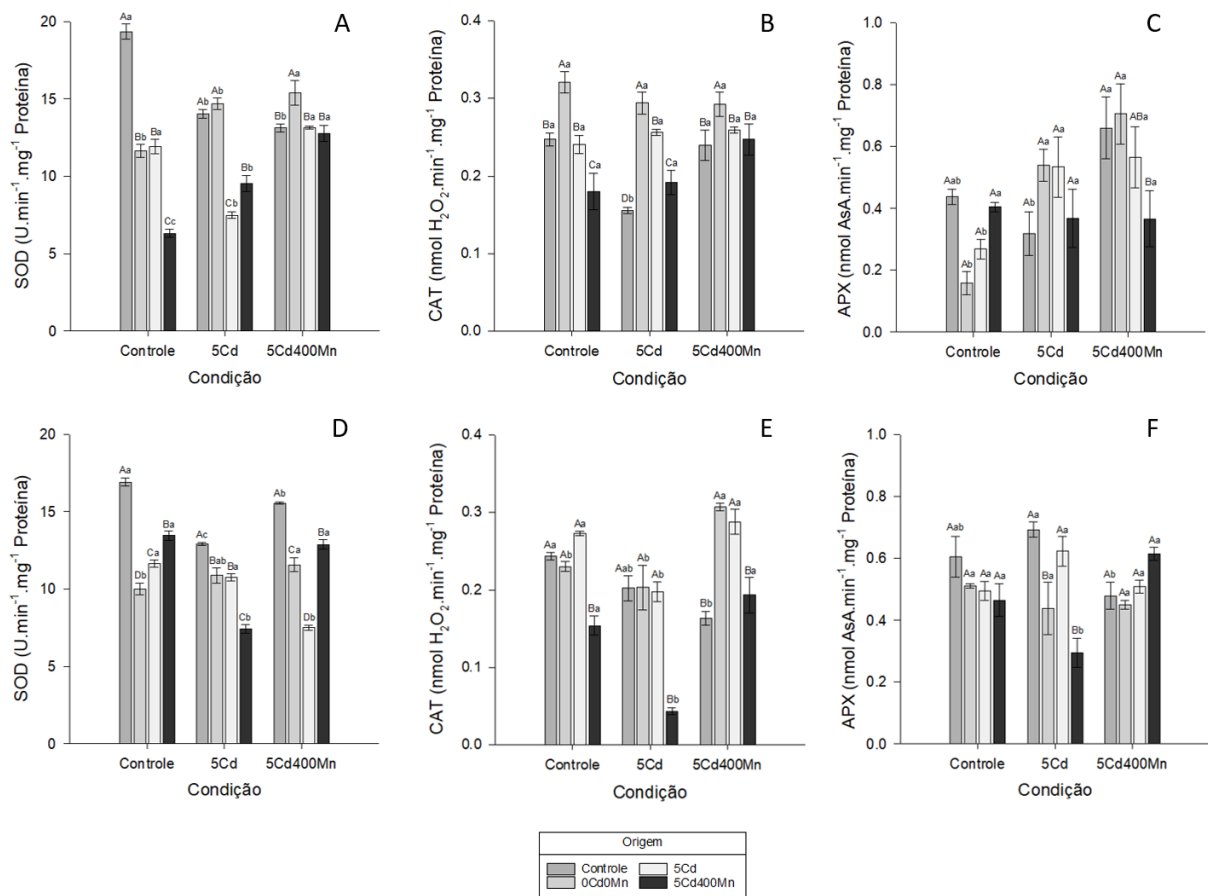
estresse oxidativo, uma vez que os níveis de peróxido de hidrogênio e MDA mantiveram-se elevados tanto às 8 e 24 horas, na condição contendo cádmio e manganês no meio externo.

Para a atividade da SOD, observou-se que às 8 horas, as principais origens afetadas negativamente pela condição '5Cd' foram as sementes '5Cd' e '5Cd400Mn' que apresentaram as menores atividades específicas nesta condição (FIGURA 3A). Na condição com manganês no ambiente (5Cd400Mn), ambas as sementes apresentaram um incremento da atividade da SOD. Para as sementes avaliadas em 24 horas em todas as condições submetidas, as sementes 'Controle' apresentaram atividade superior comparadas as demais origens de sementes (FIGURA 3D). Sementes '5Cd400Mn' também apresentaram atividade superior de SOD na condição '5Cd400Mn', o que segundo MULLER et al. (2009), pode estar relacionado com o incremento de ROS decorrente do crescimento da radícula e posterior protrusão.

Quanto às atividades específicas de CAT, após 8 horas de embebição, sementes de origem 'Controle' apresentaram atividades superiores em todos os tratamentos, e apenas esta origem apresentou diferença nas condições distintas (FIGURA 3B). Em 24 horas, destaca-se que as sementes de origem '5Cd400Mn' apresentaram os menores valores de atividade em todas as condições estudadas, no entanto, quando na presença de manganês associado ao cádmio, verificou-se uma elevação na atividade desta enzima, assim como nas sementes de origem '5Cd' (FIGURA 3E).

Em relação a atividade da APX, as sementes de origem '0Cd0Mn' e '5Cd' apresentaram maiores atividades na presença de cádmio e cádmio+manganês, após 8 horas de embebição (FIGURA 3C). Às 24 horas, as sementes de origem '5Cd400Mn' mostraram um padrão de resposta semelhante ao observado para atividade da CAT (FIGURA 3F), onde na presença de manganês verificou-se maior atividade enzimática em comparação com a condição '5Cd'.

Figura 3 – Atividade das enzimas constituintes do sistema antioxidante enzimático: superóxido dismutase (A, D), catalase (B, E) e ascorbato peroxidase (C, F) em sementes de girassol das origens Controle, 0Cd0Mn, 5Cd e 5Cd400Mn, cultivadas em meio sem cádmio (Controle), com 5 mg.L⁻¹ de cádmio (5Cd) e com 5mg.L⁻¹ de cádmio + 400 mg.L⁻¹ de manganês (5Cd400Mn) às 8 e 24 horas após o início da embebição.



(A), (B) e (C) consistem em análises nos materiais coletados 8 horas após embebição. (D), (E) e (F) consistem em análises nos materiais coletados 24 horas após embebição. Barras representam valores de média \pm erro padrão. Letras maiúsculas comparam a diferença estatística entre as origens de semente dentro de um tratamento, enquanto que letras minúsculas comparam as origens entre os tratamentos. Letras iguais indicam que não houve diferença estatística entre as variáveis a nível de significância de 5%. Fonte: Do autor (2021).

Durante a fase II do processo de embebição, correspondente ao período de 8 horas nas plantas avaliadas, ocorre a reativação metabólica posterior a hidratação inicial dos tecidos da semente, com aumento da atividade respiratória e provável aumento dos níveis de ROS (DIAZ-VIVANCOS; BARBA-ESPÍN; HERNÁNDEZ, 2013). Para manutenção dos níveis destas espécies reativas dentro de uma 'janela oxidativa' com fins de sinalização, durante a embebição ocorre um aumento dos níveis de alguns componentes do sistema antioxidante celular (BAILLY; EL-MAAROUF-BOUTEAU; CORBINEAU, 2008). Assim como verificado neste estudo, BICALHO e colaboradores (2019), analisando a germinação de *Butia capitata*, também verificaram um aumento da atividade de SOD, como estratégia da espécie em manter a homeostase redox após a embebição das sementes.

Na fase II da embebição, um dos sítios ativos de geração de EROS consiste na mitocôndria durante o metabolismo respiratório. Nesta organela, há predominância de atuação

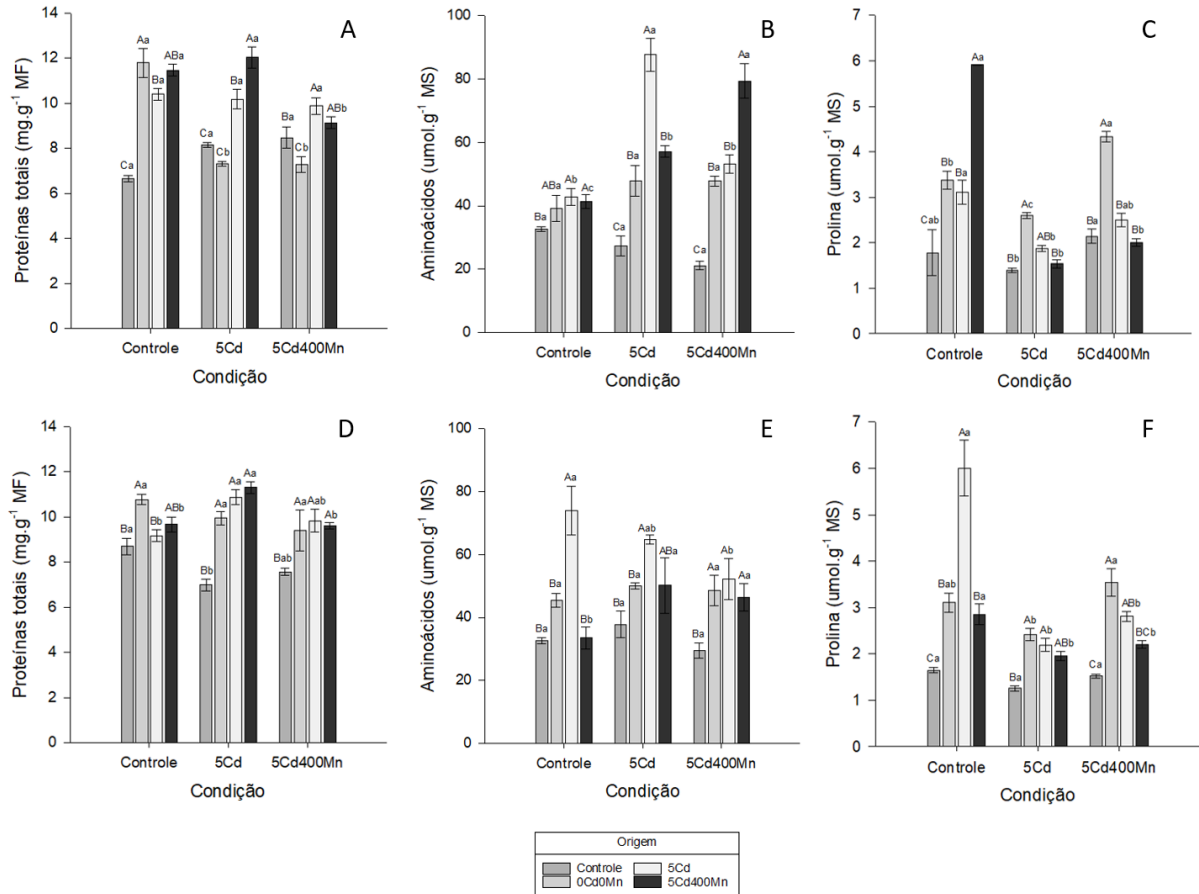
de SOD, dentre elas uma isoforma de SOD dependente de manganês (CORPAS et al., 2017). Os resultados de SOD podem indicar que sementes '5Cd400Mn' tem uma maior atividade da enzima, tanto às 8 quanto 24 horas, devido ao maior teor de manganês interno que atuaria competindo com o cádmio pelo sítio de cofator da SOD, atenuando os efeitos inibitórios deste elemento traço a atividade enzimática. Além disso, a maior disponibilidade de manganês no meio externo é capaz de aumentar a atividade de SOD nas sementes de origem '5Cd' durante o processo de embebição, também pela atenuação da ação do cádmio sobre a atividade das SODs encontradas nestes sítios ativos de geração de ROS.

Em relação às concentrações de proteínas solúveis totais, no período de 8 horas, observou-se um decréscimo nos valores em relação às condições para as origens '0Cd0Mn' e '5Cd400Mn' (FIGURA 4A). A condição contendo 5 mg.L⁻¹ de cádmio ('5Cd') propiciou os maiores níveis de proteínas para as origens '5Cd' e '5Cd400Mn'. Este mesmo comportamento pode ser observado após 24 horas de embebição para ambas as origens. Às 24 horas, a origem 'Controle' apresentou um decréscimo dos níveis de proteína quando submetidas às condições contendo cádmio (FIGURA D).

Associado aos níveis de aminoácidos é possível perceber que a redução verificada nos níveis de proteínas para a origem '5Cd400Mn' da condição contendo cádmio e manganês em relação àquela contendo apenas cádmio refletiu em um aumento nos níveis de aminoácidos às 8 horas, indicando que a presença de manganês no meio contribuiu para uma maior proteólise ou que tenha comprometido a síntese proteica (FIGURA 4B). De forma contrária, ainda às 8 horas, verificou-se que as sementes de origem '5Cd' apresentaram uma redução dos níveis de aminoácidos na presença de manganês no meio, indicando que possivelmente a presença deste elemento tenha atenuado a proteólise para esta origem. Às 24 horas, o maior nível de aminoácidos foi verificado nas sementes de origem '5Cd' em todas as condições (FIGURA 4E).

Os níveis de prolina mostraram que na condição 'Controle', sementes de origem '5Cd400Mn' apresentam os maiores níveis deste aminoácido às 8 horas (FIGURA 4C). De forma geral, todas as origens reduziram os níveis de prolina quando expostas a condição '5Cd' e somente a origem '0Cd0Mn' apresentou incremento de prolina no meio contendo manganês tanto às 8 quanto em 24 horas. Às 24 horas, sementes de origem '5Cd' na condição controle, tiveram um pico de prolina que, assim como as demais, diminuiu na condição com 5 mg.L⁻¹ de cádmio (FIGURA 4F).

Figura 4 – Conteúdo de proteínas (A, D), aminoácidos (B, E) e prolina (C, F) em sementes de girassol das origens Controle, 0Cd0Mn, 5Cd e 5Cd400Mn, cultivadas em meio sem cádmio (Controle), com 5mg.L^{-1} de cádmio (5Cd) e com 5mg.L^{-1} de cádmio + 400mg.L^{-1} de manganês (5Cd400Mn) às 8 e 24 horas após o início da embebição.



(A), (B) e (C) consistem em análises nos materiais coletados 8 horas após embebição. (D), (E) e (F) consistem em análises nos materiais coletados 24 horas após embebição. Barras representam valores de média \pm erro padrão. Letras maiúsculas comparam a diferença estatística entre as origens de semente dentro de um tratamento, enquanto que letras minúsculas comparam as origens entre os tratamentos. Letras iguais indicam que não houve diferença estatística entre as variáveis a nível de significância de 5%. Fonte: Do autor (2021).

Considerando que o cádmio pode competir com estes três elementos, pode-se inferir que as sementes de origem '5Cd400Mn', mesmo apresentando níveis elevados de cádmio, não apresentaram impactos na atividade destas proteases, devido aos níveis de manganês endógeno elevado que atuaram mitigando o efeito inibitório do elemento traço. Por outro lado, a origem '5Cd', quando exposta ao meio contendo cádmio e manganês pode ter absorvido maior quantidade de cádmio que, por competição, reduziu ou inibiu a atividade das proteases, levando a um menor nível de aminoácidos. Além disso, acredita-se que o cádmio esteja relacionado com uma menor alocação de nitrogênio (pelos aminoácidos livres) destinadas ao desenvolvimento

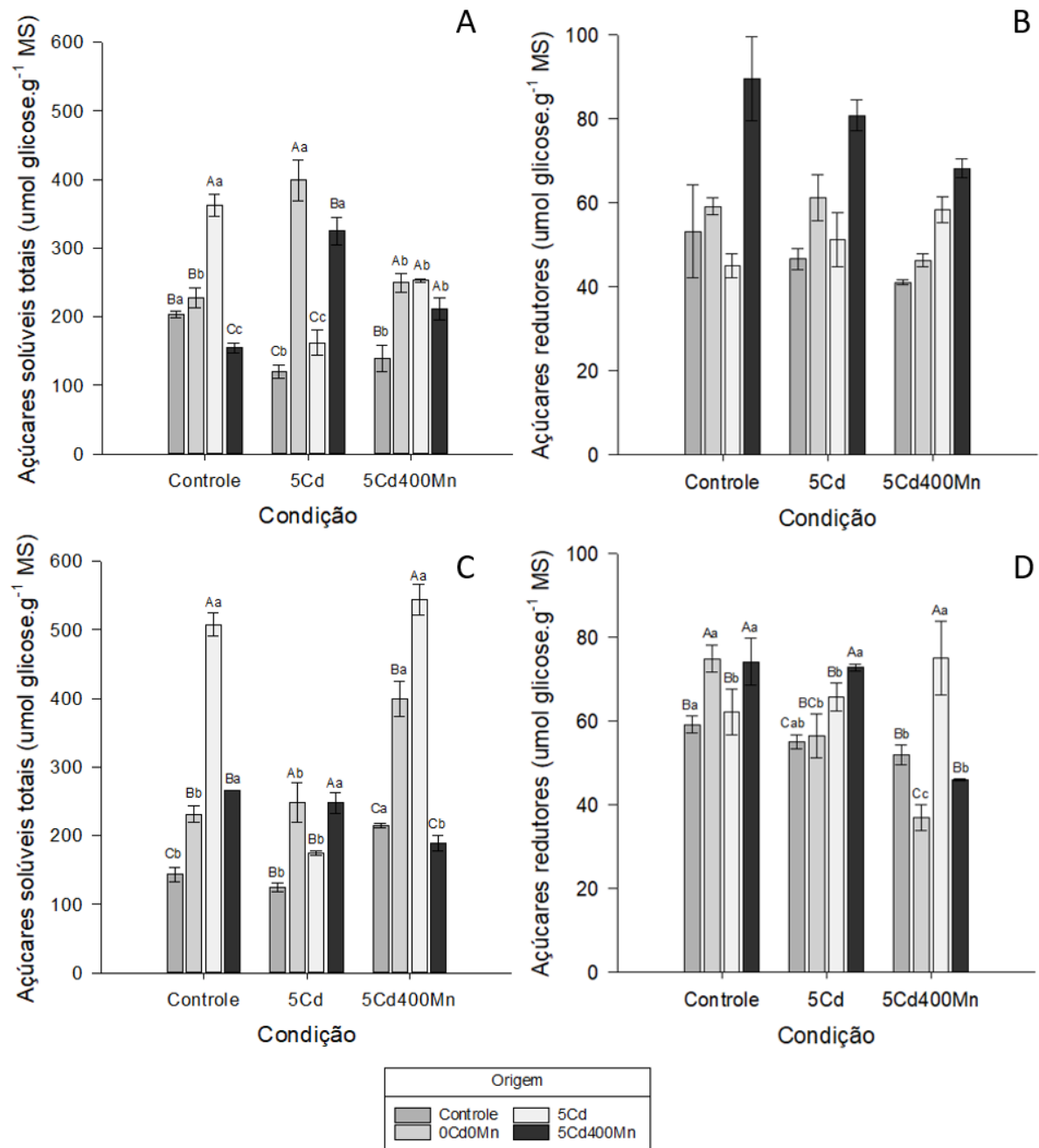
das plantas, devido à inibição de peptidases e proteases ainda na fase de semente (JAOUANI et al., 2018).

A prolina é um aminoácido que também atua como osmólito regulador da homeostase celular por apresentar um caráter antioxidante capaz de interagir com EROS, reduzindo seus níveis, atuando na manutenção da integridade de membranas, na regulação do pH entre outros (SHARMILA et al., 2017). De forma geral, a presença de cádmio é capaz de induzir maiores níveis de prolina como estratégia adaptativa a esta condição adversa (SHARMILA et al., 2017), porém, neste estudo os níveis de prolina não apresentaram respostas tão proeminentes, provavelmente devido a maior atividade da SOD e CAT nestas condições.

Considerando os níveis de açúcares solúveis totais (AST), verificou-se que, às 8 horas, a condição '5Cd' promoveu redução de açúcares para as origens '5Cd' e 'Controle', enquanto que esta mesma condição propiciou um incremento de AST nas origens '0Cd0Mn' e '5Cd400Mn' (FIGURA 5A). As origens que tiveram redução na condição '5Cd' (5Cd e Controle), na presença de manganês no meio (condição 5Cd400Mn), aumentaram a quantidade de AST. Dentre as origens que tiveram um aumento na condição com cádmio apenas (5Cd400Mn e 0Cd0Mn), a presença de manganês reduziu os níveis de AST (origem '5Cd400Mn'). Às 24 horas, o padrão de resposta da origem '5Cd' evidenciado em 8 horas se manteve em relação as condições avaliadas (FIGURA 5C). Neste período, a origem '0Cd0Mn' apresentou incremento de AST na condição '5Cd400Mn'.

Em relação aos açúcares redutores (AR), verificou-se que após 8 horas de embebição não houve diferença estatística entre os tratamentos estudados (FIGURA 5B). Após 24 horas, a origem '5Cd' apresentou incremento na presença de manganês em comparação à condição '5Cd' (FIGURA 5D). As sementes de origem 'Controle' aparentam ser mais sensível ao cádmio, uma vez que demonstram menor quantidade de AR nas condições contendo cádmio em relação a condição controle. Para esta origem, a presença de manganês não foi suficiente para mitigar os efeitos tóxicos do elemento traço, resultando no menor valor de AR.

Figura 5 – Conteúdo de açúcares solúveis totais (A, C) e açúcares redutores (B, D) em sementes de girassol das origens Controle, 0Cd0Mn, 5Cd e 5Cd400Mn, cultivadas em meio sem cádmio (Controle), com 5mg.L^{-1} de cádmio (5Cd) e com 5mg.L^{-1} de cádmio + 400mg.L^{-1} de manganês (5Cd400Mn) às 8 e 24 horas após o início da embebição.



(A) e (B) consistem em análises nos materiais coletados 8 horas após embebição. (C) e (D) consistem em análises nos materiais coletados 24 horas após embebição. Barras representam valores de média \pm erro padrão. Letras maiúsculas comparam a diferença estatística entre as origens de semente dentro de um tratamento, enquanto que letras minúsculas comparam as origens entre os tratamentos. Letras iguais indicam que não houve diferença estatística entre as variáveis a nível de significância de 5%. Fonte: Do autor (2021).

KURIAKOSE e PRASAD (2007) verificaram que o cádmio altera o perfil de açúcares pela retenção da translocação dos açúcares solúveis para o eixo embrionário, associada a uma inibição parcial da atividade de α -amilase. Com isso, os efeitos benéficos do manganês podem estar associados a atenuação da inibição enzimática ao cádmio por competição de sítio ativo.

Assim como para os AST, o incremento de AR na origem ‘5Cd’ na presença de manganês e a pouca alteração dos níveis destes açúcares na presença de cádmio em relação a condição controle mostra uma maior mobilização de açúcares. Além disso, a maior presença de AST nesta origem na condição ‘Controle’ pode explicar a alta porcentagem de germinação desta origem, decorrente de maiores teores de açúcar para serem metabolizados pela respiração e destinados ao crescimento do embrião, culminando na germinação em si.

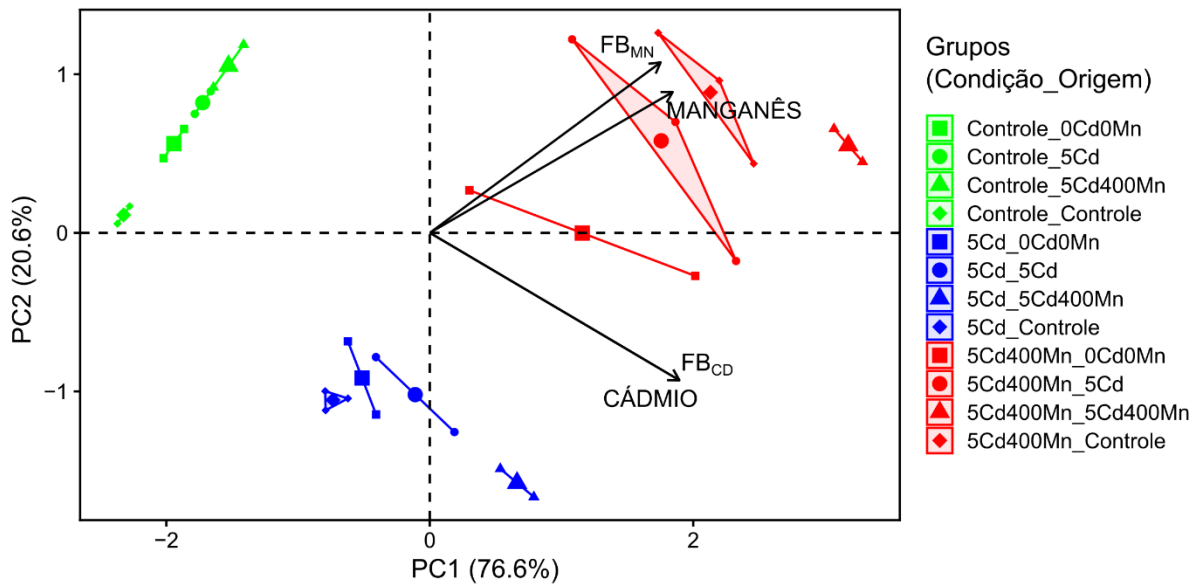
Em relação ao acúmulo de metais nas plântulas após o Experimento 2, foi possível perceber que houve um acúmulo diferencial de cádmio e manganês em relação às origens das plantas, conforme pode ser visualizado na Tabela 02. De forma geral, na condição ‘5Cd400Mn’, todas as origens absorveram mais cádmio em comparação as demais condições (‘5Cd’ e ‘Controle’). Por outro lado, a condição ‘5Cd’ limitou a absorção de manganês em relação a condição ‘Controle’ para todas as origens, exceto a ‘Controle’.

Tabela 02 – Teor de cádmio e manganês acumulados em plantas de girassol das origens Controle, 0Cd0Mn, 5Cd, 5Cd400Mn, cultivadas em solo sem cádmio (Controle), com 5mg.L⁻¹ de cádmio (5Cd) e com 5mg.L⁻¹ de cádmio + 400 mg.L⁻¹ de manganês (5Cd400Mn), após 25 dias.

ORIGEM	CONDIÇÃO	CÁDMIO (MG.KG ⁻¹)	FB _{CD}	MANGANÊS (MG.KG ⁻¹)	FB _{MN}
CONTROLE	Controle	nd	nd	63.7580 ± 1.9861	5.3132 ± 0.1655
CONTROLE	5Cd	15.4220 ± 0.3649	3.0844 ± 0.0730	75.4710 ± 2.3550	6.2893 ± 0.1963
CONTROLE	5Cd400Mn	21.3390 ± 2.4670	4.2678 ± 0.4934	5708.9690 ± 66.8947	13.8567 ± 0.1624
0CD0MN	Controle	nd	nd	91.9540 ± 3.3198	7.6628 ± 0.2766
0CD0MN	5Cd	16.0350 ± 1.0456	3.2070 ± 0.2091	87.5630 ± 2.5987	7.2969 ± 0.2166
0CD0MN	5Cd400Mn	20.3915 ± 3.6878	4.0783 ± 0.7376	4196.5755 ± 261.422	10.1859 ± 0.6345
5CD	Controle	nd	nd	108.1260 ± 2.5646	9.0105 ± 0.2137
5CD	5Cd	18.9840 ± 1.7205	3.7968 ± 0.3441	97.1780 ± 0.9134	8.0982 ± 0.0761
5CD	5Cd400Mn	20.7885 ± 4.2069	4.1577 ± 0.8414	5147.93 ± 106.6291	12.5192 ± 0.2588
5CD400MN	Controle	nd	nd	122.5870 ± 4.8769	10.2156 ± 0.4064
5CD400MN	5Cd	26.4320 ± 0.6997	5.2864 ± 0.1399	103.2490 ± 0.6334	8.6041 ± 0.0528
5CD400MN	5Cd400Mn	29.1575 ± 0.6787	5.8315 ± 0.1357	6258.2620 ± 0.8250	15.19 ± 0.0020

Os valores na tabela representam a média ± erro padrão. FB_{CD} = fator de bioacumulação de cádmio nas plantas. FB_{MN} = fator de bioacumulação de manganês nas plantas (nd) = não detectado. Fonte: Do autor (2021).

Figura 6 - Análise de componentes principais (PCA) do acúmulo de metais em plantas de girassol das origens Controle, 0Cd0Mn, 5Cd, 5Cd400Mn, cultivadas em solo sem cádmio (Controle), com 5mg.L⁻¹ de cádmio (5Cd) e com 5mg.L⁻¹ de cádmio + 400 mg.L⁻¹ de manganês (5Cd400Mn), após 25 dias.



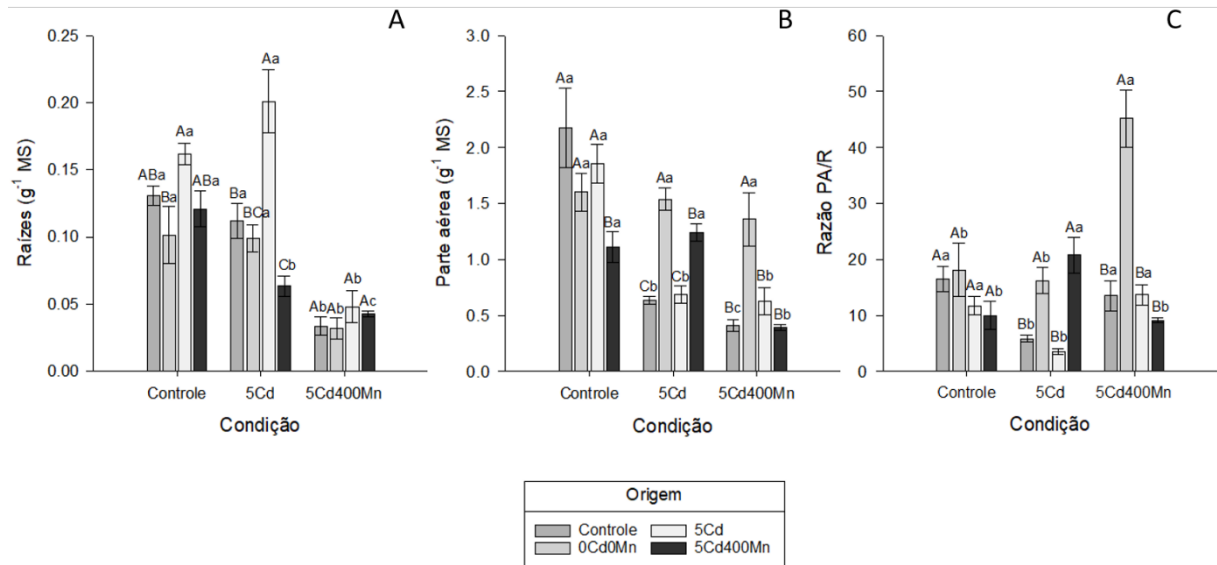
A análise de PCA (FIGURA 6) demonstra que o acúmulo de metais nas plantas se diferenciou majoritariamente em relação à condição do solo na qual as sementes foram cultivadas, onde as duas componentes explicaram 97,2% dos dados avaliados. Analisando os valores para os fatores de bioacumulação (Tabela 02), é possível verificar que a presença de cádmio no solo contribuiu para menor acúmulo de manganês em todas as origens, com exceção das plantas de origem 'Controle'. Esta redução se deve provavelmente à competição existente entre os dois metais pelos mesmos transportadores. Além disso, na condição '5Cd400Mn', todas as origens absorveram uma maior quantidade de cádmio em relação às condições '5Cd' e 'Controle'.

Algumas espécies são capazes de tolerar maiores quantidades de manganês, como é o caso de plantas de arroz e girassol que acumulam por volta de $5000 \text{ mg Mn.kg MS}^{-1}$ (SHAO et al., 2017). Estas espécies possuem pouca regulação da captação de Mn a nível transcricional, com os genes codificadores para os principais transportadores, OsNRAMP e OsMTP9, constitutivamente expressos e pouco influenciados por altas quantidades de manganês (SASAKI et al., 2012; UENO et al., 2015), o que, por consequência, levaria a um incremento na absorção de cádmio.

Em relação ao acúmulo de biomassa (FIGURA 7), a condição '5Cd400Mn' resultou nos menores valores de massa de raiz, independente da origem das plantas. A origem '5Cd400Mn' reduziu a massa das raízes nas condições '5Cd' e '5Cd400Mn' em comparação a condição 'Controle' e também apresentou decréscimo da parte aérea em massa, na condição '5Cd400Mn'. Na condição 5Cd, as plantas de origem '5Cd' apresentam um investimento de

biomassa radicular em detrimento da parte aérea. A relação parte aérea/raiz apresentou um comportamento distinto para todas as condições, sendo que valores superiores foram observados para as plantas de origem ‘0Cd0Mn’ sob a condição 5Cd400Mn.

Figura 7 – Matéria seca de raízes (A), parte aérea (B) e a razão PA/R (C) de plantas de girassol das origens Controle, 0Cd0Mn, 5Cd, 5Cd400Mn, cultivadas em solo sem cádmio (Controle), com 5mg.L⁻¹ de cádmio (5Cd) e com 5mg.L⁻¹ de cádmio + 400 mg.L⁻¹ de manganês (5Cd400Mn), após 25 dias.

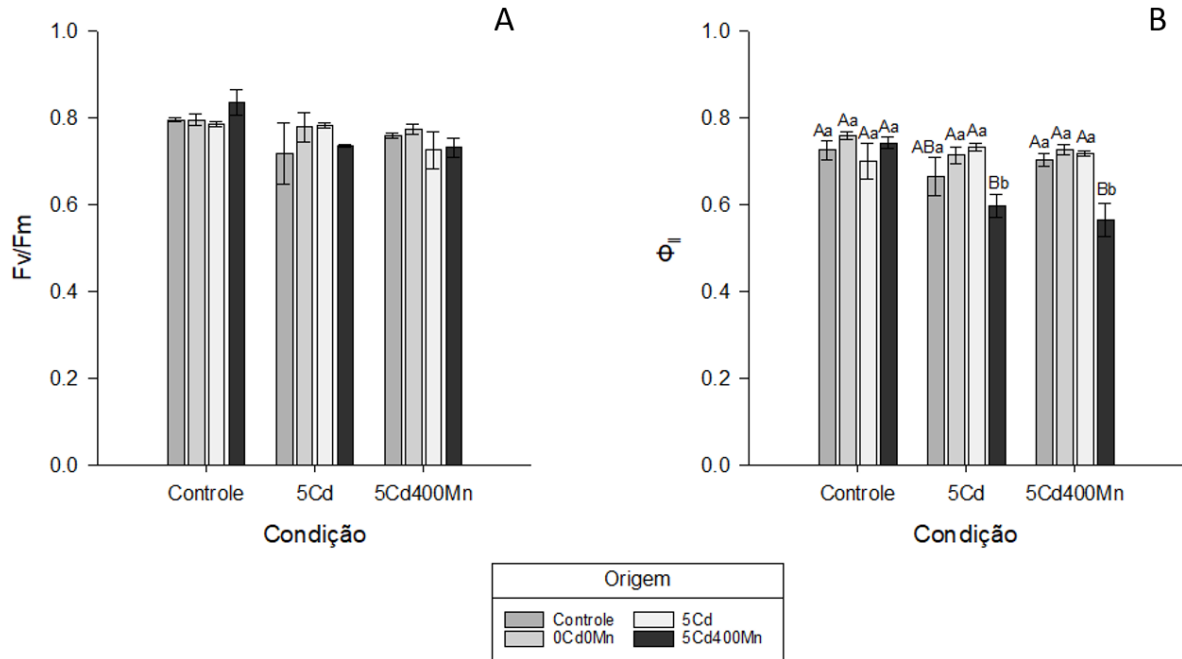


Barras representam valores de média \pm erro padrão. Letras maiúsculas comparam a diferença estatística entre as origens de semente dentro de um tratamento, enquanto que letras minúsculas comparam as origens entre os tratamentos. Letras iguais indicam que não houve diferença estatística entre as variáveis a nível de significância de 5%. Fonte: Do autor (2021).

As alterações de acúmulo de biomassa evidenciadas na origem ‘5Cd400Mn’ podem estar relacionadas a limitação de crescimento estimulada pela presença de cádmio. Uma vez que o cádmio consegue limitar a absorção de nutrientes e a permeabilidade hídrica das células, esta origem não conseguiu investir em crescimento tanto radicular quanto em parte aérea na condição ‘5Cd400Mn’ mesmo com disponibilidade de manganês que pudesse mitigar os efeitos negativos da ação do cádmio (PRZEDPELSKA-WASOWICZ; WIERZBICKA, 2011). A relação de biomassa pode também ser relacionada a modificações na captação de energia pelas folhas que comprometam a longo prazo a síntese de carboidratos.

O parâmetro Fv/Fm não apresentou diferença estatística para as condições em todas as origens (FIGURA 8A). Já na avaliação do rendimento quântico efetivo (Φ_{II}) houve diferença estatística entre as origens na condição controle (FIGURA 8B). As plantas de origem ‘5Cd400Mn’ apresentaram redução do rendimento quando na presença de cádmio (condições ‘5Cd’ e ‘5Cd400Mn’) em relação ao controle.

Figura 8 – Eficiência fotoquímica máxima (A) e rendimento quântico efetivo (B) do fotossistema II de plantas de girassol das origens Controle, 0Cd0Mn, 5Cd, 5Cd400Mn, cultivadas em solo sem cádmio (Controle), com 5mg.L⁻¹ de cádmio (5Cd) e com 5mg.L⁻¹ de cádmio + 400 mg.L⁻¹ de manganês (5Cd400Mn), após 25 dias.



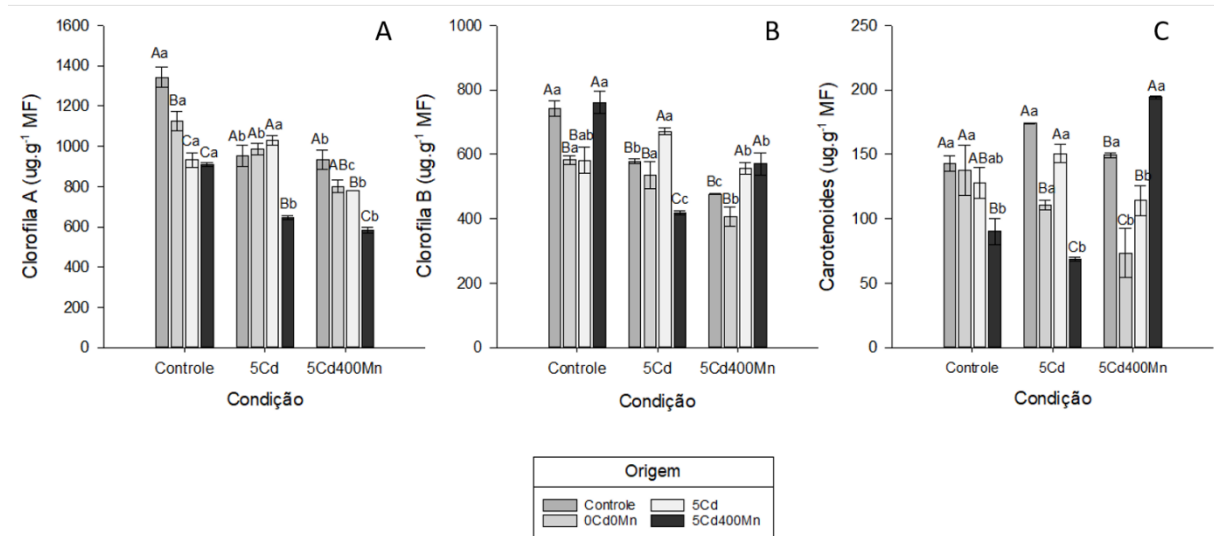
Barras representam valores de média \pm erro padrão. Letras maiúsculas comparam a diferença estatística entre as origens de semente dentro de um tratamento, enquanto que letras minúsculas comparam as origens entre os tratamentos. Letras iguais indicam que não houve diferença estatística entre as variáveis a nível de significância de 5%. Fonte: Do autor (2021).

O menor rendimento quântico da origem ‘5Cd400Mn’, evidencia que a presença de cádmio endógena nas sementes estimulada por uma condição com cádmio no meio externo (condição ‘5Cd400Mn’) durante o estabelecimento de plântula, tornaram esta origem mais sensível à presença deste elemento traço no âmbito do funcionamento e eficiência fotossintética. Este fato pôde ser evidenciado mesmo havendo valores altos de carotenoides e não decaimento dos níveis de clorofila B que pudessem atuar na manutenção da atividade fotossintética e proteção de foto-inibição.

Para os pigmentos fotossintéticos (FIGURA 9) houve uma maior concentração de carotenoides nas plantas de origem ‘5Cd400Mn’ submetidas à condição ‘5Cd400Mn’ em relação às demais. Nesta mesma condição, a origem ‘5Cd400Mn’ apresentou o maior conteúdo de clorofila B em relação às demais origens no mesmo tratamento. Este conteúdo de clorofila *b* (*chl b*) foi significativamente maior nas plantas sob condição controle para a origem ‘Controle’ e ‘5Cd400Mn’, sendo também observado em relação ao conteúdo de clorofila *a* (*chl*

a) para plantas de origem ‘Controle’ apenas. A origem ‘5Cd’ apresentou o mesmo padrão de resposta em relação as condições de cultivo para todos os pigmentos, exibindo os maiores valores na condição ‘5Cd’.

Figura 9 – Conteúdo total de clorofila A (A), clorofila B (B) e carotenoides (C) de plantas de girassol das origens Controle, 0Cd0Mn, 5Cd, 5Cd400Mn, cultivadas em solo sem cádmio (Controle), com 5mg.L⁻¹ de cádmio (5Cd) e com 5mg.L⁻¹ de cádmio + 400 mg.L⁻¹ de manganês (5Cd400Mn), após 25 dias.



Barras representam valores de média ± erro padrão. Letras maiúsculas comparam a diferença estatística entre as origens de semente dentro de um tratamento, enquanto que letras minúsculas comparam as origens entre os tratamentos. Letras iguais indicam que não houve diferença estatística entre as variáveis a nível de significância de 5%. Fonte: Do autor (2021).

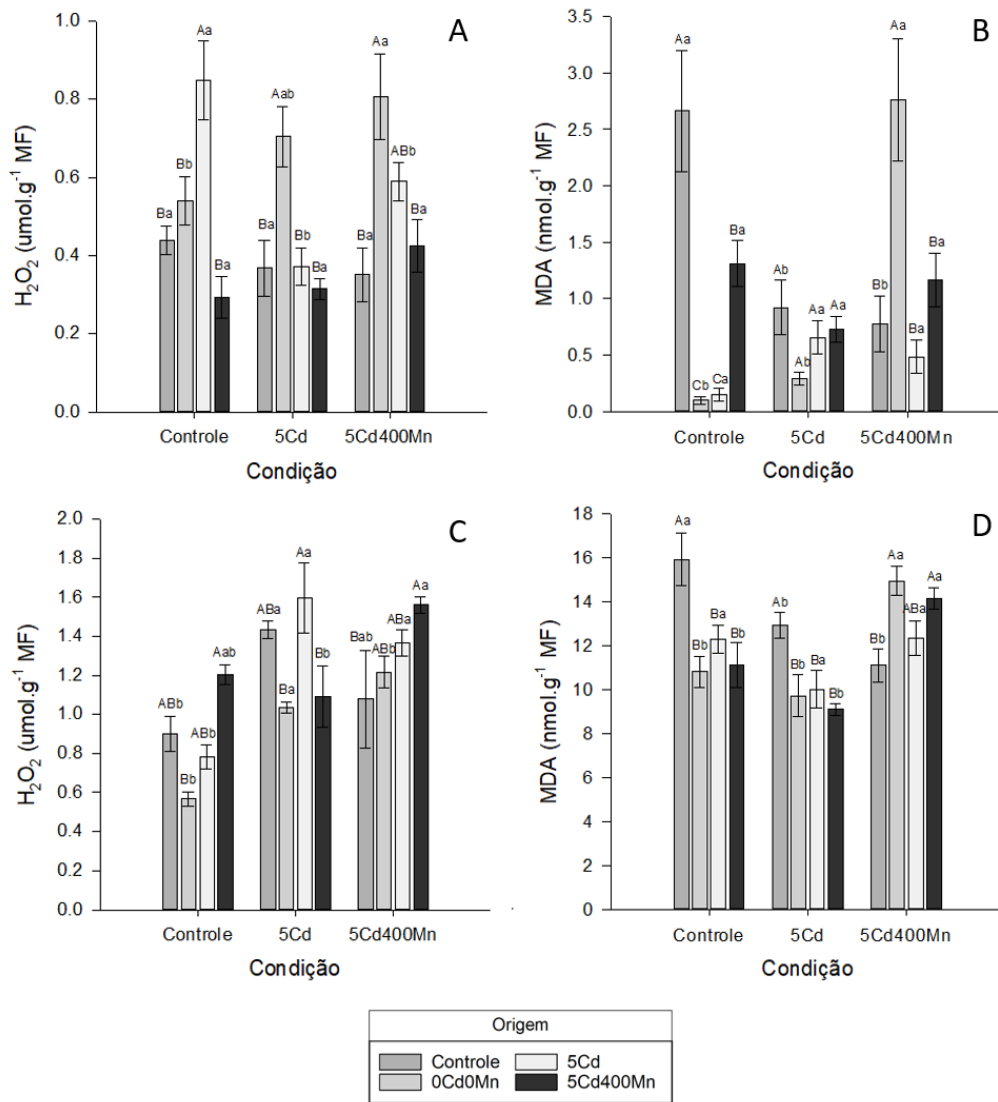
A redução do conteúdo de clorofilas a e b, assim como de carotenoides, nas plantas de origem ‘5Cd400Mn’ submetidas à condição ‘5Cd’, pode estar relacionado a capacidade do cádmio em inibir a síntese de ácido 5-aminolevulínico, que é um precursor da biossíntese de clorofilas (MARQUES et al., 2011). Além disso, como muitas enzimas da via de síntese destes pigmentos fotossintéticos requerem manganês como cofator, os menores pigmentos verificados nesta condição podem estar associados a uma redução da atividade enzimática (HOSEINI; ZARGARI, 2013) por competição entre Cd²⁺ e Mn²⁺. Tal fato ainda explicaria o comportamento de recuperação dos níveis de carotenoides e clorofila B na condição ‘5Cd400Mn’, situação que não propiciaria a redução da atividade das enzimas da rota, devido à alta quantidade de manganês verificada nestas plantas.

Em relação ao conteúdo de peróxido de hidrogênio (FIGURA 10), verificou-se que há uma resposta diferencial das origens em relação a presença de cádmio em diferentes tecidos. Nas raízes, todas as origens mantiveram níveis similares ou reduziram os níveis de H₂O₂ nos

meios contendo cádmio em relação ao controle, com exceção da origem '0Cd0Mn' que apresentou aumento nas condições '5Cd' e '5Cd400Mn' em relação ao controle (FIGURA 10A). Já nos tecidos foliares, o aumento de peróxido de hidrogênio foi observado em todas as origens nas condições contendo cádmio em relação ao controle, com exceção da origem '5Cd400Mn' que já possuía altos níveis de H_2O_2 na condição 'Controle' (FIGURA 10C).

Analisando o conteúdo de MDA em raízes (FIGURA 10), as plantas de origem '0Cd0Mn' que apresentaram altos níveis de H_2O_2 , apresentaram alta peroxidação somente na condição '5Cd400Mn'. Com exceção deste tratamento da origem 'Controle' cultivada na condição 'Controle', de forma geral, as raízes apresentaram baixos níveis de MDA, indicando pouca peroxidação lipídica (FIGURA 10B). Por outro lado, analisando o conteúdo de MDA na parte aérea, percebeu-se que a origem 'Controle' nas condições 'Controle' e '5Cd' tiveram a maior peroxidação nestas condições (FIGURA 10D). Nos tecidos foliares houve maior tendência de que o H_2O_2 formado causasse danos às membranas, enquanto que nas raízes estas EROS tenham provavelmente um papel sinalizador.

Figura 10 – Peróxido de hidrogênio (A e C) e peroxidação lipídica (B e D), mensurada pelo marcador malondialdeído (MDA) em plantas de girassol das origens Controle, 0Cd0Mn, 5Cd, 5Cd400Mn, cultivadas em solo sem cádmio (Controle), com 5mg.L^{-1} de cádmio (5Cd) e com 5mg.L^{-1} de cádmio + 400mg.L^{-1} de manganês (5Cd400Mn), após 25 dias.



(A) e (B) consistem em análises nas raízes. (C) e (D) consistem em análises nas folhas. Barras representam valores de média \pm erro padrão. Letras maiúsculas comparam a diferença estatística entre as origens de semente dentro de um tratamento, enquanto que letras minúsculas comparam as origens entre os tratamentos. Letras iguais indicam que não houve diferença estatística entre as variáveis a nível de significância de 5%. Fonte: Do autor (2021).

Plantas hiperacumuladoras, como é o caso do girassol, são geralmente caracterizadas pela presença de uma alta taxa de translocação de metais da raiz para a parte aérea (ZHAO et al., 2006). Dessa forma, para as plantas de origem '5Cd400Mn', é provável que houve um maior direcionamento deste elemento traço para as folhas, levando a uma maior atuação do cádmio nas células foliares, que pode ser discutida pelo perfil de resposta dos níveis de H₂O₂ e MDA nestas plantas. Nas folhas o cádmio promoveu maiores danos oxidativos, que se relacionam também com o decréscimo de clorofilas e do rendimento efetivo do fotossistema II, evidenciando uma provável degradação das membranas dos cloroplastos que afetou tais parâmetros. Nas raízes o padrão de dano oxidativo não ocorreu, evidenciada pelo baixo

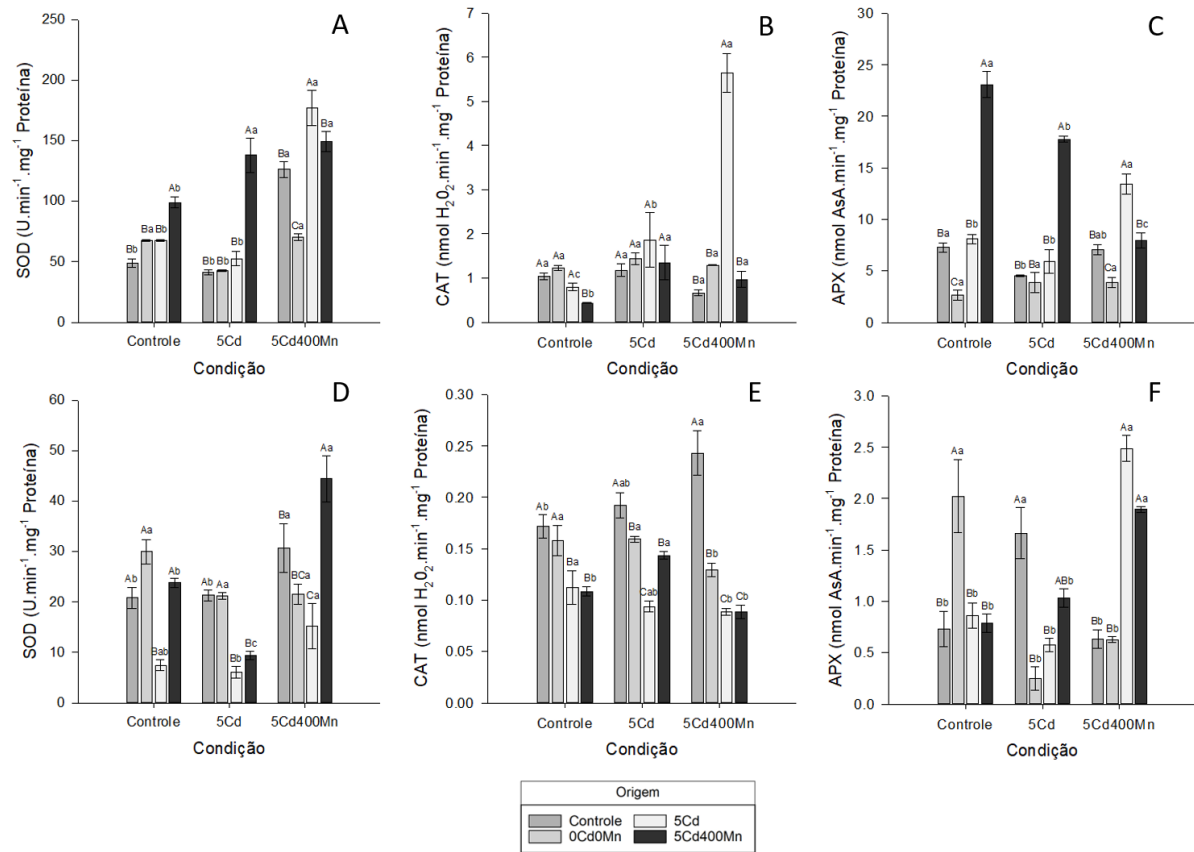
conteúdo de MDA. Isto pode significar que a atuação de cádmio provavelmente conseguiu ser atenuada nas raízes e também corrobora com uma provável maior translocação de cádmio para a parte aérea.

Em relação a superóxido dismutase (SOD), percebe-se que na presença de cádmio houve maior atividade desta em raízes de plantas de origem '5Cd400Mn' em relação ao controle (FIGURA 11A). Todas as origens aumentaram a atividade de SOD na presença de manganês em comparação a condição '5Cd', evidenciando um estímulo positivo do manganês na atividade de SOD sob condições de estresse por cádmio, com exceção da origem '5Cd400Mn'. A origem 5Cd400Mn apresentou o maior valor de atividade enzimática na condição '5Cd400Mn' na parte aérea (FIGURA 11D).

Quanto à atividade da catalase (CAT), destaca-se nas raízes atividade superior na origem '5Cd' e em condição '5Cd400Mn' (FIGURA 11B). No entanto, para as demais origens e condições a atividade desta enzima mostrou-se inferior. Já na parte aérea, foi possível verificar que as origens '0Cd0Mn' e 'Controle' apresentaram os maiores valores de atividade da CAT em todas as condições de cultivo (FIGURA 11E).

Considerando a atividade da ascorbato peroxidase (APX), nas raízes a presença de cádmio propiciou redução da atividade enzimática nas plantas de origem '5Cd400Mn' em relação ao controle, independente da presença de manganês ou não (FIGURA 11C). Na parte aérea, houve um comportamento inverso, onde a origem '5Cd400Mn' apresentou aumento da atividade de APX nas duas condições contendo cádmio em comparação ao controle (FIGURA 11F).

Figura 11 – Atividade das enzimas constituintes do sistema antioxidante enzimático: superóxido dismutase (A, D), catalase (B, E) e ascorbato peroxidase (C, F) em plantas de girassol das origens Controle, 0Cd0Mn, 5Cd, 5Cd400Mn, cultivadas em solo sem cádmio (Controle), com 5mg.L^{-1} de cádmio (5Cd) e com 5mg.L^{-1} de cádmio + 400mg.L^{-1} de manganês (5Cd400Mn), após 25 dias.



(A), (B) e (C) consistem em análises nas raízes. (D), (E) e (F) consistem em análises nas folhas. Barras representam valores de média \pm erro padrão. Letras maiúsculas comparam a diferença estatística entre as origens de semente dentro de um tratamento, enquanto que letras minúsculas comparam as origens entre os tratamentos. Letras iguais indicam que não houve diferença estatística entre as variáveis a nível de significância de 5%. Fonte: Do autor (2021).

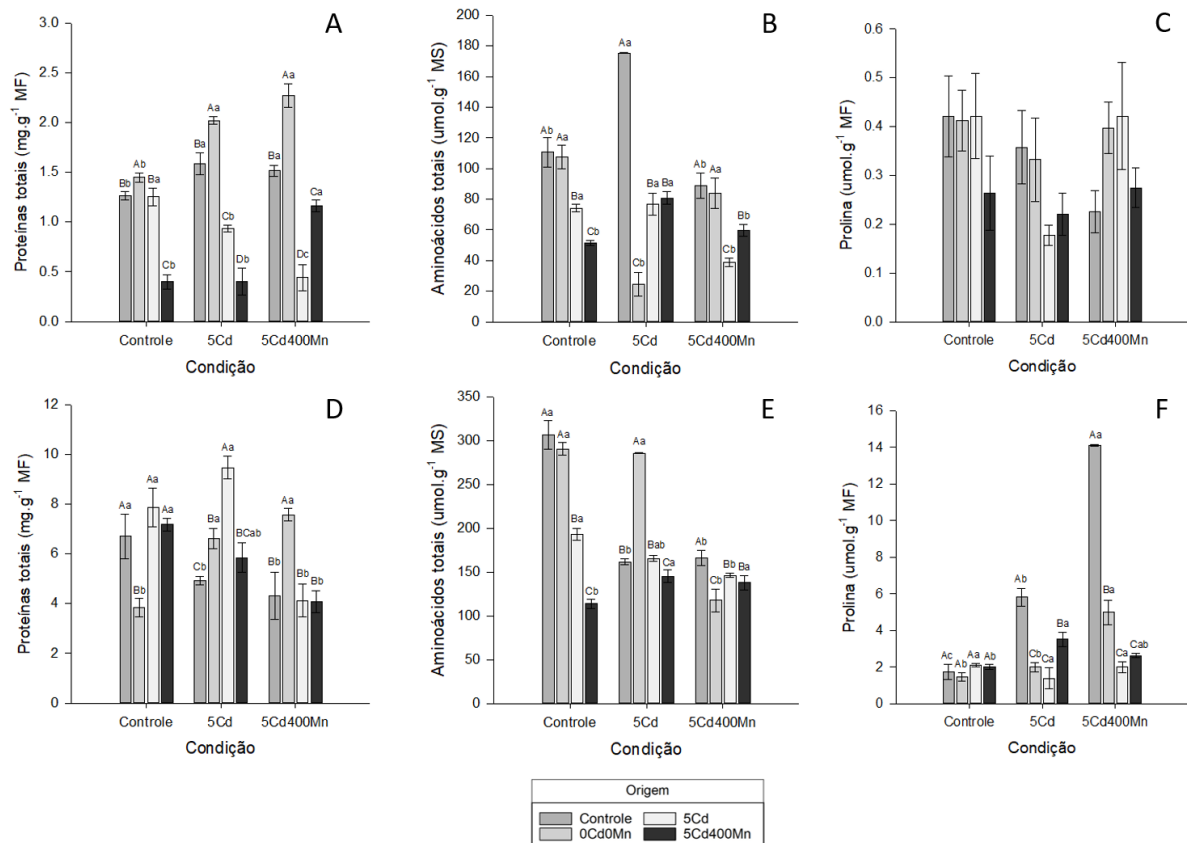
Com isso, é possível inferir que, na condição '5Cd400Mn', a origem '5Cd400Mn' mesmo apresentando alta atividade de SOD e APX nas folhas, teve um maior dano oxidativo, evidenciado pelos valores elevados de H₂O₂ e MDA, que resultaram provavelmente em maior peroxidação das membranas do tilacoide, além de promover a degradação de moléculas de clorofila *a*. Estes fatores levaram a um menor rendimento fotoquímico evidenciado nestas condições.

Considerando a análise de proteínas totais, é possível perceber que, nas raízes, duas origens apresentam comportamento inverso em relação as condições de cultivo. Plantas de origem '0Cd0Mn' apresentam acúmulo de proteínas na presença de cádmio em relação ao controle. Já a origem '5Cd', na presença de cádmio, reduz os níveis de proteínas em relação à condição 'Controle'. A condição '5Cd400Mn' promove os maiores valores para a origem '5Cd400Mn' (FIGURA 12A). Em relação à parte aérea, a condição '5Cd' resultou em menores

níveis proteicos para as origens ‘Controle’ e ‘5Cd400Mn’, sendo esta última também afetada pela condição ‘5Cd400Mn’ (FIGURA 12D).

A análise de aminoácidos nas plantas nos mostra que, em relação as raízes, a redução dos níveis de proteína na presença de cádmio para a origem ‘5Cd’, não refletiu em um aumento nos níveis de aminoácidos (FIGURA 12B). Esta origem apresentou níveis estáveis durante todos os tratamentos, exceto na condição ‘5Cd400Mn’, onde foi evidenciado uma redução. Nos tecidos da parte aérea, por outro lado, menores níveis de proteína para a origem ‘0Cd0Mn’ na condição ‘Controle’ e ‘5Cd’ em relação à condição ‘5Cd400Mn’, mostram que provavelmente nesta condição houve maior degradação proteica, uma vez que houve incremento dos níveis de aminoácidos livres (FIGURA 12E). Dentro dos aminoácidos totais, verificou-se os níveis de prolina nas diferentes condições estudadas. O conteúdo endógeno de prolina não apresentou diferença significativa nas raízes em todas as condições (FIGURA 12C). Na parte aérea, os maiores conteúdo deste aminoácido foram observados em plantas de origem ‘Controle’ sob a condição de ‘5Cd400Mn’ e ‘5Cd’ (FIGURA 12F).

Figura 12 – Conteúdo de proteínas (A, D), aminoácidos (B, E) e prolina (C, F) em plantas de girassol das origens Controle, 0Cd0Mn, 5Cd, 5Cd400Mn, cultivadas em solo sem cádmio (Controle), com 5mg.L⁻¹ de cádmio (5Cd) e com 5mg.L⁻¹ de cádmio + 400 mg.L⁻¹ de manganês (5Cd400Mn), após 25 dias.



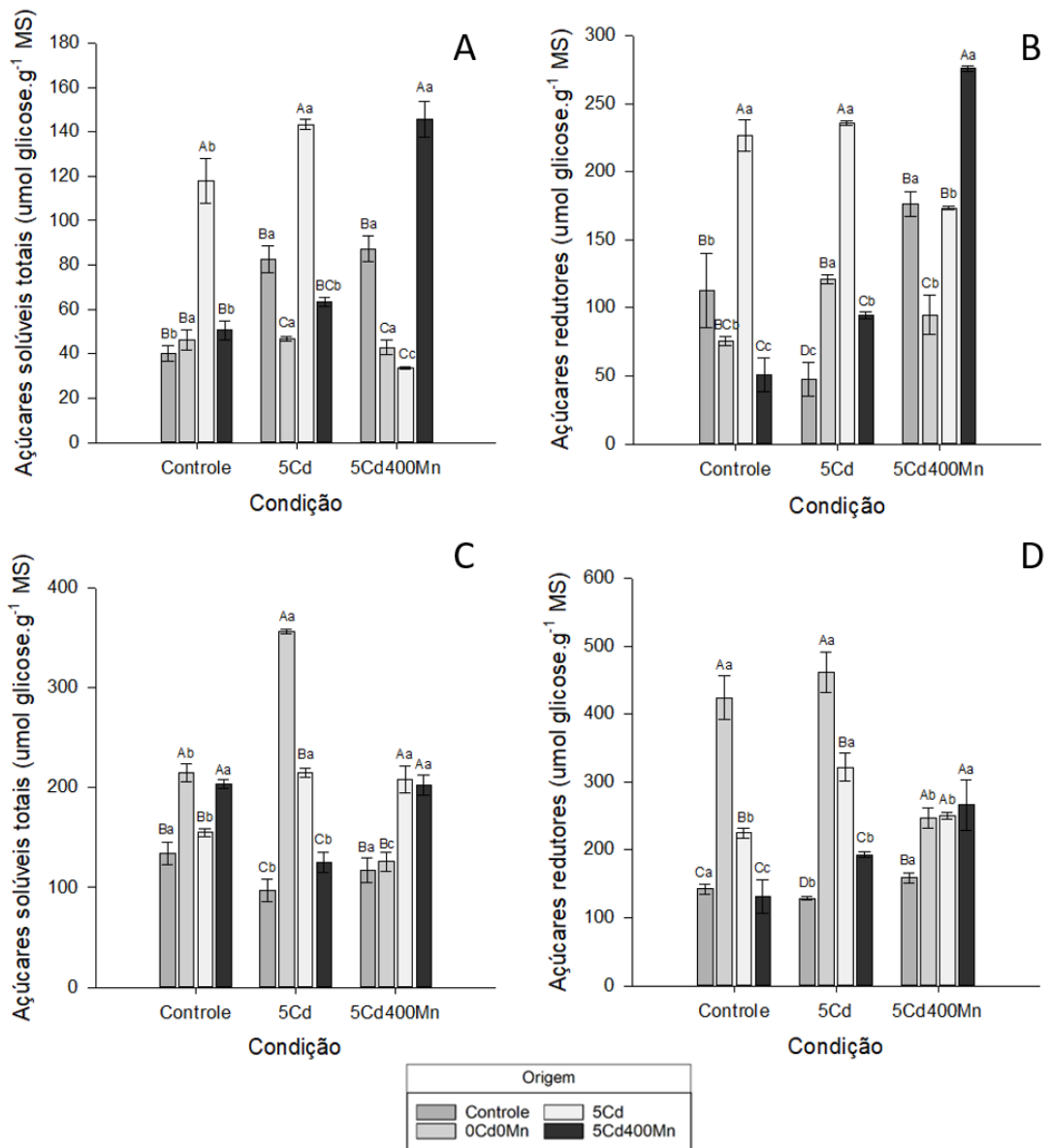
(A), (B) e (C) consistem em análises nas raízes. (D), (E) e (F) consistem em análises nas folhas. Barras representam valores de média \pm erro padrão. Letras maiúsculas comparam a diferença estatística entre as origens de semente dentro de um tratamento, enquanto que letras minúsculas comparam as origens entre os tratamentos. Letras iguais indicam que não houve diferença estatística entre as variáveis a nível de significância de 5%. Fonte: Do autor (2021).

Os maiores níveis de prolina, associado com uma presença considerável de H_2O_2 nestas condições, pode indicar a atividade deste aminoácido como molécula antioxidante, na tentativa de evitar a ocorrência de dano por estresse oxidativo. Além disso, os níveis de prolina já foram relacionados à manutenção do turgor celular e dos níveis de clorofilas como estratégia de proteção à fotossíntese em condições adversas (SILVA-ORTEGA et al., 2008). Este incremento de prolina, pode então ter contribuído para manter os aspectos fotoquímicos sob presença de cádmio a níveis próximos aos verificados na condição controle para esta origem.

O conteúdo de açúcares solúveis totais (AST) apresentou diferença significativa nas raízes e parte aérea, sobretudo nas plantas com origem de materiais previamente expostos ao cádmio (Cd) e manganês (Mn). Nas raízes, sob a condição ‘Controle’ e sob re-exposição a concentração de 5Cd pôde-se observar maiores conteúdos de AST para a origem 5Cd, além de alto teor de AST nas plantas de origem ‘5Cd400Mn’ expostas a combinação de Cd e Mn (FIGURA 13A). A concentração de AST nas folhas apresenta diferença estatística quando os materiais são submetidos novamente as condições em que há a presença de 5Cd e 5Cd400Mn. Nestes órgãos é possível observar um maior acúmulo destas moléculas no tratamento onde não houve exposição prévia a nenhuma condição estressante (0Cd0Mn) quando submetido ao tratamento 5Cd (FIGURA 13C).

Em relação a presença de açúcares redutores, verifica-se que as raízes das plantas de origem ‘5Cd400Mn’ apresentam um incremento à medida que são submetidas a condições de cádmio ou cádmio+manganês. Plantas de origem ‘5Cd’ também demonstram altos níveis de AR mesmo na condição ‘Controle’ (FIGURA 13B). Nas folhas, a origem ‘0Cd0Mn’ apresentou os maiores níveis de AR, porém a presença de manganês no meio promoveu uma redução destes açúcares (FIGURA 13D). Assim como nas raízes, a origem ‘5Cd400Mn’ obteve um crescimento de AR à medida que foi exposta a Cd+Mn e Cd apenas, em comparação a condição Controle.

Figura 13 – Conteúdo de açúcares solúveis totais (A, C) e açúcares redutores (B, D) em plantas de girassol das origens Controle, 0Cd0Mn, 5Cd, 5Cd400Mn, cultivadas em solo sem cádmio (Controle), com 5mg.L^{-1} de cádmio (5Cd) e com 5mg.L^{-1} de cádmio + 400mg.L^{-1} de manganês (5Cd400Mn), após 25 dias.



(A) e (B) consistem em análises nas raízes. (C) e (D) consistem em análises nas folhas. Barras representam valores de média \pm erro padrão. Letras maiúsculas comparam a diferença estatística entre as origens de semente dentro de um tratamento, enquanto que letras minúsculas comparam as origens entre os tratamentos. Letras iguais indicam que não houve diferença estatística entre as variáveis a nível de significância de 5%. Fonte: Do autor (2021).

A presença de açúcares nas raízes, local preferencial onde o cádmio é retido, ajuda a célula a lidar com o incremento de ROS, além de manter o turgor celular (ROLLAND; BAENA-GONZALEZ; SHEEN, 2006). No caso das plantas de origem 5Cd400Mn, na condição 5Cd400Mn, a maior presença tanto de AST quanto AR, associado ao baixo incremento de biomassa radicular, indica que estes açúcares foram deslocados para atuar como moléculas antioxidantes ao invés de promover o crescimento e expansão celular. Foi observado que houve acúmulo destes açúcares, na mesma condição (5Cd400Mn), nos tecidos foliares.

Também associado com o não incremento de biomassa foliar, estes açúcares poderiam estar sendo utilizados para manutenção do turgor das células e atenuação dos efeitos prejudiciais das espécies reativas de oxigênio. Além disso, DIAS et al. (2012) sugerem que o cádmio atua bloqueando a utilização de açúcares e que o seu acúmulo pode reduzir ou inibir a atividade da RUBISCO por feedback negativo, acentuando ainda mais a redução de biomassa e crescimento.

5. CONCLUSÃO

Em relação ao desenvolvimento de sementes, foi possível concluir que a diferença na capacidade de bioacumulação da planta-mãe, resultando em níveis distintos de cádmio e manganês nos descendentes, foi decisiva para o desempenho destas nas mesmas condições de cultivo. As diferentes respostas das sementes de diferentes origens foram percebidas logo na fase de germinação e embebição de sementes, principalmente para as sementes de origem '5Cd' em comparação a origem '5Cd400Mn'. Ainda em relação às origens, respostas distintas entre as origens podem indicar informações distintas transmitidas pela planta-mãe a sua progênie. Macromoléculas como proteínas totais e açúcares redutores, osmoprotetores como a prolina em sementes de origem '5Cd' foram menos influenciados pela condição do ambiente e constituem possíveis recursos de terem sido transmitidos transgeracionalmente aos descendentes como forma de garantir melhor sobrevivência nestes ambientes.

Quanto ao crescimento e desenvolvimento das plantas provenientes das origens estudadas, foi possível constatar que a maior parte das respostas foi influenciada majoritariamente pela condição de cultivo. No entanto, deve ser destacado a maior sensibilidade aparente das plantas de origem '5Cd400Mn' ao cádmio em relação ao rendimento quântico do fotossistema II, enquanto que plantas de origem '5Cd' pouco foram afetadas por estas condições. Plantas de origem '5Cd' apresentaram um conteúdo de pigmentos pouco afetado pelo meio de cultivo e, de forma geral, superiores as plantas de origem '5Cd400Mn'.

É possível perceber que mesmo em plantas capazes de tolerar maiores quantidades de cádmio e manganês, como é o caso do girassol, a extensão dessa tolerância demonstra-se altamente variável em estágios mais iniciais do crescimento vegetativo. Além disso, o manganês pode apresentar tanto caráter sinérgico quanto antagônico, quando associado ao cádmio, que são dependentes da origem da semente ou plântula, das condições do meio e da localização tecidual.

Os mecanismos de plasticidade transgeracional ainda necessitam serem completamente elucidados, assim como a busca por marcadores que possam indicar a ocorrência deste evento

nos descendentes de plantas cultivadas em ambientes adversos. No presente trabalho, plantas oriundas de sementes de origem ^{57}Cd e $^{57}\text{Cd}^{400}\text{Mn}$ apresentaram um perfil de resposta de atividade de enzimas do sistema antioxidante, principalmente SOD e APX, bastante proeminentes uma vez que eram cultivadas em condições similares em relação a presença de cádmio e manganês. Nessa situação, poderiam ser vistos como indicadores da transmissão transgeracional do efeito do cádmio em sementes e plantas da progênie de plantas de girassol cultivadas em solo contaminado com este elemento traço.

REFERÊNCIAS

- ALEJANDRO, S. et al. Intracellular Distribution of Manganese by the Trans-Golgi Network Transporter NRAMP2 Is Critical for Photosynthesis and Cellular Redox Homeostasis. **The Plant Cell**, v. 29, n.12, p. 3068–3084, 2017. doi:10.1105/tpc.17.00578
- ALEJANDRO, S. et al. Manganese in Plants: From Acquisition to Subcellular Allocation. **Frontiers in Plant Science**, v.11, n. 300, 2020. doi: 10.3389/fpls.2020.00300
- ALI, H.; KHAN, E.; SAJAD, M. A. Phytoremediation of heavy metals-concepts and applications. **Chemosphere**, n. 91, p. 869–881, 2013. doi:10.1016/j.chemosphere.2013.01.075
- ALI, H; KHAN, E.; ILAHI, I. Environmental chemistry and ecotoxicology of hazardous heavy metals: Environmental persistence, toxicity, and bioaccumulation. **J. Chem.**, 2019. 10.1155/2019/6730305
- ALKORTA, I.; BECERRIL, J. M.; GARBISU, C. Phytostabilization of metal contaminated soils. **Rev Environ. Health**, n. 25, p. 135-146, 2010.
- ANDERSON, M. D.; PRASAD, T. K.; STEWART, C. R. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 109, p. 1247-1257, 1995.
- ANWAR, S. et al. Uptake and distribution of minerals and heavy metals in commonly grown leafy vegetable species irrigated with sewage water. **Environ. Monit. Assess.**, n. 188, p. 1–9, 2016. doi:10.1007/s10661-016-5560-4
- BAILLY, C.; EL-MAAROUF-BOUATEAU, H.; CORBINEAU, F. From intracellular signaling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology. **C. R. Biol.**, n. 331, p. 806–814, 2008.
- BALDANTONI, D. et al. Cadmium accumulation in leaves of leafy vegetables. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, n. 123, p. 89–94, 2016. doi:10.1016/j.ecoenv.2015.05.019
- BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. **Seeds ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination**. 2. ed. San Diego: Elsevier, 2014, 1586 p.
- BERTI, W. R.; CUNNINGHAM, S. D. “Phytostabilization of metals,” in *Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean-up the Environment*, 1. ed. Raskin and B. D. Ensley (New York, NY: John Wiley & Sons, Inc.), p. 71–88, 2000.

- BICALHO, E. M.; SANTOS, T. R. S. dos; GARCIA, Q. S. Abscisic acid and the antioxidant system are involved in germination of *Butia capitata* seeds. **Acta Botanica Brasilica**, v. 33, n.1, p.174-178., 2019. doi:10.1590/0102-33062018abb0193
- BLOOM, A. J.; LANCASTER, K. M. Manganese binding to Rubisco could drive a photorespiratory pathway that increases the energy efficiency of photosynthesis. **Nat. Plants**, v. 4, p. 414–422, 2018. doi: 10.1038/s41477-018-0191-0
- BOONYAPOOKANA, B. et al. Phytoaccumulation of lead by sunflower (*Helianthus annuus*), tobacco (*Nicotiana tabacum*), and vetiver (*Vetiveria zizanioides*). **J. Environ. Sci. Health. A. Tox. Hazard. Subst. Environ. Eng.**, v. 40, p. 117–137, 2005. doi:10.1081/ESE-200033621
- BOYKO, A. et al. Transgenerational adaptation of *Arabidopsis* to stress requires DNA methylation and the function of dicer-like proteins. **PLoS ONE**, v. 5, e9514, 2010. doi: 10.1371/journal.pone.0009514
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of proteins utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, p. 248-254, 1976.
- BRICKER, T. M. et al. The extrinsic proteins of Photosystem II. **Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.**, n. 1817, p. 121–142, 2012.
- CARILLO, P.; GIBON, Y. PROTOCOL: Extraction and determination of proline. PrometheusWiki, 2011.
- CARVALHO BERTOLI, A. et al. *Lycopersicon esculentum* submitted to Cd-stressful conditions in nutrition solution: nutrient contents and translocation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, n. 86, p. 176-181, 2012.
- CARVALHO, M. E. A. et al. Cadmium exposure triggers genotype-dependent changes in seed vigor and germination of tomato offspring. **Protoplasma**, v. 255, p. 989–999, 2018.
- CASTRO, C. de et al. **A cultura do girassol**. Londrina: EMBRAPA/CNPSo. 1997. 36p.
- CHANDRA, R.; KUMAR, V.; SINGH, K. Hyperaccumulator versus non hyperaccumulator plants environment waste management. **Phytoremediation of Environmental Pollutants**. CRC Press, p. 14–35, 2018.
- CHANEY, R. L. How Does Contamination of Rice Soils with Cd and Zn Cause High Incidence of Human Cd Disease in Subsistence Rice Farmers. **Curr Pollution Rep.**, v. 1, p.13–22, 2015. <https://doi.org/10.1007/s40726-015-0002-4>
- CHAUDHARY, K.; AGARWAL, S.; KHAN, S. Role of phytochelatins (PCs), metallothioneins (MTs), and heavy metal ATPase (HMA) genes in heavy metal tolerance. **Mycoremediation and Environmental Sustainability.**, Springer, p. 39–60, 2018. <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-77386-5>
- CHEN, L. et al. Interaction of Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. and functional endophyte *Pseudomonas* sp. Lk9 on soil heavy metals uptake. **Soil Biol. Biochem.**, v. 68, p. 300-308, 2014. doi:10.1016/j.soilbio.2013.10.021
- CORPAS, F. J. et al. Plant peroxisomes: a nitro-oxidative cocktail. **Redox Biol.**, v. 11, p. 535–542, 2017. doi: 10.1016/j.redox.2016.12.033

- CUYPERS, A. et al. Cadmium and copper stress induce a cellular oxidative challenge leading to damage versus signalling. In: GUPTA, D. K.; SANDALIO, L. M. **Metal Toxicity in Plants: Perception, Signaling and Remediation.**, Springer; Berlin/Heidelberg, Germany, p. 65–90, 2012.
- DALCORSO, G. et al. Heavy metal pollutions: state of the art and innovation in phytoremediation. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 20, n. 3412, 2019. doi: 10.3390/ijms20143412
- DIAS, M. C. et al. Cadmium toxicity affects photosynthesis and plant growth at different levels. **Acta Physiol Plant**, v. 35, p. 1281–1289, 2013. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1167-8>
- DIAZ-VIVANCOS, P.; BARBA-ESPÍN, G.; HERNÁNDEZ, J. A. Elucidating hormonal/ROS networks during seed germination: insights and perspectives. **Plant Cell Reports**, v. 32, p. 1491-502, 2013.
- DU, Z.; BRAMLAGE, W. J. Modified thiobarbituric acid assay for measuring lipid oxidation in sugar-rich plant tissue extracts. **J. Agric. Food Chem.**, v. 40, n. 9, p. 1566-1570, 1992.
- DUSHENKOV, S. Trends in phytoremediation of radionuclides. **Plant Soil**, v. 249, p. 167–175, 2003. doi: 10.1023/A:1022527207359
- EATON, T. E. Manganese. In: (BARKER, A. V.; PILBEAM, D. J. eds), p. 427–485, CRC Press, 2015.
- EDWARDS, D. G.; ASHER, C. J. Tolerance of crop and pasture species to manganese toxicity. In: **Proceedings of the Ninth International Plant Nutrition Colloquium** (SCAIFE, A. ed.), p. 145–150, Warwick University
- ENGELSMA, G. A possible role of divalent manganese ions in the photoinduction of phenylalanine ammonia-lyase. **Plant Physiol.**, v. 50, p. 599–602, 1972. doi: 10.1104/pp.50.5.599
- FENNER, M.; THOMPSON, K. **The Ecology of Seeds**. Cambridge:Cambridge University Press, 2005.
- FERNÁNDEZ-FARNOCCHIA, R. B.; BENECH-ARNOLD, R. L.; BATLLA, D. Regulation of seed dormancy by the maternal environment is instrumental for maximizing plant fitness in *Polygonum aviculare*. **Journal of Experimental Botany**, v. 70, p. 4793–4806, 2019.
- GAJDOS, E. et al. Effects of Biofertilizers on Maize and Sunflower Seedlings under Cadmium Stress. **Commun. Soil Sci. Plant Anal.**, v. 43, p. 272–279, 2012. doi:10.1080/00103624.2011.638591
- GALLOWAY, L. F. Maternal effects provide phenotypic adaptation to local environmental conditions. **New Phytol.**, v. 166, p. 93–99, 2005.
- GERHARDT, K. E.; GERWING, P. D.; GREENBERG, B. M. Opinion: taking phytoremediation from proven technology to accepted practice. **Plant Sci.**, v. 256, p. 170–185, 2017. doi: 10.1016/j.plantsci.2016.11.016
- GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: I., occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 59, p. 309-314, 1977.
- GINN, B. R.; SZYMANOWSKI, J. S.; FEIN, J. B. Metal and proton binding onto the roots of *Fescue rubra*. **Chem. Geol.**, v. 253, p. 130–135, 2008. doi: 10.1016/j.chemgeo.2008.05.001

- HAWKES, S. J. What Is a "Heavy Metal"? *Journal of Chemical Education*. v. 74, n. 11, 1374p, 1997. doi:10.1021/ed074p1374
- HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives in Biochemistry and Biophysics**, v. 125, p. 189–198, 1968.
- HERMAN, J. J.; SULTAN, S. E. Adaptive transgenerational plasticity in plants: case studies, mechanisms, and implications for natural populations. *Front. Plant Sci.*, v. 2, n. 102, 2011. doi: 10.3389/fpls.2011.00102
- HERZING, R. et al. Feasibility of labile Zn phytoextraction using enhanced tobacco and sunflower: results of five-and one-year field-scale experiments in Switzerland. **Int. J. Phytoremediat.**, v. 16, p. 735–754, 2014. doi:10.1080/15226514.2013.856846
- HOSEINI, S. M.; ZARGARI, F. Cadmium in Plants: A Review. **International Journal of Farming and Allied Sciences**, Peshawar, v. 2, n. 17, p. 579-581, 2013.
- HOU, D. Y. et al. Climate change mitigation potential of contaminated land redevelopment: A city-level assessment method. **Journal of Cleaner Production**, v. 171, p. 1396–1406, 2018. doi:10.1016/j.jclepro.2017.10.071
- HUYBRECHTS, M. et al. Cadmium and Plant Development: An Agony from Seed to Seed. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 20, n. 16, p. 3971, 2019. doi:10.3390/ijms20163971.
- JABEEN, N. et al. Glycinebetaine mediates chromium tolerance in mung bean through lowering of Cr uptake and improved antioxidant system. **Arch. Agron. Soil Sci.**, v. 62, p. 648–662, 2016. doi:10.1080/03650340.2015.1082032
- JACOB, J. M. et al. Biological approaches to tackle heavy metal pollution: a survey of literature. **J. Environ. Manage.**, v. 217, p. 56–70, 2018. doi: 10.1016/j.jenvman.2018.03.077
- JAOUANI, K. et al. Cadmium effects on embryo growth of pea seeds during germination: Investigation of the mechanisms of interference of the heavy metal with protein mobilization-related factors. **Journal of Plant Physiology**, v. 226, p. 64–76, 2018. doi:10.1016/j.jplph.2018.02.009
- JAVED, M. T. et al. “Chapter 20 – Phytoremediation of cadmium-polluted water/sediment by aquatic macrophytes: role of plant-induced pH changes,” in **Cadmium Toxicity and Tolerance in Plants**, eds. London: Academic Press, p. 495–529, 2019. doi: 10.1016/B978-0-12-814864-8.00020-6
- JIA, X. et al. Groundwater depletion and contamination: Spatial distribution of groundwater resources sustainability in China. **Science of the Total Environment**, v. 672, p. 551–562, 2019. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.03.457
- KABATA-PENDIAS, A. Cadmium. In: Trace elements in soils and plants (p. 287–304). Boca Raton, FL: CRC Press, 2011.
- KANWAR, V. S. et al. Phytoremediation of toxic metals present in soil and water environment: a critical review. **Sci. Pollut. Res, Environ.**, 2020 <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10713-3>
- KÄRENLAMPI, S. et al. Genetic engineering in the improvement of plants for phytoremediation of metal polluted soils. **Environ. Pollut.**, v. 107, p. 225–231, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(99\)00141-4](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(99)00141-4)

- KHALID, S. et al. A comparison of technologies for remediation of heavy metal contaminated soils. **J. Geochem. Explor.**, v. 182, p. 247-268, 2017. doi:10.1016/j.gexplo.2016.11.021
- KNUDSEN, C. et al. Dynamic metabolic solutions to the sessile life style of plants. **Natural Product Reports**, 2018. doi:10.1039/c8np00037a
- KOU, H. P. et al. Heritable alteration in DNA methylation induced by nitrogen-deficiency stress accompanies enhanced tolerance by progenies to the stress in rice (*Oryza sativa* L.). **J. Plant Physiol.**, v. 168, p. 1685–1693, 2011.
- KURIAKOSE, S. V.; PRASAD, M. N. V. Cadmium stress affects seed germination and seedling growth in *Sorghum bicolor* (L.) Moench by changing the activities of hydrolyzing enzymes. **Plant Growth Regulation**, v. 54, n. 2, p. 143–156, 2007. doi:10.1007/s10725-007-9237-4
- LASAT, M. M. Phytoextraction of toxic metals: A review of biological mechanisms. **J Environ Qual**, v. 31, p. 109–120, 2002.
- LATZEL, V.; KLIMEŠOVÁ, J. Transgenerational plasticity in clonal plants. **Evol. Ecol.**, v. 24, p. 1537–1543, 2010. doi: 10.1007/s10682-010-9385-2
- LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: PACKER, L.; DOUCE, R. (Eds.). **Methods in enzymology**. Bad Honnef: Academic, v.148, p.350-382, 1987.
- MAHAR, A. et al. Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: a review. **Ecotox. Environ. Safe.**, v. 126, p. 111–121, 2016. doi: 10.1016/j.ecoenv.2015.12.023
- MAO, X. et al. Use of surfactants for the remediation of contaminated soils: A review. **J. Hazard. Mater**, v. 285, p. 419-435, 2015. doi:10.1016/j.jhazmat.2014.12.009
- MARQUES, T. C. L. L. S. M. et al. Respostas fisiológicas e anatômicas de plantas jovens de eucalipto expostas ao cádmio. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 35, n. 5, p. 997-1006, 2011.
- MCNAUGHTON, R. L. et al. Probing in vivo Mn^{2+} speciation and oxidative stress resistance in yeast cells with electron-nuclear double resonance spectroscopy. **Proc. Natl. Acad. Sci U.S.A.**, v. 107, p. 15335–15339, 2010. doi:10.1073/pnas.1009648107
- MENGEL, K.; KIRKBY, E. A. Manganese in crop nutrition. In: **Principles of Plant Nutrition**, (4. Ed.), International Potash Institute, p. 521–523, 1987.
- MILLALEO, R. et al. Manganese as essential and toxic element for plants: transport, accumulation and resistance mechanisms. **J. Soil. Sci. Plant. Nut.**, v. 10, p. 476–494, 2010.
- MOULIS, J. M. Cellular mechanisms of cadmium toxicity related to the homeostasis of essential metals. **Biometals**, v. 23, p. 877–896, 2010. <https://doi.org/10.1007/s10534-010-9336-y>
- MULLER, K. et al. In vivo cell wall loosening by hydroxyl radicals during cress seed germination and elongation growth. **Plant Physiol.**, v. 150, p.1855–1865, 2009.
- NAJAFPOUR, M. M. et al. Manganese Compounds as Water-Oxidizing Catalysts: From the Natural Water-Oxidizing Complex to Nanosized Manganese Oxide Structures. **Chemical Reviews**, v. 116, n. 5, p. 2886–2936, 2016. doi:10.1021/acs.chemrev.5b00340

- NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, Oxford, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.
- NEDJIMI, B. Germination characteristics of *Peganum harmala* L. (Nitrariaceae) subjected to heavy metals: implications for the use in polluted dryland restoration. **Int J Environ Sci Technol.**, v. 17, p. 2113–2122, 2020.
- NEWMAN, L. A.; REYNOLDS, C. M. Phytodegradation of organic compounds. **Curr Opin Biotechnol.**, v. 15, p. 225–230, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.copbi.2004.04.006>
- ÖNNERUD, H. et al. Polymerization of monolignols by redox shuttle-mediated enzymatic oxidation. **Plant Cell**, v. 14, p. 1953–1962, 2002. doi: 10.1105/tpc.001487
- PEIXOTO, P. H. P. et al. Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Rev. Bras. Fisiol. Veg.**, v. 3, n.11, p. 137-143, 1999.
- PINTO et al. Influence of soil chemistry and plant physiology in the phytoremediation of Cu, Mn, and Zn. **Crit. Rev. Plant Sci.**, v. 33, p. 351–373, 2014. <http://dx.doi.org/10.1080/07352689.2014.885729>
- PRZEDPELSKA-WASOWICZ, E. M.; WIERZBICKA, M. Gating of aquaporins by heavy metals in *Allium cepa* L. epidermal cells. **Protoplasma**, v. 248, p. 663–671, 2011. <https://doi.org/10.1007/s00709-010-0222-9>
- PULFORD, I. D.; WATSON, C. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees—a review. *Environ Int.*, v. 29, p. 529-540, 2003.
- QIN, S. et al. Toxicity of cadmium and its competition with mineral nutrients for uptake by plants: A review. **Pedosphere**, v. 30, n. 2, p. 168–180, 2020. doi:10.1016/s1002-0160(20)60002-9
- RAI, P. K. et al. Molecular mechanisms in phytoremediation of environmental contaminants and prospects of engineered transgenic plants/microbes. **Sci Total Environ.**, v. 705, p. 135858, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135858>
- RAS. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análises de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 2009. 398p.
- RASCIO, N.; NAVARI-IZZO, F. Heavy metal hyperaccumulating plants: how and why do they do it? And what makes them so interesting? **Plant Sci.**, v. 180, p. 169–181, 2011. doi: 10.1016/j.plantsci.2010.08.016
- REDDI, A. R. et al. The overlapping roles of manganese and Cu/Zn SOD in oxidative stress protection. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 46, p. 154–162, 2009. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2008.09.032
- REZANIA, S. et al. Comprehensive review on phytotechnology: heavy metals removal by diverse aquatic plants species from wastewater. **J. Hazard Mater.**, v. 318, p. 587–599, 2016. doi: 10.1016/j.jhazmat.2016.07.053
- RIVETTA, A.; NEGRINI, N.; COCUCCI, M. Involvement of Ca²⁺-calmodulin in Cd²⁺ toxicity during the early phases of radish (*Raphanus sativus* L) seed germination. **Plant Cell Environ.**, v. 20, p. 600–608, 1997. doi: 10.1111/j.1365-3040.1997.00072.x.

- RIZWAN, M. et al. Cadmium stress in rice: toxic effects, tolerance mechanisms, and management: a critical review. **Environ. Sci. Pollut. Res.**, 2016 doi:10.1007/s11356-016-6436-4
- ROLLAND, F.; BAENA-GONZALEZ, E.; SHEEN, J. Sugar sensing and signaling in plants: Conserved and Novel Mechanisms. **Annual Review of Plant Biology**, v. 57, n. 1, p. 675-709, 2006
- SALT, D. E.; SMITH, R. D.; RASKIN, I. Phytoremediation. **Annu. Rev. Plant Phys.**, v. 49, p. 643–668, 1998. doi: 10.1146/annurev.arplant.49.1.643
- SARWAR, N. et al. Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: modifications and future perspectives. **Chemosphere**, v. 171, p.710–721, 2017
- SASAKI, A. et al. Nramp5 is a major transporter responsible for manganese and cadmium uptake in rice. **Plant Cell**, n. 24, p. 2155-2167, 2012.
- SCHUTZENDUBEL, A.; POLLE, A. Plant responses to abiotic stresses: Heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. **J. Exp. Bot.**, v. 53, p. 1351–1365, 2002. doi: 10.1093/jexbot/53.372.1351.
- SFAXI-BOUSBIH, A.; CHAOUI, A.; EL FERJANI, E. Cadmium impairs mineral and carbohydrate mobilization during the germination of bean seeds. **Ecotoxicol. Environ. Safe.**, v. 73, p.1123–1129, 2010. doi:10.1016/j.ecoenv.2010.01.005
- SHAH, V.; DAVEREY, A. Phytoremediation: A multidisciplinary approach to clean up heavy metal contaminated soil. **Environ Technol Innov**, v. 18, p. 100774, 2020
- SHAHEEN, S. M.; RINKLEBE, J. Phytoextraction of potentially toxic elements by Indian mustard, rapeseed, and sunflower from a contaminated riparian soil. **Environ. Geochem. Health**, v. 37, p. 953–967, 2015. doi:10.1007/s10653-015-9718-8
- SHAO, J. F et al. The Key to Mn Homeostasis in Plants: Regulation of Mn Transporters. **Trends in Plant Science**, v. 22, n. 3, p. 215–224, 2017. doi:10.1016/j.tplants.2016.12.005
- SHARMILA, P. et al. Cadmium toxicity-induced proline accumulation is coupled to iron depletion. **Protoplasma**, v. 254, p. 763–770, 2017. <https://doi.org/10.1007/s00709-016-0988-5>
- SIDDIQUEE, S. et al. Microbial & biochemical technology heavy metal contaminants removal from wastewater using the potential filamentous fungi biomass: A review. **Microbiol. Biochem. Technol.**, v. 7, p. 384–393, 2015
- SILVA-ORTEGA, C. O. et al. Salt stress increases the expression of P5CS gene and induces proline accumulation in cactus pear. **Plant Physiol Biochem**, v. 46, p. 82–92, 2008.
- SIMONS, A. M. Modes of response to environmental change and the elusive empirical evidence for bet hedging. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 278, p. 1601–1609, 2011.
- SIVARAMAKRISHNAN, N. et al. Phytoremediation of heavy metals: Mechanisms, methods and enhancements. **Environmental Chemistry Letters.**, 2018. 10.1007/s10311-018-0762-3.t
- SMIRI, M. et al. Cadmium affects the glutathione/glutaredoxin system in germinating pea seeds. **Biol. Trace Elem. Res.**, v. 142, p. 93–105, 2011. doi: 10.1007/s12011-010-8749-3.
- SMIRI, M.; JELALI, N.; EL GHOUL, J. Cadmium affects the NADP-thioredoxin reductase/thioredoxin system in germinating pea seeds. **J. Plant Interact.**, v. 8, p. 125–133, 2013. doi: 10.1080/17429145.2012.689865.

- SOCHA, A. L.; GUERINOT, M. L. Mn-euvering manganese: the role of transporter gene family members in manganese uptake and mobilization in plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, p. 106, 2014. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00106>
- SUMAN, J. et al. Phytoextraction of heavy metals: a promising tool for clean-up of polluted environment? **Front Plant Sci.**, v. 9, p. 1476, 2018. doi: 10.3389/fpls.2018.01476
- TANGAHU, B. V. A Review on Heavy Metals (As, Pb, and Hg) Uptake by Plants Through Phytoremediation. International Journal of Chemical Engineering, 2011. DOI:10.1155/2011/939161
- TEKLIĆ, T. et al. Metallic trace elements in cereal grain – A review: How much metal do we eat? **Food and Energy Security**, v. 2, p. 81–95, 2013.
- THAKUR, S. et al. Plant-driven removal of heavy metals from soil: uptake, translocation, tolerance mechanism, challenges, and future perspectives. **Environ. Monit. Assess.**, v. 188, 2016. <http://dx.doi.org/10.1007/s10661-016-5211-9>.
- TLUSTOŠ, P. et al. Removal of As, Cd, Pb, and Zn from contaminated soil by high biomass producing plants. **Plant Soil Environ.**, v. 52, p. 413–423, 2006. doi: 10.17221/3460-pse
- TOMÉ, F. V.; RODRÍGUEZ, P. B.; LOZANO, J. Elimination of natural uranium and ²²⁶Ra from contaminated waters by rhizofiltration using *Helianthus annuus* L. **Sci. Total Environ.**, v. 393, p. 351–357, 2008. doi: 10.1016/j.scitotenv.2008.01.013
- TRUYENS, S. et al. Changes in the population of seed bacteria of transgenerationally Cd-exposed *Arabidopsis thaliana*. **Plant Biology**, v. 15, p. 971–981, 2013.
- UENO, D. et al. A polarly localized transporter for efficient manganese uptake in rice. **Nat. Plants**, v. 1, p. 15170, 2015.
- VANGRONSVELD, J. et al. Phytoremediation of contaminated soils and groundwater: lessons from the field. **Environ. Sci. Pollut. R.**, v. 16, p. 765–794, 2009. doi: 10.1007/s11
- VELIKOVA, V.; YORDANOV, I.; EDREVA, A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. **Plant Science**, v. 151, n. 1, p. 59-66, 2000.
- VIK, P.; EILEN, P.; BARDOS, P. Remediation of Contaminated Land Technology Implementation in Europe - A Report from the **Contaminated Land Rehabilitation Network for Environmental Technologies**, 2002.
- WEISS, A. N. et al. Maternal effects and embryo genetics: Germination and dormancy of crop-wild sunflower hybrids. **Seed Science Research**, v. 23, p. 241–255, 2013.
- WHITMAN, D. W.; AGRAWAL, A. A. “What is phenotypic plasticity and why is it important,” in **Phenotypic Plasticity Of Insects: Mechanisms And Consequences**, 1. ed. Boca Raton: CRC Press, p. 1–63, 2009.
- WHITTLE, C. et al. Adaptive epigenetic memory of ancestral temperature regime in *Arabidopsis thaliana*. **Botany**, v. 87, p. 650–657, 2009.
- WUANA, R. A.; OKIEIMEN, F. E. Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. **Isrn Ecology**, 2011. doi: 10.5402/2011/402647

- YAN, A. et al. Phytoremediation: A Promising Approach for Revegetation of Heavy Metal-Polluted Land. **Front. Plant Sci.**, v. 11, p. 359, 2020. doi:10.3389/fpls.2020.00359
- YE, S. et al. Biological technologies for the remediation of co-contaminated soil. **Crit. Rev. Biotechnol.**, 2017. <https://doi.org/10.1080/07388551.2017.1304357>
- YEMM, E. W.; COCKING, E. C. The determination of amino acids with ninhydrin. **Analyst.** v. 80, p. 209-213, 1955.
- YOUSAF, B. et al. Bioavailability evaluation, uptake of heavy metals and potential health risks via dietary exposure in urban-industrial areas. **Environ Sci Pollut Res**, v. 23, p. 22443–22453, 2016. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7449-8>
- ZAYED, A.; GOWTHAMAN, S.; TERRY, N. Phytoaccumulation of trace elements by wetland plants: I. Duckweed. **Journal of Environment Quality**, v. 27, n. 3, p. 715–721, 1998.
- ZHAO, F. J. et al. Cadmium uptake, translocation and tolerance in the hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*, **New Phytologist**, v. 172, p. 646-654, 2006.