

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar



TESE

**Silício como amenizador da toxicidade de cádmio em
alface**

Aline Soares Pereira

Pelotas, 2022

Aline Soares Pereira

**Silício como amenizador da toxicidade de cádmio em
alface**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar, da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Rogério Mauch

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Roberta Marins Nogueira Peil

Coorientador: Prof. Dr. Luciano do Amarante

Pelotas, 2022

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

P111s Pereira, Aline Soares

Silício como amenizador da toxicidade de cádmio em alface / Aline Soares Pereira ; Carlos Rogério Mauch, orientador. — Pelotas, 2022.

104 f.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

1. Nutrição mineral. 2. Metal pesado. 3. Sistema hidropônico. 4. Veneranda. 5. Rubinela. I. Mauch, Carlos Rogério, orient. II. Título.

CDD : 631.52

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

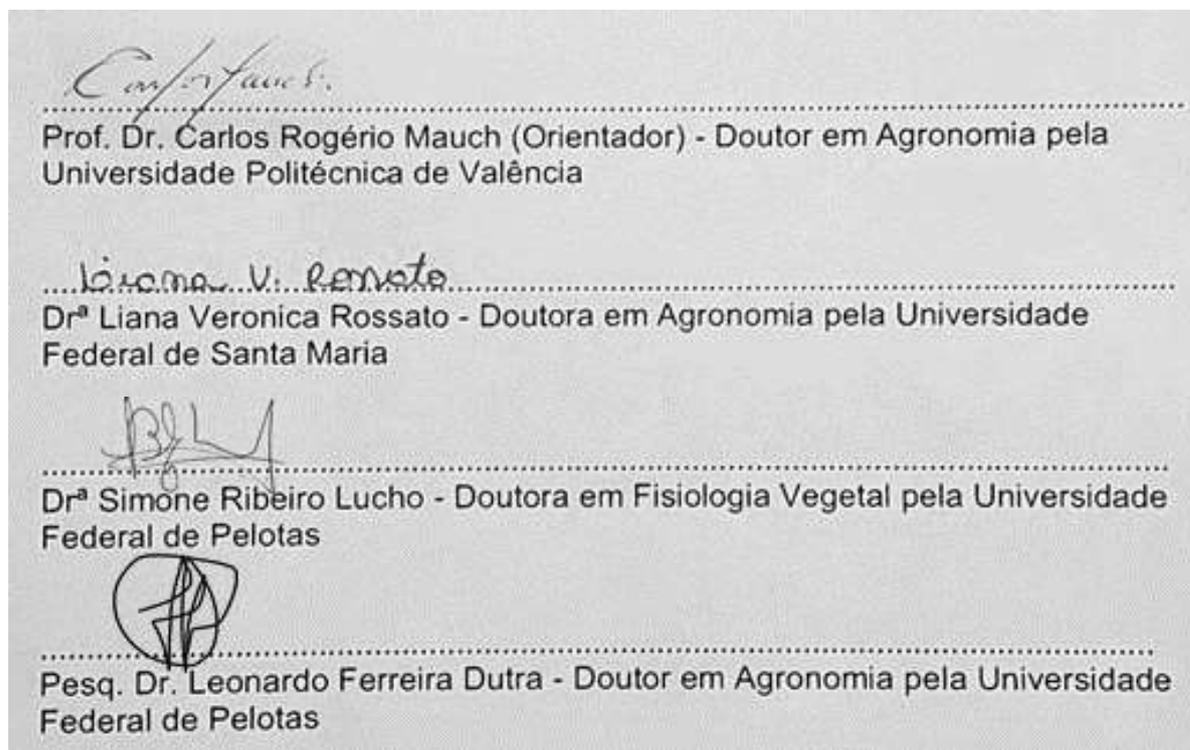
Aline Soares Pereira

Silício como amenizador da toxicidade de cádmio em alface

Tese apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar, da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Agronomia.

Data da defesa: 25/02/2022

Banca examinadora:



*Aos meus pais, Luiz Augusto Sodate
Pereira e Maria Luiza Soares Pereira, pelo
que representam em minha vida, **dedico.***

Agradecimentos

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

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

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

-ao meu Fisiologista Vegetal, Dr. Athos Odin Severo Dorneles, amigo, companheiro, orientador, coorientador, professor, revisor, meu braço direito nos experimentos. Que me acompanha desde a graduação, não só na carreira acadêmica, como na vida em geral. Obrigada pelo teu incentivo, por nunca me deixar desistir, por sua extrema paciência para me aturar durante meus ataques de “estresse” e procrastinação, obrigada por todo o apoio na minha vida. Te Amo!

-ao meu orientador, Prof. Carlos Rogério Mauch, obrigado por ter me dado a oportunidade de ser sua orientada. De sempre me apoiar, de confiar no meu trabalho, por acreditar em minha capacidade profissional e desenvolvimento pessoal.

- a minha coorientadora Prof^a. Roberta Marins Nogueira Peil, responsável pelo Laboratório de Plantas e pelo grupo de Pesquisa em Cultivo sem solo, por me dar todo o suporte e apoio para realização dos meus experimentos em casa de vegetação. O mesmo se estende aos seus orientados e colegas Josiele Garcia Dutra, Mussa Mamudo Salé, Cristiane Neutzling, Fabiane Kletke, Katia Ruiz, Luiza Krolow Gehrke e Maicon Leão.

- ao meu coorientador Prof. Luciano do Amarante, responsável pelo Laboratório de Bioquímica, por me dar todo o suporte e apoio para realização das minhas análises. O mesmo se estende aos seus orientados Darwin Alexis Pomagualli, Eduardo Pereira Shimoia, Cristiane Jovelina da Silva, Tamires da Silva Martins, e Douglas Antônio Posso.

- a Prof. Mariana Antunes Vieira, responsável pelo Laboratório de Metrologia

Química, por todo o suporte na realização das análises. Meu agradecimento se estende aos seus orientados Meibel Teixeira Lisboa, Charlie Guimarães Gomes, Daísa Bönemann e Eduardo Grill da Silva Carvalho. Obrigada por toda a ajuda e atenção.

- ao Prof. Leonardo Ferreira Dutra, responsável pelo Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Clima Temperado, onde fui estagiária e fiz parte de um trabalho de tese. Obrigada por deixar eu fazer parte do Lab. Meu agradecimento se estende aos seus orientados Marisa Taniguchi, Camila Muller Dallmann, Talis Basilio da Silva, Andrio Copatti e também a analista Juliana Hey, por toda a parceria.

-a minha querida colega, revisora dos artigos e da minha tese e grande amiga que o SPAF me deu, a “desgarrada” e futura Dr^a Josiele Garcia Dutra, agradeço por todos os auxílios, desabafos, reclamações e principalmente pela amizade. Principalmente nesse tempo de pandemia, não deixando de nos auxiliarmos. Não esquece, mesmo longe durante teu doc, quero te ajudar no que for preciso. Obrigadãooooo

- a minha querida amiga Katieli Bernardy, agradeço pela amizade.

- ao meu querido amigo e irmão que o mestrado me deu Dr. Gabriel Streck Bortolin, pela parceria do nosso primeiro artigo e acima de tudo pela amizade.

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

- aos professores, do PPG em Sistemas de Produção Agrícola Familiar - SPAF, pelos ensinamentos.

- a nossa secretária Luci Nara de Lima Pereira, agradeço por todo o suporte e ajuda, sempre ajudando mesmo nessa época de pandemia.

-ao Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar - SPAF, por me proporcionar uma oportunidade de crescimento profissional.

-a Universidade Federal de Pelotas e ao Departamento de Fitotecnia pela oportunidade e infraestrutura disponibilizadas.

-a todos que, de alguma forma, contribuíram e fizeram parte dessa caminhada.

A todos, MUITO OBRIGADA!

Epígrafe

*“Sopram ventos desgarrados, carregados de saudade
Viram copos viram mundos, mas o que foi nunca mais será”
Desgarrados - Mário Barbará*

*“Sirvam nossas façanhas
De modelo a toda Terra”
Francisco Pinto da Fontoura*

Resumo

PEREIRA, Aline Soares. **Silício como amenizador da toxicidade de cádmio em alface**. 2022. 104f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Plantas de alface têm sido amplamente utilizadas como modelo para testes de toxicidade, principalmente por serem sensíveis quando expostas a estresses, como a contaminação por Cádmio (Cd). Para conter o avanço da contaminação por esse metal, utilizam-se os amenizantes, como o silício (Si), que tem se mostrado um excelente atenuante da toxicidade dos metais. Com isso, o objetivo foi avaliar o potencial do silício sobre as variáveis fisiológicas e bioquímicas de plantas de diferentes cultivares de alface cultivadas sob toxicidade do cádmio. Foi realizado um experimento com a germinação de sementes e desempenho de plântulas de alface da cultivar Veneranda. Sementes intactas foram submetidas ao *hidropriming* e ao *priming* com silício e colocadas para germinar em papel umedecido com a presença (1 mM) e ausência (0 mM) de Cd. Os resultados mostraram que a presença de Cd, o *priming* de silício contribuiu para minimizar os efeitos deste metal, e o percentual final de germinação não foi afetado, já na ausência deste metal, o *priming* com Si promoveu um aumento na velocidade deste processo. Também foi realizado um experimento em sistema hidropônico com duas cultivares comerciais de alface: Veneranda e Rubinela. As mudas foram levadas ao sistema hidropônico NFT (Nutrient Film Technique) com solução nutritiva recirculante, e após aclimação foram adicionados os seguintes tratamentos: T1 (solução nutritiva); T2 (solução nutritiva + 2.500 μM de Si); T3 (solução nutritiva + 0,5 μM de Cd); T4 (solução nutritiva + 0,5 μM de Cd + 2,500 μM de Si), foram avaliados nesse experimento as variáveis morfofisiológicas e bioquímicas. A presença de Cd afetou negativamente todas as variáveis avaliadas na presente tese, causando clorose e mudanças anatômicas observadas nas raízes e na parte aérea. O Si, quando adicionado ao Cd, apresentou efeito mitigador na toxicidade desse metal, promovendo melhores resultados em todas estas variáveis. Com isso, podemos concluir que o Cd teve um efeito negativo no crescimento das plantas, enquanto a adição de Si amenizou o estresse causado pelo Cd. Há potencial do Si em mitigar a toxicidade do Cd em alface, podendo ser utilizado para aumentar a produtividade e qualidade desta hortaliça, que é de grande importância e é consumida mundialmente.

Palavras-chave: Nutrição mineral, metal pesado, Sistema hidropônico, Veneranda, Rubinela.

Abstract

PEREIRA, Aline Soares. Silicon as a mitigator of cadmium toxicity in lettuce. 2022. 104f. Thesis (PhD in Agronomy) - Graduate Program in Family Agricultural Production Systems, Agronomy School Eliseu Maciel, Federal University of Pelotas, Pelotas.

Lettuce plants have been widely used as a model for toxicity tests, mainly because they are sensitive when exposed to stresses, such as Cadmium (Cd) contamination. To contain the advance of contamination by this metal, softeners are used, such as silicon (Si), which has been shown to be an excellent attenuator of the toxicity of metals. Thus, the objective was to evaluate the potential of silicon on the physiological and biochemical variables of plants of different lettuce cultivars grown under cadmium toxicity. An experiment was carried out with seed germination and seedling performance of lettuce cultivar Veneranda. Intact seeds were subjected to hydropriming and silicon priming and placed to germinate on paper moistened with the presence (1 mM) and absence (0 mM) of Cd. The results showed that in the presence of Cd, silicon priming contributed to minimize the effects of this metal, and the final percentage of germination was not affected, since in the absence of this metal, priming with Si promoted an increase in the speed of this process. An experiment was also carried out in a hydroponic system with two commercial lettuce cultivars: Veneranda and Rubinela. The seedlings were taken to the NFT (Nutrient Film Technique) hydroponic system with recirculating nutrient solution, and after acclimatization the following treatments were added: T1 (nutrient solution); T2 (nutrient solution + 2,500 μM of Si); T3 (nutrient solution + 0,5 μM of Cd); T4 (nutrient solution + 0,5 μM of Cd + 2,500 μM of Si), the morphophysiological and biochemical variables were evaluated in this experiment. The presence of Cd negatively affected all the variables evaluated in the present thesis, causing chlorosis and anatomical changes observed in the roots and shoots. Si, when added to Cd, had a mitigating effect on the toxicity of this metal, promoting better results in all these variables. Thus, we can conclude that Cd had a negative effect on plant growth, while the addition of Si alleviated the stress caused by Cd. There is potential for Si to mitigate the toxicity of Cd in lettuce, and can be used to increase productivity and quality of this vegetable, which is of great importance and is consumed worldwide.

Keywords: Mineral nutrition, heavy metal, Hydroponic system, Veneranda, Rubinela.

Lista de Figuras

Caderno de Campo

Figura 1 – Sistema NFT (“nutrient film technique”).....	40
Figura 2 - Caracterização de todas as etapas para obtenção dos níveis dos fatores priming e cádmio (Cd)	43

Artigo I – Silicon seed priming attenuates cadmium toxicity in lettuce seedlings

Figura 1 - Cumulative germination (A, B), final germination (C) germination index (D), mean germination time (E), and germination speed coefficient (F) of lettuce.....	51
Figura 2 - Expression and relative band intensity of enzymes acid phosphatase (A) and esterase (B) isoforms in lettuce seeds.....	52
Figura 3 - Illustration of lettuce seedlings at the end of the germination test (A), as well as the results of shoot (B) and root (C) lengths, as well as shoot (D) and root (E) dry weights of seedlings from lettuce seeds.....	53
Figura 4 - Activities of the antioxidant enzymes superoxide dismutase (A), catalase (B) and ascorbate peroxidase (C), as well as malondialdehyde content (D) in seedlings from lettuce seeds.....	53

Artigo II – O uso de silício como redutor de conteúdo e toxicidade de cádmio em alface, aumentando à atividade antioxidante e reduzindo o estresse oxidativo

Figura 1 - Massa seca da parte aérea (A) e massa seca da raiz (B) de duas cultivares de alface expostas ao Cd (0,5µM) na presença de Si (2,500µM) na solução nutritiva.....	61
Figura 2 - Conteúdo de cádmio (A (PA) e B (R)) e silício (C (PA) e D (R)) nos tecidos de duas cultivares de alface expostas a Cd e Si.....	62
Figura 3 - Fator de translocação (TF): A - Cd e Cd + Si, B - Si e Cd + Si em duas cultivares de alface expostas ao Cd e Si.....	63
Figura 4 - Atividade enzimática da superóxido dismutase (SOD - A (PA) e B (R)), atividade da catalase (CAT - C (PA) e D (R)) e ascorbato peroxidase (APX - E (PA) e F (R)), de duas cultivares de alface expostas ao Cd e Si.....	65

Figura 5 - Peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂ - A (PA) e B (R)) e peroxidação lipídica (MDA - C (PA) e D (R)) de duas cultivares de alface expostas ao Cd e Si.....	66
--	----

Artigo III – Efeito atenuante do silício na produção e qualidade de plantas de alface contaminadas por cádmio

Figura 1 - Massa fresca de parte aérea (A), massa fresca de raiz (B) de duas cultivares de alface exposta a Cd (0,5µM) na presença de Si (2,500µM) na solução nutritiva.....	83
Figura 2 - Sanidade das plantas (A), circunferência da parte aérea (B) diâmetro do caule (C) e comprimento de raiz (D), de duas cultivares de alface exposta a Cd (0,5µM) na presença de Si (2,500µM)	84
Figura 3 - Plantas de duas cultivares de alface exposta a Cd (0,5µM) na presença de Si (2,500µM).....	85
Figura 4 - Área foliar (A), número total de folhas (B) e número de folhas comerciais (C), de duas cultivares de alface exposta a Cd (0,5µM) na presença de Si (2,500µM).....	85
Figura 5 - Teores de clorofila α (A), clorofila β (B), clorofila total (C) e de carotenóides (D) de duas cultivares de alface exposta a Cd (0,5µM) na presença de Si (2,500µM).....	86

APÊNDICES

Apêndice A – Experimento III: Processo de germinação das sementes....	102
Apêndice B – Experimento I e II: mudas e plantas de alface no sistema NFT.....	103
Apêndice C – Experimento I e II: Sistema de bombeamento, utilizado no sistema NFT.....	104

Lista de Tabelas

Projeto de Pesquisa

Tabela 1 - Quantidades de sais para o preparo de 1.000 L de solução nutritiva.....	24
Tabela 2 - Diárias e passagens.....	28
Tabela 3 - Material permanente.....	28
Tabela 4 - Material de consumo para experimentos.....	28
Tabela 5 - Material para análises.....	28

Artigo III – Efeito atenuante do silício na produção e qualidade de plantas de alface contaminadas por cádmio

Tabela 1 - Teor de Cd, Si, macro e micronutrientes nos tecidos (PA e R) das plantas de duas cultivares de alface expostas a Cd (0,5 μ M) na presença de Si (2,500 μ M) na solução nutritiva.....	88
--	----

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	15
1.1 Hipotese	18
1.2 Objetivos	18
1.2.1 Objetivo geral	18
1.2.2 Objetivos específicos	18
1.3 Metas	18
2 PROJETO DE PESQUISA.....	19
2.1 Identificação.....	21
2.1.1 Instituição.....	21
2.1.2 Equipe.....	21
2.2 Antecedentes e justificativa.....	22
2.3 Material e Métodos.....	24
2.4 Recursos Necessários.....	28
2.5 Cronograma de Execução da Pesquisa.....	29
2.6 Divulgação Prevista.....	29
2.7 Referências	30
3 RELATÓRIO DE TRABALHO DE CAMPO.....	38
4 ARTIGOS.....	47
Artigo I – Silicon seed priming attenuates cadmium toxicity in lettuce seedlings.....	48
Artigo II – O uso de silício como redutor de conteúdo e toxicidade de cádmio em alface, aumentando à atividade antioxidante e reduzindo o estresse oxidativo.....	57
Artigo III – Efeito atenuante do silício na produção e qualidade de plantas de alface.....	79
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	95
REFERÊNCIAS.....	96
APÊNDICE.....	101

1 Introdução

As hortaliças constituem um grupo de plantas que abrange mais de 100 espécies de importância econômica, com destaque as folhosas como a alface (*Lactuca sativa* L.) (PEDRINHO et al., 2021). A Alface é uma planta herbácea, pertencente à família Asteraceae, sendo uma das hortaliças mais presentes na mesa dos brasileiros. Por ser a hortaliça folhosa mais cultivada e consumida no Brasil, possui grande diversidade de tipos comercializados tais como crespa, americana, lisa e romana (ECHER et al., 2016; VILELA; LUENGO, 2017; PEDRINHO et al., 2021). Entre os tipos lisa e crespa, esta última predomina os cultivos atualmente (SALA; COSTA, 2012). Quanto à coloração e à estrutura, podem ser verdes, arroxeadas ou amareladas, podendo ou não formar “cabeça” (SILVA, 2018). A cultivar Rubinela® é do tipo crespa, apresenta cor vermelho brilhante com centro verde, sem formação de cabeça (ROSSI, 2017). A cultivar Veneranda® é do tipo crespa, possui cor verde, folhas soltas e sem formação de cabeça (SILVA, 2018). Estas cultivares são algumas das mais cultivadas na região e apresentam boa aceitação no mercado.

É uma planta do ano todo, originária de regiões de clima temperado. Produz melhor em condições de dias curtos e temperaturas amenas, sendo que o ideal para seu desenvolvimento está na faixa de 15,5 a 18,3°C, apesar de tolerar temperaturas de 26,6 a 29,4°C, por alguns dias, desde que as temperaturas noturnas sejam baixas (YURI et al., 2017). Temperaturas muito elevadas podem provocar queima de bordas das folhas externas e também contribuir para a ocorrência de deficiência de cálcio (YURI et al., 2017).

Com uma produção de mais de 1,5 milhões de toneladas ao ano (ABCSEM, 2012; MAIA, 2019), é cultivada em torno de 35 mil hectares anualmente no Brasil (LOPES et al., 2010; SOUSA et al., 2014). Seu cultivo é realizado basicamente em quatro sistemas caracterizados em diferentes aspectos de manejo: convencional (a campo em canteiros), orgânico em campo aberto, cultivo protegido no solo e o sistema hidropônico (FILGUEIRA, 2013; PEDRINHO et al., 2021). A produção de alface se destaca entre agricultores familiares, sendo a preferida entre os produtores que a cultivam em condições de campo ou ambiente protegido (FERREIRA et al., 2009; ROSSI, 2017).

O principal sistema de produção é o convencional, que é realizado no solo, a campo (em canteiros). Este tipo de cultivo é o mais importante em termos de área e de produção, mas também concentra o uso intensivo de fertilizantes minerais, agrotóxicos, irrigação e manejo do solo (LINHARES et al., 2013; CARBONI, 2017), o que demanda maior uso de água e nutrientes ao longo do ciclo da cultura (FACTOR et al., 2010; CARBONI, 2017).

Se o solo não for manejado adequadamente, poderá ser contaminado com metais pesados, os quais são absorvidos pelas plantas sobretudo devido a utilização inadequada e/ou em excesso de fertilizantes e agrotóxicos, além de outras atividades que tenham ocorrido anteriormente no local, como por exemplo a queima de combustíveis fósseis, mineração e a fundição de minérios metálicos, ou ainda, resíduos urbanos e esgotos não tratados (GUO-LI et al., 2008; AZZI et al., 2015).

Em especial, no Rio Grande do Sul a contaminação está fortemente ligada à atividade agrícola e industrial (KAVAMURA; ESPOSITO, 2010; PUGA et al., 2015; PEREIRA et al., 2018). Além dos fertilizantes fosfatados, a aplicação repetida de bio-sólido, lodo de esgoto e resíduos agroindustriais têm aumentado as concentrações de vários metais pesados nos solos agrícolas, inclusive o Cd (CHANEY et al., 2015; ZARE et al., 2018).

O Cd, em particular, é um elemento tóxico para todos os seres vivos, mesmo em baixas concentrações (GARATE et al., 1993; BALDANTONI et al., 2016). De acordo com a Agência Internacional de Pesquisa do Câncer, é um elemento cancerígeno (IARC, 2012) e afeta os processos reprodutivos e o desenvolvimento embrionário (THOMPSON; BANNIGAN, 2008; ABERNETHY et al., 2010), dentre outros problemas que podem ser desencadeados. Portanto, o Cd é um dos metais para os quais a Organização Alimentar e Agrícola e a Organização Mundial da Saúde (FAO-WHO, 1978), estabeleceram um limite máximo de ingestão de 70 µg/d (BALDANTONI et al., 2016).

O Cd é introduzido na cadeia alimentar através das plantas que o absorvem da solução do solo (HMID et al. 2015), e assim que absorvido, ocasiona inúmeras perdas na produtividade e qualidade das culturas agrícolas em geral, ocasionando redução do crescimento e declínio na biomassa das plantas, levando a morte, principalmente devido ao estresse oxidativo (DIAS et al., 2012; YAZDI et al., 2019).

Segundo BALDANTONI et al. (2016) o Cd pode se acumular em

concentrações preocupantes nas folhas de alface, sendo este acúmulo dependente da cultivar e da adubação do solo. Yazdi et al. (2019) confirma que em alface, aproximadamente 35% do total de cádmio absorvido é translocado para a parte aérea da alface. Cabe salientar que as plantas de alface ao serem expostas a contaminação por cádmio (Cd), sendo este um estresse abiótico, além de terem seu crescimento prejudicado, tornam-se mais suscetíveis ao ataque de patógenos (LOPES et al., 2010).

Assim como afeta o desenvolvimento de plantas adultas, o cádmio, estando presente no solo, pode afetar negativamente uma etapa considerada vital na vida de uma planta: a germinação da semente. Entre os motivos que levam a redução do potencial das sementes pelo Cd, Huybrechts et al. (2019) destacam a capacidade deste elemento em afetar a reativação metabólica, reduzindo os níveis de enzimas hidrolíticas, mobilização de amido e a embebição das sementes.

Dessa forma, torna-se necessário o desenvolvimento de estratégias que resultem em uma menor absorção pelas plantas de Cd presente no solo, otimizando o uso dos recursos naturais e a produção de alimentos seguros, essencialmente quando se trata da alface, da qual se consome as folhas *in natura*.

Dentre as alternativas para solucionar os problemas com este metal tóxico no crescimento de plantas está o uso de amenizadores, ou seja, elementos que, quando utilizados em concentrações baixas, podem aliviar os efeitos danosos dos metais tóxicos. O silício (Si) está entre os elementos mais abundantes presentes na crosta terrestre e existe em várias formas, como silicato de potássio, silicato de cálcio, silicato de sódio, poeira de rocha e em culturas acumuladoras de Si (arroz, milho, aveia, cevada, soja, entre outras) (KELLER et al., 2015; RAO et al., 2018). O Si é considerado um elemento benéfico por ser empregado na agricultura com a finalidade de aumentar a tolerância de plantas aos estresses abióticos (DORNELES et al., 2016; PEREIRA et al., 2018). Além de beneficiar o crescimento, desenvolvimento, rendimento e resistência a doenças em grande variedade de espécies vegetais (MA et al. 2015; DORNELES et al., 2016). Estudos mostram que o Si beneficia o crescimento e o desenvolvimento das plantas de alface, tornando as folhas mais firmes e prolongando o seu período de armazenamento (KLEIBER, 2014; GALATI et al., 2015; GREGER et al., 2015; OLLE, 2017; SOUZA et al., 2017). O Si, para humanos ele melhora o sistema imunológico e a saúde mental (DE SANTANA et al. 2021).

Como forma de exclusão de outras eventuais contaminações, é importante que o teste de um elemento como amenizador do outro seja reproduzido fora do solo, afim de se manter o meio de desenvolvimento radicular livre de outros fatores atuantes. Com isso, o presente trabalho objetiva verificar se o silício reduz o efeito tóxico do cádmio em plantas de alface cultivadas em sistema hidropônico.

1.1 Hipotese

O Silício reduz a absorção e transporte de Cádmio em plantas de alface, devido ao seu efeito sobre o metabolismo antioxidante de plantas de alface, reduzindo o estresse oxidativo e as concentrações de Cádmio, além de promover maior crescimento e produtividade.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo geral

Avaliar o potencial do silício sobre as variáveis fisiológicas e bioquímicas de plantas de diferentes cultivares de alface cultivadas sob toxicidade do cádmio.

1.2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o impacto do Si contra a toxicidade e o acúmulo de Cd em plantas de alface cultivadas em hidroponia;
- Avaliar a produtividade e a qualidade das plantas de alface cultivadas na presença de Cd e Si;
- Avaliar a capacidade do Silício (Si) em atenuar os efeitos do Cádmio (Cd) na germinação de sementes e no desempenho de plântulas de alface.

1.3 Metas

- Que o Si consiga complexar o Cd nas raízes, evitando o seu transporte dentro da célula e conseqüentemente sua translocação para a parte aérea;
- Confirmar os resultados positivos quanto o uso do Si na amenização do Cd em plantas de alface.

2 PROJETO DE PESQUISA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar



Projeto de Tese

**SILÍCIO COMO AMENIZADOR DA TOXICIDADE DE CÁDMIO EM PLANTAS
DE ALFACE**

Aline Soares Pereira

Pelotas, 2018

IDENTIFICAÇÃO

Instituição: Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), Departamento de Fitotecnia (DFt), Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar.

Título do projeto: Silício como amenizador da toxicidade de cádmio em Alfaca.

IDENTIFICAÇÃO DA EQUIPE

- Aline Soares Pereira, Discente do Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar. Responsável.
- Carlos Rogério Mauch – Prof. Departamento de Fitotecnia, UFPEL/FAEM. Orientador.
- Roberta Marins Nogueira Peil – Prof^a. Departamento de Fitotecnia, UFPEL/FAEM. Coorientadora.
- Luciano do Amarante – Prof^a. Departamento de Botânica, UFPEL/FAEM. Coorientador.
- Athos Odin Severo Dorneles, Discente do Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. Colaborador.
- Josiele Garcia Dutra – Discente do Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar, UFPEL / FAEM. Colaborador.
- Katia Guadalupe Ruiz Canul - Discente do Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, UFPEL / FAEM. Colaborador.
- Mussa Mamudo Salé, Discente do Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar. Colaborador.
- Cristiane Neutzling, Discente do Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar. Colaborador.

ANTECEDENTES E JUSTIFICATIVA

A poluição por metais tem se tornado um problema ambiental em escala global, afetando diretamente a humanidade (BELON et al., 2012; ALI et al., 2013). Tal problema tem se agravado sobretudo devido às atividades antrópicas, como na industrialização, queima de combustíveis fósseis, mineração e a fundição de minérios metálicos, resíduos urbanos, fertilizantes, pesticidas e esgotos (GUO-LI et al., 2008; AZZI et al., 2015).

No Brasil, os problemas relacionados com o aumento da concentração de metais pesados em solos têm forte relação com as atividades agrícolas e industriais, especialmente no Rio Grande do Sul (KAVAMURA; ESPOSITO, 2010; PUGA et al., 2015). Além dos fertilizantes fosfatados, a aplicação repetida de biossólido, lodo de esgoto e resíduos agroindustriais têm aumentado as concentrações de vários metais pesados nos solos agrícolas, inclusive de cádmio (Cd) (CHANEY et al., 2015; ZARE et al., 2018).

Além de ser introduzido na cadeia alimentar através das plantas que o absorvem da solução do solo (HMID et al. 2015), o Cd ocasiona inúmeras perdas na produtividade e qualidade das culturas agrícolas, reduzindo o crescimento das plantas, principalmente, devido ao estresse oxidativo (DIAS et al., 2012). Dessa forma, torna-se necessário o desenvolvimento de estratégias que resultem em menor absorção pelas plantas desses elementos tóxicos presentes no solo, otimizando o uso dos recursos naturais e a produção de alimentos seguros, essencialmente quando se trata da alface (*Lactuca sativa* L). A alface é uma das hortaliças mais presentes na mesa dos brasileiros, sendo cultivados em torno de 35 mil hectares anualmente no Brasil (LOPES et al., 2010; SOUSA et al., 2014). Cabe salientar que as plantas de alface expostas a estresses abióticos, como a contaminação por Cd, além de terem seu crescimento prejudicado, são mais vulneráveis ao ataque de patógenos (LOPES et al., 2010). Dentre as alternativas buscadas para solucionar os problemas com este metal tóxico no crescimento de plantas está o uso de amenizadores, ou seja, elementos tidos como benéficos, que, quando utilizados em concentrações baixas, podem aliviar os efeitos danosos dos metais tóxicos. O silício (Si) é considerado um dos elementos benéficos para o crescimento de plantas, podendo aumentar a tolerância ao estresse oxidativo (DORNELES et al., 2016; PEREIRA et al., 2018). Estudos mostram que o Si

beneficia o crescimento e o desenvolvimento das plantas de alface, tornando as folhas mais firmes e prolongando o seu período de armazenamento (KLEIBER, 2014; GALATI et al., 2015; GREGER et al., 2015; OLLE, 2017; SOUZA et al., 2017).

Os parâmetros (biométricos, fisiológicos e bioquímicos) propostos no estudo, serão muito importantes para ajudar a elucidar os resultados esperados. As plantas com sintomas de toxicidade, apresentam baixo rendimento no crescimento, menor síntese da clorofila e inibição de enzimas envolvidas na biossíntese desses pigmentos.

Portanto, esse projeto tem como objetivo geral analisar o efeito do silício sobre os parâmetros: biométricos, fisiológicos e bioquímicos de plantas de diferentes cultivares de alface cultivadas sob toxicidade do cádmio. Para isso, pretende-se alcançar os seguintes objetivos específicos:

- Investigar os efeitos do Si na amenização sob a toxidez do Cd sobre o crescimento e os parâmetros fisiológicos (fluorescência da clorofila a e fotossíntese) em plantas de alface;
- Averiguar o efeito amenizador do Si sobre os danos oxidativos (conteúdo de clorofila, carotenoides e peroxidação lipídica) ocasionados pelo Cd em plantas de alface;
- Verificar a interferência do Si nas respostas antioxidantes (peróxido de hidrogênio e enzimas antioxidantes) ocasionadas pelo Cd em plantas de alface;
- Determinar teores de Cd cultivadas em plantas de alface na presença ou ausência de Si;
- Analisar as diferenças genotípicas em plantas de alface cultivadas na presença de Cd e Si.

MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios serão conduzidos em estufa pertencente ao Departamento de Fitotecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas. As análises bioquímicas serão realizadas no Departamento de Bioquímica da mesma universidade, os quais estão localizadas no Campus Capão do Leão, RS (31°52' S, 52°21' O, e 13m de altitude).

O experimento será realizado em épocas diferentes (março/abril e agosto/setembro do ano 2019). Em ambos, serão usadas duas cultivares de alface: Veneranda (verde crespa) e Rubinela (roxa crespa). As mudas serão produzidas em espuma fenólica com 345 células 2x2x2cm disposta em sistema floating de fertirrigação, até apresentarem de quatro a cinco folhas verdadeiras.

As mudas serão transferidas para sistema hidropônico NFT (“nutrient film technique”) ou técnica do fluxo laminar de nutrientes (FURLANI et al., 2009a): o sistema é composto basicamente de um tanque de solução nutritiva, de um sistema de bombeamento, dos canais de cultivo e de um sistema de retorno ao tanque. A solução nutritiva é bombeada aos canais e escoar por gravidade formando uma fina lâmina de solução que irriga as raízes.

A solução nutritiva adotada será a proposta por (FURLANI et al., 2009a), conforme consta na tabela 1, a qual é ideal para as culturas de hortaliças folhosas, como a alface. O pH da solução será ajustado diariamente e mantido a 5,5 ($\pm 0,1$).

Tabela 1 - Quantidades de sais para o preparo de 1.000 L de solução nutritiva.

Macronutrientes	
Nitrato de cálcio Hydro® Especial	750 g
Nitrato de potássio	500 g
Fosfato Monoamônio (MAP)	150 g
Sulfato de magnésio	400 g
Ferrilene ou tenso ferro	30 g
Micronutrientes	
Sulfato de manganês	1,5 g
Ácido bórico	1,5 g
Sulfato de zinco	0,5 g
Sulfato de cobre	0,15 g
Molibdato de sódio	0,15 g

Fonte: Furlani et al., 2009a.

Os seguintes tratamentos serão avaliados: T1 (solução nutritiva padrão); T2 (solução nutritiva + 2,5 μM de Si); T3 (solução nutritiva + 0,5 μM de Cd); T4 (solução nutritiva + 0,5 μM de Cd + 2,5 μM de Si). As doses foram definidas através de trabalhos publicados com esses elementos em hortaliças e plantas medicinais (Si (GALATI et al., 2015; MATTIUZ et al., 2015; PEREIRA et al., 2018), Cd (GONÇALVES et al., 2012; SHI et al., 2012; PEREIRA et al., 2018). As fontes utilizadas serão os sais de silicato de potássio (K_2SiO_3) e cloreto de cádmio (CdCl_2). As plantas serão expostas aos diferentes tratamentos por um período mínimo de 30 dias ou até que as mesmas apresentem sintomas visuais de toxicidade de cádmio (principalmente clorose nas folhas).

Serão avaliados os seguintes parâmetros:

Parâmetros biométricos:

(1) biomassa fresca e seca de raízes e da parte aérea das plantas: as raízes e parte aérea serão coletadas separadamente e pesadas em balança digital de precisão (0,0001g) para determinação da biomassa fresca. Em seguida, essas amostras serão colocadas em sacos de papel e levadas para a estufa a 65°C até peso constante para determinação da biomassa seca;

(2) medida da circunferência da cabeça: com o auxílio de uma fita métrica (cm);

(3) número total e comercial de folhas: a determinação do número total de folhas será expressa pelo número total de folhas obtido por contagem direta, enquanto o número comercial de folhas será obtido através da contagem direta de folhas sem danos visuais;

(4) altura do caule: após a verificação da circunferência serão retiradas as folhas, permanecendo apenas o caule, o qual será cortado transversalmente e medido com o auxílio de uma régua, sendo o resultado expresso em cm;

(5) a sanidade das folhas externas das plantas foi baseada em uma escala visual de notas, variando de 1 a 5 (nota 1 - plantas com as folhas externas alto grau de oxidação aparente; nota 2 - presença abundante de oxidação nas folhas externas; nota 3 - presença moderada de oxidação nas folhas externas; nota 4 - lesões escassas nas folhas externas e nota 5 - plantas com as folhas externas saudáveis);

(6) área foliar: serão determinados com auxílio de um scanner Epson 11000

XL, sendo as folhas digitalizadas e após analisadas com o auxílio do Software WinRhizo Pro;

(7) comprimento, diâmetro e número de raízes secundárias: serão determinados com auxílio de um scanner Epson 11000 XL, sendo as raízes digitalizadas e após analisadas com o auxílio do Software WinRhizo Pro

Teor de elementos nos tecidos:

(8) concentrações de Si e Cd: obtidas em laboratório, conforme descrito em Bernardy, (2015) e Pereira et al. (2018), a partir da massa seca dos órgãos da parte aérea e raízes;

Parâmetros fisiológicos:

(9) parâmetros fotossintéticos: serão realizadas avaliações semanais dos parâmetros fotossintéticos na quarta folha completamente expandida. As avaliações serão realizadas no período entre as 11 e 13h com a utilização do medidor portátil IRGA, marca LI-COR, modelo LI-6400XT. Serão determinadas a condutância estomática de vapores de água (G_s - mol H₂O m⁻² s⁻¹), a fixação líquida de CO₂ (A - μmol CO₂ m⁻² s⁻¹), a concentração interna de CO₂ (C_i - μmol m⁻² s⁻¹), a taxa transpiratória (t_{mmol} - mmol H₂O m⁻² s⁻¹), a eficiência do uso da água (EUA - mol CO₂ mol H₂O⁻¹) e a eficiência de carboxilação da Rubisco (A - μmol CO₂ m⁻² s⁻¹ / C_i - μmol m⁻² s⁻¹) obtida pela razão entre quantidade de CO₂ fixado e quantidade de água transpirada.

(10) conteúdo de pigmentos fotossintéticos: as clorofilas a e b e os carotenóides serão extraídos segundo o método de Hiscox e Israelstan (1979) e estimados usando a equação de Lichtenthaler (1987). Amostras frescas de folhas (0,1 g) serão incubadas a 65°C com dimetilsulfóxido (DMSO) até que os pigmentos sejam completamente retirados. As absorvâncias da solução serão medidas em espectrofotômetro (Celm E-205D) a 663, 645 e 470 nm para clorofila a, clorofila b e carotenóides, respectivamente;

Parâmetros bioquímicos:

(11) status oxidativo (enzimas antioxidantes, peróxido de hidrogênio e dano a lipídios de membrana):

- atividade das enzimas superóxido dismutase, guaiacol peroxidase e ascorbato peroxidase: amostras frescas de raízes e folhas das plantas serão usadas para os ensaios enzimáticos. Um grama de tecido fresco será homogeneizado em 3 mL de tampão fosfato de sódio (pH 7,8) 0,05 M, contendo 1 mM de EDTA e 2%

(w/v) de polivinilpirrolidona (PVP). O homogeneizado será centrifugado a 13.000 x g por 20 minutos a 4°C e o sobrenadante será usado para a determinação das enzimas antioxidantes. A atividade da enzima superóxido dismutase será analisada de acordo com o método de MISRA; FRIDOVICH (1972); a atividade das peroxidases não específicas presentes no extrato será determinada segundo ZERAIK et al. (2008), utilizando-se o guaiacol como substrato; a atividade da enzima ascorbato peroxidase será determinada de acordo com ZHU et al. (2004).

- conteúdo de peróxido de hidrogênio: determinado de acordo com Loreto; Velikova (2001). 0,1 g de raízes e parte aérea serão homogeneizadas em 2 mL de 0,1% de ácido tricloroacético (w/v). O homogeneizado será centrifugado a 12.000 x g por 15 min a 4° C. Após isso, 0,5 mL do sobrenadante será adicionado em 0,5 mL de 10 mM de tampão fosfato de potássio (pH 7,0) e 1 mL de 1M KI. A concentração de H₂O₂ do sobrenadante será avaliada comparando suas absorvâncias a 390 nm com uma curva padrão de calibração. A concentração de H₂O₂ será expressa como $\mu\text{mol g}^{-1}$ peso fresco.

- peroxidação de lipídios de membrana: o grau de peroxidação será estimado seguindo o método de EL-MOSHATY et al. (1993). Amostras frescas de raízes e parte aérea (0,1 g) serão maceradas em nitrogênio líquido e, após, homogeneizadas em 20 mL de 0,2 M de tampão citrato (pH 6,5) contendo 0,5% de Triton X-100. O homogeneizado será centrifugado por 15 minutos a 20.000 x g. Um mL do sobrenadante será adicionado a 1 mL de TCA 20% (w/v) contendo 0,5% (w/v) de ácido tiobarbitúrico. A mistura será aquecida a 95° C por 40 min e então resfriada por 15 min, sendo após centrifugada a 10,000 x g for 15 min. A absorvância do sobrenadante será lida a 532 e 600 nm (para corrigir a turbidez não específica). A peroxidação lipídica será expressa como nmol MDA mg^{-1} de proteína.

Análise estatística

Os tratamentos consistem em um bifatorial (3x4) da combinação das três cultivares com as quatro soluções nutritivas, totalizando 12 tratamentos dispostos em delineamento inteiramente casualizado. Serão estabelecidas quatro repetições, com unidades amostrais compostas por cinco plantas cada.

Para a análise estatística dos dados, serão verificadas a normalidade da distribuição dos erros através do teste de Anderson-Darling e homogeneidade das variâncias dos erros através do teste de Bartlett (ESTATCAMP, 2012) para todas as variáveis do experimento. Quando atendidos estes pressupostos, proceder-se-á análise de variância e teste de Tukey para os tratamentos em 5% de probabilidade de erro, utilizando o aplicativo Sisvar (FERREIRA, 2008).

RECURSOS NECESSÁRIOS

Tabela 2: Diárias e passagens.

Diárias	Unidade	Quantidade	Valor (R\$)
Diárias	-	6	600,00
Passagens aéreas	-	0	0
SUB TOTAL			600,00

Tabela 3: Material permanente.

Material permanente	Unidade	Quantidade	Valor (R\$)
*Tábuas para bancadas e canaletas	un.	-	1300,00
*Reservatório (250L)	un.	4	600,00
Conj. Moto-bomba ½ cv	un.	4	800,00
SUB TOTAL			2.700,00

Tabela 4: Material de consumo para experimentos

Material de consumo	Unidade	Quantidade	Valor (R\$)
Fertilizantes solúveis	-	-	1000,00
Tubulação PVC, junções	m	16	1000,00
Sementes	pc	8	36,00
SUB TOTAL			2.036,00

Tabela 5: Material para análises

Material de consumo	Unidade	Quantidade	Valor (R\$)
Tubos falcons	un.	50	50,00
Sacos plásticos	cento	5	20,00
Sacos de papel	cento	5	60,00
Eppendorfs	cento	1	100,00
Ponteiras	cento	1	50,00
Reagentes para bioquímicas	-	-	500,00
SUB TOTAL			780,00
TOTAL			6.116,00

CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO DE PESQUISA

Atividades 2018	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
1. Revisão Bibliográfica			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
2. Disciplinas			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Atividades 2019												
1. Revisão de Bibliográfica	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
2. Disciplinas			X	X	X	X	X					
3. Preparo para instalação do experimento		X					X					
4. Instalação do experimento			X					X				
5. Término do experimento					X					X		
6. Análises fisiológicas					X					X		
7. Preparação para as análises bioquímicas					X					X		
8. Análises bioquímicas						X	X				X	X
Atividades 2020												
1. Revisão de Bibliográfica	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
2. Análises bioquímicas	X	X										
3. Tratamento estatístico dos dados			X	X								
4. Elaboração da tese					X	X	X	X	X	X	X	X
5. Disciplina (Docência orientada II)							X	X				
Atividades 2021												
1. Elaboração da Tese	X	X										
2. Entrega da tese para a banca		X										
3. Defesa a tese			X									
4. Submissão de artigo			X									

DIVULGAÇÃO PREVISTA

Com os resultados obtidos através da execução deste projeto pretende-se inicialmente participar do Simpósio Brasileiro de Hidroponia e/ou 56º Congresso Brasileiro de Olericultura, ambos serão realizados em 2020. E os resultados serão divulgados em revistas científicas.

BIBLIOGRAFIA

ALI, H.; KHAN, E.; SAJAD, M.A. Phytoremediation of heavy metals - Concepts and applications. **Chemosphere**, v.91, p.869–881, 2013.

AZIZIAN, A.; AMIN, S.; MAFTOUN, M.; EMAM, Y.; NOSHADI, M. Response of lettuce to Cd-enriched water and irrigation frequencies. **African Journal of Environmental Science and Technology**, v.5, p.884-893, 2011.

AZZI, V. S.; KANSO, A.; KOBEISSI, A.; KAZPARD, V.; LARTIGES, B.; & EL SAMRANI, A. Effect of Cadmium on *Lactuca sativa* Grown in Hydroponic Culture Enriched with Phosphate Fertilizer. **Journal of Environmental Protection**, v.6, p.1337, 2015.

BELON, E.; BOISSON, M.; DEPORTES, I.Z.; EGLIN, T.K.; FEIX, I.; BISPO, A.O.; GALSOMIES, I.; LEBLOND, S.; GUELLIER, C.R. An Inventory of Trace Elements Inputs to French Agricultural Soils. **Science of the Total Environment**, 439, 87- 95, 2012.

BERNARDY, Katieli. **Efeito do zinco em parâmetros bioquímicos e fisiológicos de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen**. 2015. 96f. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2015.

BLAT, S. F.; SANCHEZ, S. V.; ARAÚJO, J. A. C.; BOLONHEZI, D. Desempenho de cultivares de alface crespa em dois ambientes de cultivo em sistema hidropônico. **Horticultura Brasileira**, v.5, p.135-138, 2011.

BORGES, L. P.; BRANDÃO, R.; GODOI, B.; NOGUEIRA, C. W.; ZENI, G. Oral administration of diphenyldiselenide protects against cadmium-induced liver damage in rats. **Chemico-Biological Interactions**, v.171, p.15-25, 2008.

CARNEIRO M.A.C.; SIQUEIRA J.O.; MOREIRA F.M.S. Comportamento de espécies herbáceas em misturas de solo com diferentes graus de contaminação com metais pesados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, p.1629–1638,

2002.

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. Pollut. Rep.**, v.1, p.13–22, 2015.

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

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

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

de OLIVEIRA, L. B.; de AGUIAR A. A. M.; do NASCIMENTO, C. W. A.; dos SANTOS, C. L. R.; Flores, R. A.; Barbosa, F. S. Estado nutricional e teores de metais pesados em plantas de alface adubadas com compostos orgânicos. **Bioscience Journal**, v.30, n.3, 2014.

DIAS, M.C; MONTEIRO, C.; MOUTINHO-PEREIRA, J.; CORREIA, C.; GONÇALVES, B.; SANTOS, C. Cadmium Toxicity Affects Photosynthesis and Plant Growth at Different Levels. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.35, p.1281-1289, 2012.

DOMINGUES, D.S.; TAKAHASHI, H.W.; CAMARA, C.A.P.; NIXDORF, S.L. Automated System Developed to Control pH and Concentration of Nutrient Solution Evaluated in Hydroponic Lettuce Production. **Computers and Electronics in Agriculture**, v.84, p.53-61, 2012.

ESTATCAMP. **Portal Action**. Disponível em: <http://www.portalaction.com.br>. Acesso em: 21 ago. 2018.

FELTRIM, A.L.; FILHO, A.B.C.; BRANCO, R.B.F.; BARBOSE, J.C; SALATIEL, L.T. Yield of American Lettuce Cultivated in Soil and Hydropony during Winter and Summer Seasons, in Jaboticabal, SP. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.9, p.505-509, 2005.

FERREIRA, D.F. **Análise estatística por meio do sisvar para Windows versão 4.0.** In: REUNIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45, São Carlos, 2000. Programas e Resumos. São Carlos, Universidade Federal de São Carlos, p. 235, 2000.

FURLANI, P.R.; SILVEIRA, L.C.P.; BOLONHEZI, D.; FAQUIN, V. **Cultivo Hidropônico de Plantas: Parte 1 - Conjunto hidráulico.** 2009a. Artigo Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2009_1/hidroponiap1/index.htm>. Acesso em: 17/9/2018.

FURLANI, P.R.; SILVEIRA, L.C.P.; BOLONHEZI, D.; FAQUIN, V. **Cultivo Hidropônico de Plantas: Parte 2 - Solução Nutritiva.** 2009b. Artigo Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2009_2/hidroponiap2/index.htm>. Acesso em: 17/9/2018.

GALATI, V. C.; GUIMARÃES, J. E. R.; MARQUES, K. M.; FERNANDES, J. D. R.; CECÍLIO FILHO, A. B.; MATTIUZ, B. H. Aplicação de silício, em hidroponia, na conservação pós-colheita de alface americana 'Lucy Brown' minimamente processada. **Ciência Rural**, v. 45, n.11, p.1932-1938, 2015.

GOMES, M.P.; MARQUES, T.C.L.L.S.M.; SOARES, A.M. Cadmium effects on mineral nutrition of the Cd-hyperaccumulator *Pfaffia glomerata*. **Versita**, v.68, n.2, p.223-230, 2013.

GONÇALVES, J. F.; NICOLOSO, F. T.; DA COSTA, P.; FARIAS, J. G.; CARVALHO, F. B.; DA ROSA, M. M.; BARBOSA, N. B. Behavior and brain enzymatic changes after long-term intoxication with cadmium salt or contaminated potatoes. **Food and Chemical Toxicology**, v.50, p.3709–3718, 2012.

GREGER, M.; BERGQVIST, C.; SANDHI, A.; LANDBERG, T. H. Influence of silicon on arsenic uptake and toxicity in lettuce. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, v. 88, n.1, 2015.

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

HMID, A.; AL CHAMI, Z.; SILLEN, W.; DE VOCHT, A.; VANGRONSVELD, J. Olive mill waste biochar: a promising soil amendment for metal immobilization in contaminated soils. **Environ Sci Pollut Res**, v.22, p.1444–1456, 2015.

HOUBEN, D.; EVRARD, L.; SONNET, P. Mobility, bioavailability and pH-dependent leaching of cadmium, zinc and lead in a contaminated soil amended with biochar. **Chemosphere**, v.92, p.1450–1457, 2013.

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

KAVAMURA, V.N.; ESPOSITO, E. Biotechnological strategies applied to the decontamination of soils polluted with heavy metals. **Biotechnology Advances**, v.28, p.61-69, 2010.

KLEIBER, T. The effect of silicon application under Mn excessive nutrition on yielding of hydroponically grown lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Aparatura Badawcza i dydaktyczna*, 19(3), 219-226, 2014.

LEE, S.S.; LIM, J.E.; EL-AZEEM, SAMA.; CHOI, B.; OH, S.E.; MOON, D.H.; OK, Y.S. Heavy metal immobilization in soil near abandoned mines using eggshell waste and rapeseed residue. **Environ Sci Pollut Res**, v. 20, p.1719–1726, 2013.

LIN, R.; WANG, X.; LUO, Y.; DU, W.; GUO, H.; YIN, D. Effects of soil cadmium on growth, oxidative stress and antioxidant system in wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.). **Chemosphere**, v.69, p.89-98, 2007.

LIU, Y.; VIJER, M.G.; PEIJNENBURG, W.J.G.M. Impacts of Major Cations (K⁺, Na⁺, Ca²⁺, Mg²⁺) and Protons on Toxicity Predictions of Nickel and Cadmium to Lettuce (*Lactuca sativa* L.) Using Exposure Models. **Ecotoxicology**, v. 23, p.385-395, 2014.

LOPES, C. A.; QUEZADO DUVAL, A. M.; REIS, A. Doenças da alface. Embrapa Hortaliças, p 68, 2010.

MARINS, Tatiana Fernandes. **Avaliação de eletrólitos indiferentes na determinação do potencial zeta de minerais**. 2017. 47f. Trabalho de Conclusão de Curso II - MIN 491 (Bacharel em Engenharia de Minas), Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2017.

MATTIUZ, B. H.; CEC & ILIO FILHO, A. B.; MUNIZ, A. C. C.; MORGADO, C. M. A.; MARQUES, K. M.; GALATI, V. C. Silicon in the turgidity maintenance of American lettuce. **African Journal of Agricultural Research**, v.10, n.51, p.4699-4705, 2015.

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

MONTEIRO, M.S.; SANTOS, C.; SOARES, A.M.V.M.; MANN, R.M. Assessment of Biomarkers of Cadmium Stress in Lettuce. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.72, p.811-818, 2009.

NAIR, A.R.; DEGHESELLE, O.; SMEETS, K.; KERKHOVE, E.V.; CUYPERS, A. Cadmium-Induced Pathologies: Where Is the Oxidative Balance Lost (or Not)? **International Journal of Molecular Sciences**, v.14, p.6116-6143, 2013.

OLIVEIRA, A. C. B.; SEDIYAMA, M. A. N.; PEDROSA, M. W.; GARCIA, N. C. P.; GARCIA, S. L. R. Divergência genética e descarte de variáveis em alface cultivada sob sistema hidropônico. **Acta Scientiarum**, v.26, n.2, p.211-217, 2004.

OLLE, M. (2017). The effect of Silicon on the organically grown iceberg lettuce growth and quality. **Journal of Agricultural Science**, v.2, n.28, p.82–86, 2017.

PEREIRA, A.S.; DORNELES, A.O.S.; BERNARDY, K.; SASSO, V.M.; BERNARDY, D.; POSSEBOM, G.; TABALDI, L.A. Selenium and silicon reduce cadmium uptake and mitigate cadmium toxicity in *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen plants by activation antioxidant enzyme system. **Environmental Science and Pollution Research**, v.25, p.18548–18558,2018.

PÔRTO, M. L.; ALVES, J. C.; SOUZA, A. P.; ARAUJO, R. C.; ARRUDA, J. A. Nitrate production and accumulation in lettuce as affected by mineral nitrogen supply and organic fertilization. **Horticultura Brasileira**, v.26, n.2, p.227-230, 2008.

PUGA, A.P.; ABREU, C.A.; MELO, L.C.A.; BEESLEY, L. Biochar application to a contaminated soil reduces the availability and plant uptake of zinc, lead and cadmium. **J Environ Manag**, v.159, p.86–93, 2015.

RESENDE, F. V.; SAMINÉZ, T. C. O.; VIDAL, M. C.; SOUZA, R. B.; CLEMENTE, F. M. V. Cultivo de alface em sistema orgânico de produção. Brasília: **Embrapa Hortaliça**, Circular técnica n. 56, p. 16, 2007.

SANITA DI TOPPI, L.; GABBRIELLI, R. Response to cadmium in higher plants. **Environ. Exp. Bot**, v.41, p.105-130, 1999.

SANTOS, F. W.; ZENI, G.; ROCHA, J. B.; WEIS, S. N.; FACHINETTO, J. M.; FAVERO, A. M.; NOGUEIRA, C. W. Diphenyldiselenide reverses cadmium-induced oxidative damage on mice tissues. **Chemico-Biological Interactions**, v.15, p.159-165, 2005.

SHI, H.; WANG, Y.; TSANG, P. E.; CHAN, L. A. Alleviated affect of exogenous CaCl₂ on the growth, antioxidative enzyme activities and cadmium absorption efficiency of *Wedelia trilobata* hairy roots under cadmium stress. **Sheng wu gong cheng xue bao= Chinese journal of biotechnology**, v.28, n.6, p.747-762, 2012.

SKREBSKY, E. C.; TABALDI, L. A.; PEREIRA, L. B.; RAUBER, R.; MALDANER, J.; CARGNELUTTI, D.; NICOLOSO, F. T. Effect of cadmium on growth, micronutrient concentration, and α -aminolevulinic acid dehydratase and acid phosphatase activities in plants of *Pfaffia glomerata*. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.20, p.285-294, 2008.

SONG, X.D.; XUE, X.Y.; CHEN, D.Z.; HE, P.J.; DAI, X.H. Application of biochar from sewage sludge to plant cultivation: influence of pyrolysis temperature and biochar-to-soil ratio on yield and heavy metal accumulation. **Chemosphere**, v.109, p.213–220, 2014.

SOUSA, T. P. de; SOUZA NETO, E. P.; SILVEIRA, L. R. de S.; SANTOS FILHO, E. F. DOS; MARACAJÁ, P. B. Produção de alface (*Lactuca sativa* L.), em função de diferentes concentrações e tipos de biofertilizantes. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 9, n. 4, p. 168–172, 2014.

SOUZA, R. S. D.; REZENDE, R.; HACHMANN, T. L.; LOZANO, C. S.; ANDRIAN, A. F. B. A.; FREITAS, P. S. L. D. Lettuce production in a greenhouse under fertigation with nitrogen and potassium silicate. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.39, n.2, p.211-216, 2017.

STADTMAN, E.R.; OLIVER, C.N. Metal-catalyzed oxidation of proteins. **The Journal of Biological Chemistry**, v.266, p.2005-2008, 2001.

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

WOLDETSADIK, D.; DRECHSEL, P.; KERAITA, B.; MARSCHNER, B.; ITANNA, F.; GEBREKIDAN, H. Effects of biochar and alkaline amendments on cadmium immobilization, selected nutrient and cadmium concentrations of lettuce (*Lactuca sativa*) in two contrasting soils. **SpringerPlus**, v.5, n.1, p.397, 2016.

ZARE, A. A.; KHOSHGOFTARMANESH, A. H.; MALAKOUTI, M. J.; BAHRAMI, H. A.; CHANEY, R. L. Root uptake and shoot accumulation of cadmium by lettuce at

various Cd: Zn ratios in nutrient solution. **Ecotoxicology and environmental safety**, v.148, p.441-446, 2018.

ZHANG, F.; SHI, W.; JIN, Z.; SHEN, Z. Response of antioxidative enzymes in cucumber chloroplasts to cadmium toxicity. **Journal of Plant Nutrition**, v.26, p.1779- 1788, 2002.

ZHANG, K.; YUAN, J.; KONG, W.; YANG, Z. Genotype variations in cadmium and lead accumulations of leafy lettuce (*Lactuca sativa* L.) and screening for pollution-safe cultivars for food safety. **Environmental Science: Processes & Impacts**, v.15, n.6, p.1245-1255, 2013.

ZHENG, R.L.; CAI, C.; LIANG, J.H.; HUANG, Q.; CHEN, Z.; HUANG, Y.Z. The effects of biochars from rice residues on the formation of iron plaque and the accumulation of Cd, Zn, Pb, As in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. **Chemosphere**, v.89, p.856–862, 2012.

ZHU, Z.; WEI, G.; LI, J.; QIAN, Q.; YU, J. Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Plant Science**, v.167, p.527-533, 2004.

ZORRIG, W.; ROUACHED, A.; SHAHZAD, Z.; ABDELLY, C.; DAVIDIAN, J.-C.; BERTHOMIEU, P. Identification of Three Relationships Linking Cadmium Accumulation to Cadmium Tolerance and Zinc and Citrate Accumulation in Lettuce. **Journal of Plant Physiology**, v.167, p.1239-1247, 2010.