

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

**AVALIAÇÃO DOS ESTRESSES CAUSADOS PELO
CÁDMIO EM GENÓTIPOS DE PIMENTA**

MARCOS DE OLIVEIRA RIBEIRO

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
AGOSTO-2021**

**AVALIAÇÃO DOS ESTRESSES CAUSADOS PELO CÁDMIO EM
GENÓTIPOS DE PIMENTA**

MARCOS DE OLIVEIRA RIBEIRO

Engenheiro Agrônomo

Universidade Federal Do Recôncavo Da Bahia, 2021

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Ciências Agrárias (Área de Concentração: Fitotecnia).

Orientador: Prof. Dr. Fabio de Souza Dias

Coorientador: Prof. Dr. André Dias de Azevedo Neto

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
AGOSTO-2021**

FICHA CATALOGRÁFICA

R484a	<p>Ribeiro, Marcos de Oliveira. Avaliação dos estresses causados pelo cádmio em genótipos de pimenta / Marcos de Oliveira Ribeiro... Cruz das Almas, Bahia, 2021. 89f.; il.</p> <p>Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Doutorado em Ciências Agrárias. Orientador: Prof. Dr. Fabio de Souza Dias. Coorientador: Prof. Dr. André Dias de Azevedo Neto.</p> <p>1.Pimenta – Cultivo. 2.Pimenta – Variabilidade genética. 2.Cádmio – Metais pesados – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.</p> <p style="text-align: right;">CDD: 633.84</p>
-------	--

Ficha elaborada pela Biblioteca Central de Cruz das Almas - UFRB.
Responsável pela Elaboração - Antonio Marcos Sarmento das Chagas (Bibliotecário - CRB5 / 161
(os dados para catalogação foram enviados pelo usuário via formulário eletrônico).

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE DOUTORADO**

**AVALIAÇÃO DOS ESTRESSES CAUSADOS PELO CÁDMIO EM
GENÓTIPOS DE PIMENTA**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE TESE DE
MARCOS DE OLIVEIRA RIBEIRO**

Dr. Fabio de Souza Dias (Orientador)
Universidade Federal da Bahia - UFBA

Dr.(a) Andréia da Silva Magaton
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB

Dr.(a) Franceli da Silva
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB

Dr.(a) Paula Ângela Umbelino Guedes Alcoforado
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB

Dr.(a) Samira Maria Peixoto Cavalcante da Silva
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB

DEDICATÓRIA

A Deus pelo dom da vida, pelas bênçãos e todas as obras de suas mãos.

Á minha família: Isaias, meu pai; Solange, minha mãe; Lucas, meu irmão; e Maria de Lurdes, minha avó.

Á Raianna, minha noiva.

Aos demais familiares pelo incentivo.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus, por me dar força, saúde e fé em todos os momentos em minha vida. E por me mostrar sempre o caminho que devo seguir e nunca deixado olhar para trás.

Ao excelente orientador e professor, Prof. Dr. Fabio de Souza Dias, pela dedicação, incentivo e por estar sempre presente durante o desenvolvimento da pesquisa, compartilhando o seu conhecimento comigo.

Ao Prof. André Dias de Azevedo Neto pela orientação e ensinamentos.

À minha mãe Solange, a meu pai Isaias e meu irmão Lucas, pelo amor, carinho e confiança que sempre em mim depositaram. Amo vocês!

A meus Avós, em especial seu Antônio (in memoriam) e a Maria de Lurdes. À minha noiva e à sua família pelo carinho e incentivos.

Ao LAIA (Laboratório de Automação e Instrumentação Analítica) e o Laboratório de Bioquímica da UFRB, em especial a Pettesson, Claudia e Cindy, por estarem presentes nas análises do meu experimento.

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias pela oportunidade de realizar o curso de Doutorado.

À comissão examinadora da defesa, pela contribuição no trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

Aos familiares e amigos que direta ou indiretamente torceram por mim.

Enfim, agradeço a todos, pois sem a contribuição de vocês nada disso seria possível.

Muito obrigado!

Que o senhor Jesus Ihes recompense um

Dia pelas suas ações!

SUMÁRIO

RESUMO:	8
ABSTRACT:	9
INTRODUÇÃO:	10
REFERÊNCIAS:	14

CAPÍTULO 1

Bioacumulação e translocação do cádmio em genótipos de pimenta e os efeitos causados no desenvolvimento das plantas.....	19
--	----

CAPÍTULO 2

Comparação de estratégias quimiométricas de duas e múltiplas vias que descrevem mudanças elementômicas em pimenta exposta ao estresse por cádmio.....	37
---	----

CAPÍTULO 3

Crescimento, pigmentos, e solutos orgânicos em <i>Capsicum chinense</i> sob estresse por cádmio	69
---	----

Avaliação dos estresses causados pelo cádmio em genótipos de pimenta

Autor: Marcos de Oliveira Ribeiro

Orientador: Prof. Dr. Fabio de Souza Dias

Resumo: O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito cádmio (Cd) sobre os teores de N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, carboidratos solúveis, aminoácidos livres, proteínas solúveis e prolina em 3 genótipos de pimenta (Malagueta "*Capsicum frutescen*"; Cumari do Pará "*Capsicum chinense Jacquin*"; Boyra Habanero Vermelha "*Capsicum chinense*"). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco níveis de Cd, fornecido na forma de Cd (NO₃)₂ (0; 0,05; 0,1; 0,15; 0,2 μmol L⁻¹) na solução nutritiva e quatro repetições. Provocando redução na massa seca das folhas, caule e raiz de todos os genótipos estudados, onde o genótipo 3 foi o mais sensível, pois sofreu reduções em um número maior de nutrientes principalmente no caule e na raiz. O aumento dos teores de cádmio nas plantas, foram proporcionais as doses aplicada, visto que as maiores concentrações foram encontradas nas maiores doses 0,2 μmol L⁻¹. No segundo estudo foi utilizada sementes do genótipo (Boyra Habanero Vermelha "*Capsicum chinense*"). Que teve como objetivo, verificar o efeito causado pelo Cd no desenvolvimento, no crescimento, nos pigmentos e nos teores de solutos orgânicos, o delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco níveis de Cd (NO₃)₂ (0; 0,05; 0,075; 0,1; 0,125; 0,15 mmol L⁻¹) na solução nutritiva e quatro repetições. onde verificou redução na Alt, NF e CR, conseqüentemente na biomassa. Essa redução também foi evidenciada nos pigmentos onde ocorreu redução na clorofila *a* (Cl_a), clorofila *b* (Cl_b) e Carotenóides (Car), já no solutos orgânicos essa redução foi evidenciada nas raízes e prolina nas folhas.

Palavras-chave: Metal Tóxico, cultivo, hidroponia, *Capsicum*.

Evaluation of stress caused by cadmium in pepper genotypes

Author: Marcos de Oliveira Ribeiro

Adviser: Prof. Dr Fabio Dias

Abstract: The objective of this work was to evaluate the effect of cadmium (Cd) on the contents of N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, soluble carbohydrates, free amino acids, soluble proteins and proline in 3 pepper genotypes (Malagueta “*Capsicum frutescens*”; Cumari do Pará “*Capsicum chinense* Jacquin”; Boyra Habanero Vermelha “*Capsicum chinense*”). The experimental design used was completely randomized, with five levels of Cd, provided as Cd (NO₃)₂ (0; 0.05; 0.1; 0.15; 0.2 μmol L⁻¹) in the nutrient solution and four repetitions. It caused a reduction in the dry mass of leaves, stem and root of all genotypes studied, where genotype 3 was the most sensitive, as it suffered reductions in a greater number of nutrients, mainly in the stem and root. The increase in the levels of cadmium in the plants was proportional to the doses applied, since the highest concentrations were found in the highest doses of 0.2 μmol L⁻¹. In the second study, seeds of the genotype (Boyra Habanero Vermelha “*Capsicum chinense*”) were used. With the objective of verifying the effect caused by Cd on development, growth, pigments and organic solute contents, the experimental design used was completely randomized, with five levels of Cd (NO₃)₂ (0; 0,05; 0,075; 0,1; 0,125; 0,15 mmol L⁻¹) in the nutrient solution and four repetitions. where verified a reduction in Alt, NF and CR, consequently in biomass. This reduction was also evidenced in the pigments where there was a reduction in chlorophyll a (Cl_a), chlorophyll b (Cl_b) and Carotenoids (Car), whereas in organic solutes this reduction was evidenced in the roots and proline in the leaves.

Keywords: Metal Toxic, cultivation, hydroponics, *Capsicum*.

INTRODUÇÃO

O gênero *Capsicum*, são pertencentes à família solanácea (TAITI al., 2019) possui mais de 30 espécies e variedades botânicas catalogadas, das quais treze estão localizadas no Brasil. Junto com os pimentões, as pimentas foram os primeiros aditivos alimentares utilizados pelas antigas civilizações do México e da América do Sul (BOSLAND & VOTAVA, 2000). No país, encontra se o maior número de espécies silvestres de *Capsicum*, tendo a Região Sudeste como o principal centro dessa diversidade. As espécies silvestres registradas como ocorrentes no Brasil são: *C. buforum*, *C. campylopodium*, *C. cornutum*, *C. dusenii*, *C. flexuosum*, *C. mirabile*, *C. parvifolium*, *C. schottianum* e *C. vilosum*. Entres os anos de 2000 e 2010, três novas espécies silvestres foram identificadas na Região Sudeste: *C. friburguense*, *C. pereirae* e *C. hunzikerianum* (BARBOZA; BIANCHETTI, 2005) e recentemente a espécie *C. carassense* (BARBOZA et al., 2020)

O cultivo de pimentas ocorre em todas as regiões do país e é um exemplo importante de integração entre a agricultura familiar e a agroindústria (COSTA & HENZ, 2007). O cultivo é tido como patrimônio da agrobiodiversidade (NEITZKE et al., 2008), sendo bastante utilizada nas pequenas agroindústrias até a exportação por empresas multinacionais, sendo utilizada nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética (RODRIGUES, 2016).

O conhecimento da composição e origem dos alimentos consumidos é de grande importância para se alcançar a segurança alimentar, visto que os alimentos é uma das principais vias de exposição dos metais tóxicos para os seres humanos (SANTOS, 2011; ZUG, YUPANQUI, MEYBERG, CIERJACKS & CIERJACKS, 2019). A transmissão desses contaminantes para a cadeia alimentar é uma das maiores ameaças à saúde humana (Yang et al., 2015). Segundo SANTOS, 2011, a ingestão de alimentos e a inalação do ar são as principais vias de entrada do cádmio no organismo humano. Em humanos, o cádmio está associado a inúmeros riscos para a saúde e (CARVALHO, 2005). Uma vez absorvido, é eficientemente retido no corpo humano e se acumula por toda a vida. Este metal é tóxico para os rins, especialmente para células tubulares proximais, o principal local de acumulação. Também pode causar desmineralização óssea, seja por dano ósseo direto ou indireto, como resultado

de disfunção renal. Na indústria, exposições excessivas ao cádmio transportado pelo ar podem prejudicar a função pulmonar e aumentar o risco de câncer de pulmão (BERNARD, 2008).

Os metais tóxicos são poluentes que vêm causando grande preocupação em todo o mundo, uma vez que as atividades humana continuam a promover o descarte no ambiente, representando um grande risco para a saúde humana, animal e vegetal, devido à sua persistência no meio ambiente (KHAN et al., 2015). Dentre os metais tóxicos, como arsênico (As), cobalto (Co), cobre (Cu), chumbo (Pb), manganês (Mn) e zinco (Zn) (KHAN et al., 2014), destaca-se o cádmio, devido a sua alta toxicidade para plantas e animais (DONG et. al., 2007). Naturalmente o Cd é encontrado no ambiente em concentrações traços decorrentes da degradação da rocha matriz, ou podem ser introduzidos por meio de atividades, como o uso de fertilizantes, agrotóxicos, efluentes industriais e domésticos, (SU et al., 2014; CARVALHO, 2017; HUANG et al., 2019; VERDENELLI et al., 2019). Normalmente a concentração no solo varia de 0,01 a 0,8 mg kg⁻¹, sendo que a concentração de 1 a 3 mg kg⁻¹ indica contaminação leve, 3 a 10 mg kg⁻¹ solo altamente contaminando (KABATA-PENDIAS, 2011).

É de fundamental importância compreender as interações e o comportamento do Cd no solo, como também sua mobilidade e estabilidade frente às mudanças físico-químicas (micorriza, matéria orgânica, pelo pH, temperatura do solo, potencial redox) (SARWAR et al., 2010; BOLAN et al., 2014; RAN et al., 2016). Sendo assim a presença de grupamentos funcionais decorrentes de moléculas que forma a matéria orgânica do solo pode complexar o cádmio existente na solução do solo, favorecendo a diminuição da toxicidade desses elementos. Todavia, o carbono orgânico dissolvido interage com os metais via compostos de baixo peso molecular (polifenóis, ácidos alifáticos, aminoácidos, ácidos cítrico, oxálico e málico) e também os de alto peso molecular (ácidos fúlvicos e húmicos), sendo alguns mais presentes que outros na adsorção (DUMAT et al., 2006; HU et al., 2016).

O cádmio é um elemento que apresenta as mais elevadas taxas de crescimento no ambiente (ALLOWAY, 1990). Este metal pode causar alteração na absorção, distribuição e transporte dos nutrientes pelas plantas, pois foi

verificado que o cádmio provocou alteração no armazenamento e utilização de vários elementos como Ca, Mg, P e K e na absorção de água pelas plantas (TRAN & POPOVA, 2013). A deficiência de Fe em raízes provocadas pelo Cd foi observada em beterraba sacarina (CHANG et al., 2003). Inibiu a absorção de P, K, S, Ca, Zn, Mn e B na ervilha (METWALLY et al., 2005). Na cevada (*Hordeum vulgare* L.), o tratamento de Cd a 1,0 µM provocou redução significativa nas concentrações de P, K, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, Zn, Mo e B nas raízes (GUO et al., 2007). Em erva-sal (*Atriplex halimus* L.), reduziu a absorção de Ca e K (KINAY, 2018). Em alfafa reduziu significativamente as concentrações de N, Ca, Mg em raízes e brotos de alfafa (ZHANG et al., 2019). Ele também reduz a absorção de Fe e Zn pela planta, resultando em clorose foliar (XU et al., 2017). Interfere no transporte e a absorção de Ca, P, Mg, K e Mn (NAZAR et al., 2012).

Segundo RAMOS et al., (2002), a concentração de cádmio nas plantas é, na maioria das vezes, maior nas raízes do que na parte aérea das plantas, sendo absorvido através do tecido cortical, que é transportado até o xilema através da via apoplástica ou simplástica. Pequenas quantidades atingem a parte aérea, uma vez que a maior parte de seus íons fica retida nas raízes (CATALDO et al., 1983; LUX et al., 2011). As plantas desenvolvem diversos mecanismos, com o intuito de restringir o acúmulo de Cd nos órgãos aéreos. Para diminuir o movimento do Cd para o simplasto, as plantas produzem fitoquelatinas e sequestram o Cd-quelado para os vacúolos; enquanto para restringir o movimento do Cd para o apoplástico inclui o desenvolvimento da exoderme, endoderme e outras barreiras extracelulares (LUX et al., 2011).

O cádmio pode ser absorvido pelas plantas de duas formas: passiva (quando é capturado por difusão dos íons da solução do solo para o interior da endoderme) ou ativa (pelo gradiente de concentração, necessitando de energia metabólica) (ALLOWAY, 1995). Os efeitos do cádmio variam em função do tempo de exposição da planta ao metal, ou seja, quanto maior o tempo de exposição, maior é a interferência do mesmo sobre os sistemas metabólicos da planta (OLIVEIRA et al., 2001). De acordo com HORN et al., (2006), a absorção de nutrientes, tanto em solos quanto em solução nutritiva, ocorre via sistema radicular e varia de acordo com sua morfologia e fisiologia por meio de

interceptação radicular, fluxo de massa ou difusão, além de serem absorvidos em taxas diferenciadas de acordo com a necessidade de cada vegetal.

Mesmo em concentração traço, podem causar uma série de alterações fisiológicas e bioquímicas (ASHRAF et al., 2011), tais como distúrbios nas funções das membranas, na atividade enzimática, na fotossíntese, na translocação, nas relações hídricas (POSCHENRIEDER & BARCELÓ, 2006; BHATTI et al., 2013), no balanço hormonal (SOUZA et., 2017), na nutrição mineral (CARVALHO et al., 2020), as quais acarretam na redução do crescimento (BORGES et al., 2019; SOUZA, CAMARGOS & CARVALHO, 2018). A capacidade de retenção de cádmio nas diversas partes da planta está diretamente relacionada ao sistema que envolve adsorção, quelação e compartimentalização, limitando a translocação de cádmio da raiz para a parte aérea (NOCITO et al., 2011). As raízes servem de barreira contra a translocação do cádmio para a parte aérea, pela imobilização de íons tóxicos na parede celular (SINGH et al., 2008). Absorção do cádmio pelas plantas é diretamente influenciada pela concentração no meio, pelo pH, presença de outros íons, teor de matéria orgânica, temperatura, espécie cultivada, microrganismos, liberação de exsudatos orgânicos e inorgânicos pelas raízes (SARWAR et. al., 2010; RAN et, al., 2016).

Assim, devido ao avanço da degradação ambiental e à ampla toxicidade dos metais para as plantas, animais e saúde humana e, pelo fato de as plantas serem o principal ponto de ligação entre os metais e o homem via cadeia alimentar, é que se torna necessária a realização de estudos que possibilitem a determinação do efeito desses elementos nas plantas. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do cádmio sobre os teores de N, P, K, Ca, Mg, Cu, Mn, Fe, carboidratos solúveis, aminoácidos livres, proteínas solúveis, prolina e nos pigmentos dos genótipos de pimenta.

REFERÊNCIAS

- ALLOWAY, B.J. **Cadmium**. In: alloway, B.J., Ed., Heavy Metals in Soils, Blackie and Son Ltd. 100 -124.1990.
- ALLOWAY, B.J. **Heavy metals in soils**. London, Blackie Academic & Professional. 368p. 1995.
- ASHRAF, M. A. Heavy metals accumulation and tolerance in plants growing on exmining area, Bestari Jaya, Kuala Selangor. **International Conference on Environmental Engineering and Application**, 267 – 271, 2011.
- BARBOZA, G. E; BIANCHETTI, L. B. Three new species of Capsicum (Solanaceae) and a key to the wild species from Brazil. **Systematic Botany**, v. 30, 863-871, 2005.
- BARBOZA, G. E; BIANCHETTI, L. B; STEHMANN, J. R. Capsicum carassense (Solanaceae), a new species from the Brazilian Atlantic Forest. **PhytoKeyse** v. 140, 125-138, 2020.
- BERNARD, A. Cadmium & its adverse effects on human health. **Indian J. Med. Res.** v.128, 557-564, 2008.
- BERNARD, A. Cadmium and its adverse effects on human health. **Journal of Medical Research**, v.128, 557–564, 2008.
- BHATTI, K. H; ANWAR, S; NAWAZ, K; HUSSAIN, K; SIDDIQI, E. H; SHARIF, R. U; TALAT, A; KHALID, A. Effect of Heavy Metal Lead (Pb) Stress of Different Concentration on Wheat (*Triticum aestivum* L.). **Middle-East Journal of Scientific Research**, v.14, 148-154, 2013.
- BOLAN, N; KUNHIKRISHNAN, A; THANGARAJAN, R; KUMPIENE, J; Remediation of heavy metal(loid)s contaminated soils e to mobilize or to immobilize? **Journal Of Hazardous Materials**, v. 266, 141-166, 2014.
- BORGES, K. L. R; HIPPLER, F. W. R; CARVALHO, M. E. A; NALIN, R. S; MATIAS, F. I; AZEVEDO, R. A. Nutritional status and root morphology of tomato under Cd-induced stress: Comparing contrasting genotypes for metal-tolerance. **Scientia Horticulturae**, v. 246, 518–527, 2019.
- BOSLAND, P. W; VOTAVA, E. J. Peppers: vegetable and spice Capsicums. Wallingford: CABI Publishing, **Crops Production Science in Horticulture**, v.22, 224, 2000.

CARVALHO, F. P. Mining industry and sustainable development: Time for change. **Food and Energy Security**, v.6, 61–77, 2017.

CARVALHO, F. M. Resumo da palestra “**Histórico da poluição por chumbo e cádmio em Santo Amaro da Purificação**”, proferido em 12 de junho de 2005 na **Câmara Municipal da Cidade**. Professor titular, Departamento de Medicina Preventiva 2005.e Social da UFBA, 2005.

CARVALHO, M. E. A; CASTRO, P. R. C; KOZAK, M; AZEVEDO, R. The sweet side of misbalanced nutrients in cadmium-stressed plants. **Annals of Applied Biology**, v.176, 275–284, 2020.

CATALDO D. A; GALAND, T. R; WILDUNG, R. E. Cadmium uptake kinetics in intact soybean plants, **Plant Physiology**, v.73, 844 - 848, 1983.

CHANG, H. L; KANG, C. Y; LEE, T. M; Hydrogen peroxide production protects *Chlamydomonas reinhardtii* against light-induced cell death by preventing singlet oxygen accumulation through enhanced carotenoid synthesis. **Journal of plant physiology**, v.170, 976-986, 2013.

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

DUMAT, C; QUENEA, K; BERMOND, A. Study of the trace metal ion influence on the turnover of soil organic matter in cultivated contaminated soils. **Environmental Pollution**, v.142, 521 - 529, 2006.

EITZKE, R. S. **Caracterização morfológica e distância genética entre variedades de pimentas**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas. 2008.

GAO, L; CHANG, J; CHEN, R; LI, H; LU, H; TAO, L; XIONG, J. **Comparison on cellular mechanisms of iron and cadmium accumulation in rice: prospects for cultivating Fe-rich but Cd-free rice**. *Rice* 9:39, (2016).

Guidolin, F. R. **Resposta Técnica**, 2005.

GUO, J; ISLAM, M. A; LIN, H; JI, C, DUAN, LIU, P; ZENG, Q; DAY, B; KANG, Z; GUO, J. Genome-wide identification of cyclic nucleotide-gated ion channel gene family in wheat and functional analyses of TaCNGC14 and TaCNGC16. **Front. Plant Sci.** v.9, 18, 2018.

GUO, T. R; ZHANG, G. P; ZHOU, M. X; WU, F. B; CHEN, J. X. Influence of aluminum and cadmium stresses on mineral nutrition and root exudates in two barley cultivars. *Pedosphere* v. 17, 505–512. 2007.

HORN, D; ERNANI, P. R; SANGOI, L; SCHWEITZER, C; CASSOL, P. C. Parâmetros cinéticos e morfológicos da absorção de nutrientes em cultivares de milho com variabilidade genética contrastante. **Revista Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa**, v. 30, 77- 85, 2006.

HU, S. H; LU, C; ZHANG, C. J; ZHANG, Y.J; YAO, H. R; WU, Y. G. Effects of fresh and degraded dissolved organic matter derived from maize straw on copper sorption onto farmland loess. **Journal of Soils and Sediments**, v.16, 327 – 338, 2016.

HUANG, L; LI, Z; LIU, Q; PU, G; ZHANG, Y; LI, J. Research on the adaptive mechanism of photosynthetic apparatus under salt stress: New directions to increase crop yield in saline soils. **Annals of Applied Biology**, v.175, 1–17, 2019.

KABATA-PENDIAS, A. **Cadmium**. In **A. Kabata-Pendias (Ed.), Trace elements in soils and plants** Boca Raton, FL: CRC Press, 287–304, 2011.

KHAN, A; KHAN, S; KHAN, M. A; QAMAR, Z; WAQAS, M. The uptake and bioaccumulation of heavy metals by food plants, their effects on plants nutrients, production and anaerobic biodegradation of composting leachate in the anaerobic series bioreactors **Environmental Science and Pollution Research**, v.110, 165 - 171, 2015.

KHAN, S; REID, B. J; LI, G; ZHU, Y. G. Application of biochar to soil reduces cancer risk via rice consumption: A case study in Miaoqian village, Longyan, China, **Environment International**, v.68, 154 – 161, 2014.

KINAY, A. Effects of cadmium on nicotine, reducing sugars and phenolic contents of Basma tobacco variety. **Fresenius Environ Bull**, v.27, 9195–9202, 2018.

LUX, A; MARTINKA, M; VACULIK, M; WHITE, P. J. Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, 21-37, 2011.

METWALLY, A; SAMFRONOVA, V. I; BELIMOV, A. A; DIETZ. K. Variação genotipa da resposta atoxicidade cádmio em *Pisum sativum* L. **J. Exp.Bot.** v. 56, 167-178. 2005.

NAZAR, R; IQBAL, N; MASOOD, A; KHAN, M. I. R; SYEED, S; KHAN, N. A. Cadmium toxicity in plants and role of mineral nutrients in its alleviation. **Am. J. Plant Sci.** v.3, 1476 –1489, 2012.

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

OLIVEIRA, F. C; MATTIAZZO, M. E; MARCIANO, C. R; MORAES, S. O. Lixiviação de nitrato em um Latossolo Amarelo distrófico tratado com lodo de esgoto e cultivado com cana-de-açúcar. **Scientia Agricola**, v. 58, 171-180, 2001.

RAMOS, I; ESTEBAN, E; KUCENA, J. J; GARATE, A. Cadmium uptake and subcellular distribution in plants of *Lactuca sp.* **Plant Science**, v. 162, 761-767, 2002.

RAN, J; WANG, D; WANG, C; ZHANG, G; ZHANG, H. Heavy metal contents, distribution, and prediction in a regional soil–wheat system. **Science of The Total Environment**, v. 544, 422 – 431, 2016.

RIBEIRO, C. S. C; SOUZA, K. R. R; CARVALHO, S. I. C; REIFSCHNEIDER, F. J. B. BRS Juruti: the first Brazilian habanero-type hot pepper cultivar. *Horticultura Brasileira*, v. 33, 527-529, 2015.

RODRIGUES, P. Pimenta: de todos sabores e gostos. **A lavoura**, v.119, 9-25 2016.

SANTOS, L. F. P. **Avaliação dos Teores de cádmio e chumbo em pescado proveniente de São Francisco do Conde**, Bahia. Universidade Federal da Bahia, Escola de Nutrição. Salvador, 2011.

SARWAR, N.; SAIFULLAH, SUKHDEV, S. M.; MUNIR, H.Z.; ASIF, N.; SADIA, B.; GHULAM, F. Role of mineral nutrition in minimizing cadmium accumulation by plants (Review). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, 925-937, 2010.

SINGH, S; NAFEES, A. K; RAHAT, N; NASER, A. A. Photosynthetic Traits and activities of antioxidant enzymes in blackgram (*Vignamungo L. Hepper*) under cadmium stress. **American Journal of Plant Physiology**, v.3, 25-32, 2008.

SOUZA, L. A; CAMARGOS, L. S; CARVALHO, M. E. A. Toxic metal phytoremediation using high biomass non-hyperaccumulator crops: new

possibilities for bioenergy resources. In V. Matichenkov (Ed.), **Phytoremediation: Methods**, management, assessment, 1–25, 2018.

SOUZA, L. A; MONTEIRO, C. C; CARVALHO, R. F; GRATÃO, P. L; AZEVEDO, R. A. Dealing with abiotic stresses: An integrative view of how phytohormones control abiotic stress-induced oxidative stress. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v.29, 109–127, 2017.

SU, Y; LIU J. L; LU, Z. W; WANG, X. M; ZHANG, Z; SHI, G. R. Effects of iron deficiency on subcellular distribution and chemical forms of cadmium in peanut roots in relation to its translocation. **Environ Exp Bot**, v. 97, 40–48, 2014.

TAITI, C; COSTA, C; MIGLIORI, C. A; COMPARINI, D; FIGORILLI, S; MANCUSO, S. Correlation between volatile compounds and Spiciness in domesticated and wild fresh chili peppers. **Food and Bioprocess Technology**, v.12, 1366 –1380, 2019.

TRAN, T. A; POPOVA, L. P. Functions and toxicity of cadmium in plants: recent advances and future prospects. *Turkish Journal of Botany*, v.37, 1–13, 2013.

Verdenelli, R. A; Dominchin, M. F; Pérez-Brandan, C; Rovea, A; VargasGil, S; Meriles, J. M. Effect of long-term mineral fertilisation on soil microbial abundance, community structure and diversity in a Typic Hapludoll under intensive farming systems. **Annals of Applied Biology**, v. 175, 363–375, 2019.

XU, Z. M; LI, Q. S; YANG, P; YE, H. J; CHEN, Z. S; GUO, S. H; WANG, L. L; HE, B. Y; ZENG, E. Y. Impact of osmoregulation on the differences in Cd accumulation between two contrasting edible amaranth cultivars grown on Cd-polluted saline soils. **Environ. Pollut.** v. 224, 89–97, 2017.

YANG, C. M; JUANG, K. W. Alleviation effects of calcium and potassium on cadmium rhizotoxicity and absorption by soybean and wheat roots. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v.178, 748 - 754, 2015.

ZUG, K. L. M; YUPANQUI, H. A. H; MEYBERG, F; CIERJACKS, J. S; CIERJACKS, A. Cadmium accumulation in Peruvian cacao (*Theobroma cacao.l*) and opportunities for migration. *Water, Air, and Soil Pollution*, v.230, 72. 2019.

CAPÍTULO 1

Bioacumulação e translocação do cádmio em genótipos de pimenta e os efeitos causados no desenvolvimento das plantas

Autor: Marcos de Oliveira Ribeiro

Orientador: Prof. Dr. Fabio de Souza Dias

Resumo: O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do cádmio no crescimento, desenvolvimento e no percentual de translocação e bioacumulação em genótipos de pimenta. No experimento foram utilizadas sementes de 3 genótipos de pimenta (*Malagueta "Capsicum frutescen"*; Cumari do Pará "*Capsicum chinense Jacquin*" Boyra Habanero Vermelha "*Capsicum chinense*"). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco níveis de Cd (NO₃)₂ (0; 0,05; 0,1; 0,15; 0,2 μmol L⁻¹) na solução nutritiva e quatro repetições. A adição do Cd na solução nutritiva reduziu consideravelmente a massa seca de todas as partes da planta (folhas, caule e raiz) de todos os genótipos, sendo com mais evidencia na maior concentração 0,2 μmol L⁻¹ e o aumento dos teores de cádmio nas plantas, foram proporcionais às doses aplicada, visto que as maiores concentrações foram encontradas na maior dose 0,2 μmol L⁻¹.

Palavras-chave: Pimenta, cultivo, hidroponia, massa seca.

Bioaccumulation and translocation of cadmium in pepper genotypes and its effects on plant development

Author: Marcos de Oliveira Ribeiro

Adviser: Prof. Dr Fabio Dias

Abstract: The objective of this work was to evaluate the effect of cadmium on growth, development and percentage of translocation and bioaccumulation in pepper genotypes. The experiment used seeds of 3 pepper genotypes (Malagueta “*Capsicum frutescens*”; Cumari do Pará “*Capsicum chinense* Jacquin” Boyra Habanero Vermelha “*Capsicum chinense*”). The experimental design used was completely randomized, with five levels of Cd (NO₃)₂ (0; 0.05; 0.1; 0.15; 0.2 μmol L⁻¹) in the nutrient solution and four replications. The addition of Cd in the nutrient solution considerably reduced the dry mass of all parts of the plant (leaves, stem and root) of all genotypes, with more evidence in the higher concentration of 0.2 μmol L⁻¹ and the increase in the levels of cadmium in plants were proportional to the doses applied, since the highest concentrations were found at the highest dose 0.2 μmol L⁻¹

Keywords: Pepper, cultivation, hydroponics, dry mass.

INTRODUÇÃO

As pimentas são hortaliças pertencente à família Solanaceae e ao gênero *Capsicum*. Este gênero engloba 5 espécies domesticadas, sendo uma delas *C. baccatum*, além das 22 espécies selvagens (REIFSCHNAIDER, 2000; ZANCANARO, 2008). No Brasil, concentra-se um dos maiores bancos de variabilidade genética de pimentas do mundo e o país é considerado centro de dispersão secundário de espécies domesticadas como: *C. chinense* Jacq., *C. frutescens* L., *C. baccatum* L. e *C. annuum* L. (REIFSCHNAIDER, 2000), distribuído nas cinco regiões brasileiras, com destaque de produção para as regiões Sudeste e Centro-Oeste (COSTA et al., 2010). Sendo bastante utilizadas como matéria-prima na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética (BENTO et al., 2007).

A qualidade dos alimentos que são utilizados para alimentação humana, é uma questão de saúde pública em todo o mundo (AFONSO, 2008; VEIGA et al., 2009) visto que a cadeia alimentar é a principal porta de entrada de elementos tóxicos como o cádmio (CIERJACKS & CIERJACKS, 2019), a toxicidade do Cd causa diversos danos a saúde humana atingindo vários órgãos do corpo humano, mas se acumula principalmente nos rins, causando enfisema pulmonar, tubular renal e pedras nos rins (MAHAJAN & KAUSHAL, 2018).

Entre os elementos como o chumbo (Pb), alumínio (Al), zinco (Zn), Cromo (Cr) , o Cd é reconhecido como um metal extremamente tóxico para os humanos e os organismos vivos, e tem atividade biológica em organismos terrestres e aquáticos (CHELLAIAH, 2018). O desenvolvimento da agricultura e industrial causou uma maior concentração de Cd em solos agrícolas (Bojorquez et al., 2016). A exposição das plantas a elevadas concentrações de cádmio provoca alterações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas, resultando em um rápido declínio da capacidade de absorção e acúmulo deste elemento nas raízes principalmente em decorrência da redução do metabolismo (ANDRADE et al., 2005).

A toxicidade do cádmio nas plantas causa redução nas diferentes fases de crescimento e desenvolvimento, principalmente o das raízes, acarretado pelas deficiências dos minerais como Ca, Mg, K, P (AUGUSTSSON et al., 2018; BORGES et al., 2018; CARVALHO et al., 2018), com uma grande influência

sobre a produção de biomassa (SOLTAN & RASHED, 2003; BENAVIDES et al., 2005). Quando a concentração Cd está alta no solo, ele pode provocar o estresse oxidativo nas plantas, induzir a peroxidação lipídica e eleva o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS), provocando danos oxidativos (PAITHANKAR et al., 2021; WAN et al., 2019). Além disso, o Cd também pode causar o crescimento mais lento das plantas, diminuição do teor de clorofila, folhas amarelas e uma lenta taxa fotossintética. Portanto, o crescimento, desenvolvimento, fisiologia e os efeitos bioquímicos das plantas são afetados, podendo causar morte da planta (BORA et al., 2020; HUANG et al., 2020).

Esse trabalho teve como objetivo verificar o efeito da toxidez por cádmio no crescimento, na concentração de Cd nas raízes, caule e folhas, na bioacumulação e translocação desse elemento nas plantas de pimenta.

MATERIAL E MÉTODO

O experimento foi desenvolvido em uma casa de vegetação, e as análises químicas e bioquímicas foram realizadas no laboratório de Bioquímica da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB).

As plantas de pimenta foram produzidas em casa de vegetação localizada no Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Campus Cruz das Almas, Bahia-Brasil (12 ° 40'19 "S, 39 ° 06'23 "O, altitude 220 m). Foram utilizadas sementes de 3 genótipos de pimenta: G1 = Malagueta "*Capsicum frutescen*"; Cumari do Pará; G2 = "*Capsicum chinense Jacquin*" boyra habanero vermelha; G3 = "*Capsicum chinense*". As sementes foram semeadas em copos plásticos (70 mL), contendo areia lavada, e irrigadas diariamente com água destilada. Após 10 dias de emergência, as mudas foram transferidas para bacias plásticas, contendo 12 L da solução nutritiva de HOAGLAND & ARNON (1950), onde permaneceram por oito dias, para fins de aclimação. Após esse período, foram iniciados os tratamentos com cinco concentrações de cádmio e (0; 0,05; 0,1; 0,15; 0,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$ $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ com quatro repetições. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Os níveis das soluções foram completados diariamente com água destilada, e o pH foi ajustado para $4,0 \pm 0,2$, sendo monitorado diariamente e corrigido com HCl ou NaOH quando necessário. As plantas permaneceram nestas condições por um período de 21 dias. Após esse período, foram separadas em folhas, caules e raízes. Em seguida, o material vegetal foi embalado em sacos de papel devidamente identificados e levado para uma estufa com circulação forçada de ar a 65° C, por 72 h, para determinação das massas secas da folha (MSPA), caule (MSC) e raízes (MSR). A partir desses dados, foram calculados a massa seca total (MST). As amostras foram trituradas em moinho de faca Willey antes de serem prensadas, trituradas e peneiradas em grânulos de 100 micrômetros para uso posterior.

O procedimento de digestão ácida das amostras de pimenta foi realizado em bloco digestor. Primeiramente, 0,1 g da amostra foi pesada diretamente em tubos de digestão, em triplicata, e 3 mL de ácido sulfúrico

(H₂SO₄) foram adicionados em uma coifa a uma temperatura de 350 ° C por 40 min., conforme descrito por ABREU et al. (2021), com modificações. Um volume de 3 mL de peróxido de hidrogênio foi adicionado a cada tubo. Após o tempo de análise, o conteúdo dos tubos foi filtrado e transferido para frascos volumétricos de 100 mL, que posteriormente foram usados para as leituras de Cd, que foram realizadas por Espectrometria de emissão atômica de plasma induzido por microondas (MIP OES).

Análise estatística - O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 3 x 6 com quatro repetições. Os resultados obtidos foram submetidos às análises de variância e de regressão utilizando o programa SISVAR (FERREIRA, 2011).

Fatores de translocação e de bioacumulação de cádmio

O fator de translocação define-se como a capacidade da planta em translocar o metal das raízes para a parte aérea, enquanto o fator de bioacumulação é a relação entre os teores de metal na parte aérea e na solução nutritiva. Esses parâmetros foram calculados de acordo com as fórmulas a seguir (AMIN et al., 2018):

$$\text{Fator de translocação} = \frac{\text{Teor de Cd na parte aérea}}{\text{teor de Cd nas raízes}}$$

$$\text{Fator de bioacumulação} = \frac{\text{Teor de Cd na planta}}{\text{teor de Cd na solução nutritiva}}$$

RESULTADO E DISCUSSÃO

A produção de biomassa é considerada a variável mais importante no que se diz respeito ao efeito dos contaminantes sobre o crescimento das plantas SOUZA et al., (2011). Os genótipos de pimenta foram submetidos as concentrações de Cd que provocou uma redução considerável na massa seca de todas as partes da planta (folhas, caule e raiz) e, conseqüentemente, a massa seca total (Figura 1) de todos os genótipos estudados. Essa redução foi mais evidenciada na dose mais alta $0,2\mu\text{mol L}^{-1}$ na folha e no caule, que reduziu 6,612g e 1,36g no genótipo 1; 2,26g e 1,36g no genótipo 2; e 4,97g e 1,46g no genótipo 3. Isso corresponde a uma redução de 113,1% e 114,6% no genótipo 1; de 85,5% e 105,5%, genótipo 2 e de 99,3% e 81,8%, já na raiz o cádmio provocou redução de 95% no genótipo 3, 76,7% no genótipo 2 e 87% no genótipo 1 acarretando em uma redução de 108% na massa total do genótipo 1, 86,6% genótipo 2 e de 95,7% no genótipo 3 quando comparados ao tratamento controle. Os resultados corroboram com os encontrados por CHAVES & SOUZA (2014), que estudaram os efeitos do cádmio no crescimento do pinhão-manso, a partir da acumulação e distribuição desse metal na planta, e constataram reduções significativa na biomassa da planta que chegaram a 74% respectivamente, em relação à testemunha.

Da mesma forma, CUPERTINO (2006); observou que na seringueira *Hevea brasiliensis*, cultivada na presença de Cd, teve o crescimento da raiz e da parte aérea afetado, reduzindo a produção de massa seca em todos os órgãos da planta. Essas reduções na massa seca das plantas da pimenta pode estar atrelada a redução da taxa fotossintética, em decorrência da ação do Cd nas plantas, proporcionado pela diminuição da condutância estomática (BARCELO & POSCHENRIEDER, 1990), menor abertura estomática proporcionado pela redução da disponibilidade de dióxido de carbono para a fotossíntese levando a redução de suas taxas de crescimento (CHAVES & SOUZA, 2014).

De acordo com a análise dos dados pode-se afirmar que dentre os genótipos estudados, o mais afetado pelo efeito do cádmio foi o genótipo 1, pois foi o que apresentou as maiores reduções para MSF, MSC, MSR e conseqüentemente MST. Comparando com os demais órgãos da planta, a folha

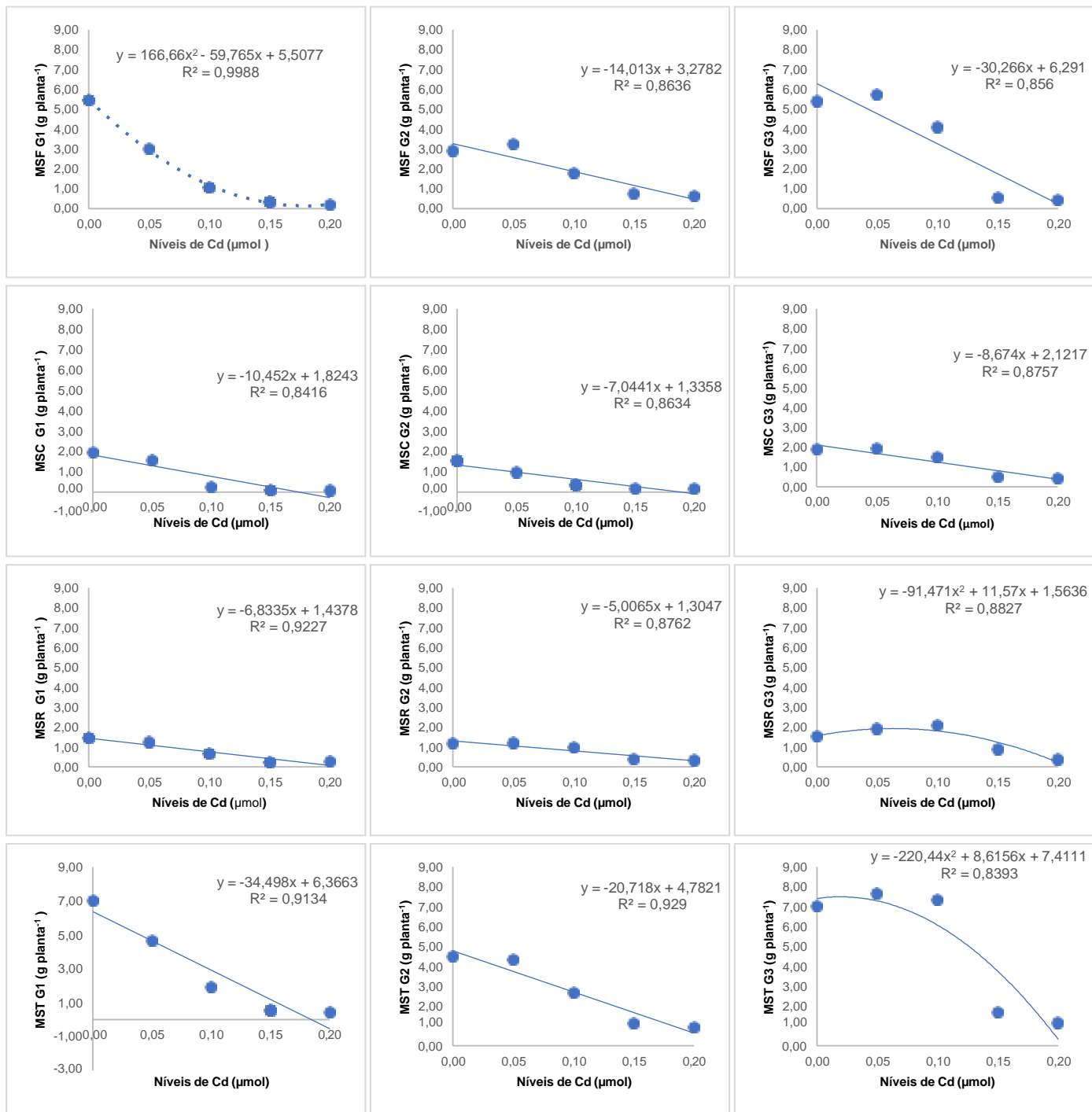


Figura 1. Massas secas da folha (MSF), caule (MSC), raiz (MSR), e total (MST) das plantas dos genótipos G1, G2 e G3 de pimenta cultivadas por 21 dias em casa de vegetação, expostas a níveis de cádmio na solução nutritiva.

foi o órgão que apresentou a maior redução de massa seca induzida pelo estresse por Cd.

A maioria das plantas exibe sintomas visíveis de toxicidade quando submetido a contaminação por cádmio, como crescimento atrofiado, clorose,

necrose, escurecimento da raiz além de diminuir a taxa fotossintética (GUIMARÃES et al., 2008; DIAS et al., 2013), causa alterações enzimáticas e metabólicas das plantas podendo levar a planta a morte (CHANG et al., 2013). O excesso de cádmio nas plantas pode interferir profundamente em uma série de processos fisiológicos, como na fotossíntese (FENG et al., 2017), respiração (BENAVIDES et al., 2005; LINDBERG, 2007; LÓPEZ-MILLÁN et al., 2009) absorção, transporte e assimilação de nutrientes e captação de água (Nedjimi & DAOUD, 2009). E além disso, o estresse causado pela presença do cádmio resulta na superprodução de espécies reativas de oxigênio (ROS) e causando danos às membranas das plantas e destruição de biomoléculas celulares e organelas (ABBAS et al., 2017).

Vários estudos mostram que a toxidez por cádmio, causa deficiência nos teores de macronutrientes (LÓPEZ-MILLÁN et al., 2009; SARWAR et al., 2010; DIAS et al., 2012) proporcionado pela inibição de canais iônicos e a competição do Cd com esses elementos nas membranas plasmáticas radicular (SARWAR et al., 2010), também pode ser a causa da redução da absorção de cátions (NAZAR et al., 2012) com o aumento da concentração de Cd na solução.

A capacidade que a planta tem em absorver, acumular e transportar o Cd pode variar de acordo com a espécie e até mesmo entre os genótipos da mesma espécie (POPOVA et al., 2008), fato que podemos observar nesse estudo, onde adição desse elemento na solução nutritiva, proporcionou um aumento na concentração em todos os órgãos das plantas, nas folhas esse aumento foi evidenciado em todos os genótipos, apresentando resultado significativo no genótipo 1 (3.403%) e no genótipo 2 (2.155%), porém no genótipo 3 esse aumento não foi significativo.

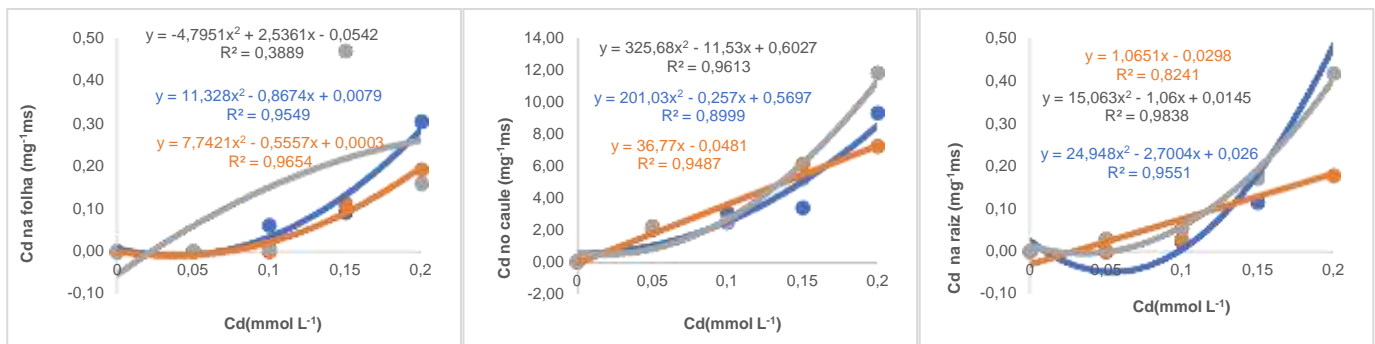


Figura 4. Concentração de cádmio nas folhas, caules e raízes dos genótipo 1 (—) genótipo 2 (—); genótipo 3 (—) de pimenta cultivadas por 21 dias em casa de vegetação, expostas a níveis de cádmio na solução nutritiva

No caule foi evidenciado um aumento quadrático nos 3 genótipos, apresentaram um aumento de (1.402%) no genótipo 1, (1.528%) no genótipo 2 e (2.161%) no genótipo 3 com relação a testemunha. Na raiz, a adição do Cd proporcionou um aumento todos os genótipos estudados, no genótipo 1 teve um aumento de (1.128%), no genótipo 2 (714,8%) e no genótipo 3 (9.863%). Esse aumento nas raízes, provavelmente ocorreu pelo fato de as raízes ser o órgão que está em contato direto com o Cd na solução nutritiva. Resultados semelhantes foram encontrados por CHAVES & SOUZA (2014) estudando o efeito do cádmio (Cd) no crescimento do pinhão-manso e a acumulação e distribuição desse metal na planta, constatou o aumento na concentração de Cd presente nas plantas, principalmente na raiz. O Cd é facilmente absorvido pelas raízes e chega ao xilema, via apoplasto ou simplasto, onde é transcolado para parte aérea da planta por meio da transpiração (PRASAD, 1995; SALT et al., 1995; POVOVA et al., 2008).

O estudo do movimento do metal nas plantas comestíveis, principalmente do Cd que é um elemento onde possui um alto índice toxicológico e de grande mobilidade no solo é de grande importância, especialmente se as folhas, flores ou frutos serão consumidos. As plantas de todos os genótipos expostos à maior concentração de Cd tiveram a maior acúmulo de cádmio nas raízes, as plantas expostas a maior concentração de Cd (0,2 mg / kg) tiveram a maior taxa de translocação. Dentre os três genótipos estudados o genótipo 2 (6,3%) foi o que apresentou maior taxa de translocação em comparação a testemunha seguido do genótipo 1 que teve um aumento de (6%) já o 3 não

apresentou resultados significativos. Os três genótipos estudados demonstraram capacidade para translocar o Cd. Para GALLEGO et al. (2012), a translocação dos metais das raízes para a parte aérea pelo xilema é uma característica fundamental que determina o fenótipo de espécies acumuladoras. Segundo RASCIO & NAVARI-IZZO (2011), espécies não acumuladoras retêm nas células das raízes a maioria dos metais tóxicos absorvidos do solo, fazendo o processo de detoxificação por quelação no citoplasma ou acumula esses metais nos vacúolos. Sendo assim, as espécies acumuladoras, translocam esses metais para a parte aérea através do xilema.

O efeito toxicológico dos metais essenciais pode ocorrer tanto em deficiências metabólicas quanto em altas concentrações (SFAKIANAKIS et al., 2015). Para os metais não essenciais, esse efeito aumenta com a elevação das concentrações (JITAR et al., 2015; SFAKIANAKIS et al., 2015; JAISWAL & VERMA, 2018). Sendo assim, ambos podem ter efeitos adversos e, além disso, serem armazenados nos tecidos, fenômeno este intitulado de bioacumulação (MARSDEN & RAINBOW, 2004). Segundo ROCHA & AZEVEDO (2015), a alta toxicidade dos metais conferida aos organismos ocorre pela permanência desses elementos nas cadeias tróficas, visto que não são degradáveis. Sendo assim os valores e a distribuição do Cd acumulados nos genótipos de pimenta após o incremento do Cd na solução nutritiva são evidenciados na Tabela 1, onde mostra que as concentrações Cd nos genótipos aumentaram significativamente no Genótipo 1 e no genótipo 3 com o aumento das concentrações de Cd na solução, comparado com o controle, tendo um aumento de 25,6% no genótipo 1 e de 15,94% no genótipo 3 em comparação ao controle, já o no genótipo 2 não apresentou resultado significativo. Resultado esses que difere dos encontrados por TIAN et al., 2009; LI et al., 2008 que indicaram que o broto de milho tinha alto acúmulo de Cd, e poderia ser considerado como um hiperacumulador de Cd para remediação do solo e dos de SUN et al. (2003) que descobriram que os coeficientes acumulados de metais tóxicos foram maiores em plantas em doses.

Tabela 1: Fatores de translocação (TF) e de bioconcentração (BCF) do Cd em genótipos de pimenta submetidos a diferentes concentrações de Cd.

Amostras	Doses (mmol L⁻¹)	Doses (mgL⁻¹)	TF (mg g⁻¹)	BCF (mg g⁻¹)
GENÓTIPO 1				
G1T1	0,0	0,0	0	0
G1T2	0,05	5,6	0	0,004
G1T3	0,1	11,2	0,003	0,003
G1T4	0,15	16,9	0,4	0,002
G1T5	0,2	22,5	0,1	0,004
GENÓTIPO 2				
G2T1	0,0	0,0	0	0
G2T2	0,05	5,6	0	0,004
G2T3	0,1	11,2	0,008	0,003
G2T4	0,15	16,9	0,04	0,004
G2T5	0,2	22,5	0,05	0,004
GENÓTIPO 3				
G3T1	0,0	0,0	0	0
G3T2	0,05	5,6	0,02	0,004
G3T3	0,1	11,2	0,02	0,003
G3T4	0,15	16,9	0,11	0,004
G3T5	0,2	22,5	0,05	0,006

Com análise da tabela 2 verificou que muitos desses autores encontraram resultados semelhantes aos estudados, onde verificou que o incremento do Cd de cultivo menores de metais tóxicos, em contraste, esses valores eram menores nas doses mais altas. No meio, proporcionou redução das variáveis relacionada a biomassa, crescimento e desenvolvimento, além de elevar o percentual de absorção, translocação e bioacumulação do Cd nas plantas.

Tabela 2: Resultados encontrados por autores após a adição de cádmio no meio.

Espécies de plantas	Meio	Concentração	Resposta fisiológica e bioquímica	Ref.
<i>Cicer arietinum</i> L	Hidroponia	25 e 50 μM	O incremento do cádmio da solução provocou uma redução significativa no comprimento das raízes e na parte aérea, além de reduzir a absorção dos nutrientes.	ULLAH et al., 2020
<i>Aeluropus litoralis</i>	Solo	(15, 30, 60, 120, 240 mg kg^{-1})	O incremento do Cd no solo aumentou consideravelmente o acúmulo de cádmio na folha e no caule e na raiz nos três estágios de colheita provocando a redução da produção de biomassa vegetal	REZVANI et al., 2011
<i>Triticum aestivum</i> L. & <i>Zea mays</i> L.t	Solo	(0,35; 0,7; 1,05; 1,4; 2,1; 3,5; 4,9 e 7,0 mg kg^{-1})	Encontrou a ordem de acúmulo de Cd em tanto o trigo quanto o milho eram raiz > broto > grão, e valores de BCFs nas duas safras aumentaram, atingiram um valor máximo, em seguida, diminuiu com o aumento das concentrações de Cd no solo.	YANG et al., 2014
Girassol	Hidroponia	(0; 2,5; 5,0; 7,5; e 10,0 μM)	a incorporação do cádmio na solução nutritiva provocou a redução no comprimento das raízes e na parte aérea. Além de provocar alteração na absorção dos nutrientes.	FERREIRA, et al 2016
<i>Solanum lycopersicum</i> & <i>Solanum Americanum</i>	Substrato	(0; 4; 8; 16 e 32 mg kg^{-1})	A massa seca da parte aérea e da massa seca de raízes não variaram em função de doses de Cd aplicadas no substrato e os teores de Cd na massa seca de raízes e parte aérea e nos frutos da cultivar de tomate Micro-Tom e os teores de Cd na parte aérea da cultivar Gaúcho aumentaram de forma quadrática com o incremento da dose de Cd no substrato	SILVA, 2010
<i>Alternanthera</i> sp. e <i>Nicotiana tabacum</i>	Hidroponia	(0; 5; 10; 25 e 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$)	A <i>Nicotiana tabacum</i> apresentou redução de 50% na produção de matéria seca de parte aérea e raízes, sendo a parte aérea mais afetada. Já <i>Alternanthera</i> sp. apresentou sintomas como clorose foliar, necrose, redução do crescimento de raízes e parte aérea e distúrbio no balanço hídrico da planta (murchamento).	BORIN, 2010
<i>Capsicum frutescens</i> ; <i>Capsicum chinense</i> Jacquin & <i>Capsicum chinense</i>	Hidroponia	0; 0,05; 0,1; 0,15; 0,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$	O incremento do Cd na solução nutritiva acarretou na redução do comprimento das raízes, parte aérea além de causar alteração na absorção de nutrientes pelas plantas de pimentas.	Este trabalho

O fator de bioconcentração é um valor calculado que indica a capacidade das plantas em remover metais do solo e armazenar nas raízes e no caule e folha. Enquanto isso, a translocação fator é um valor que indica a capacidade do composto para ser transferido das raízes das plantas para outros órgãos (MELLEEM et al., 2012).

Os genótipos estudados de pimenta não podem ser consideradas como bioacumuladores, Fitoestabilizantes ou fitoextratoras pois não possui as especificações exigidas, visto que para ser consideradas como bioacumuladores tem que possuí fatores de bioconcentração e translocação > 1 (USMAN et al., 2013). Para ser que as plantas possa ser usadas como fitoestabilizantes elas tem possuir fatores de bioconcentração > 1 e fatores de translocação < 1 e como fitoextratores se eles tiverem bio-concentração com fatores < 1 e fatores de translocação > 1 (SOPYAN et al., 2014). Valores de bioconcentração > 2 são considerados valores altos (MELLEEM et al., 2012).

CONCLUSÃO

A exposição dos genótipos às concentrações de cádmio reduziu a biomassa de todos os órgãos da planta (folha, caule e raiz), e o genótipo 1 foi o que apresentou as maiores reduções.

O órgão mais afetado com o incremento do Cd nos três genótipos estudados foi a raiz.

Dentre os três genótipos, estudados o genótipo 2 “Cumari do Pará” foi o que apresentou maior taxa de translocação em comparação à testemunha, seguido do genótipo 1.

Os genótipos estudados de pimenta não podem ser consideradas como bioacumuladores, pois não possui as especificações exigidas.

AGRADECIMENTOS

À CAPES e UFRB pela concessão de bolsa e apoio financeiro

REFERÊNCIAS

- ABREU, C. B; RIBEIRO, M. O; PINHO, C. S; CARNEIRO, C. N; AZEVEDO NETO, A. D; SOUZA, M. O; DIAS, F. S. Exploratory analysis in the evaluation of stress due to aluminum presence in *Physalis angulata* L. and multielement determination by microwave-induced plasma optical emission spectrometry (MIP OES). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, 5598–5608, 2021.
- AMIN, H; ARAIN, B. A; JAHANGIR, T. M; ABBASI, M. S; AMIN, F. Accumulation and distribution of lead (Pb) in plant tissues of guar (*Cyamopsis tetragonoloba* L.) and sesame (*Sesamum indicum* L.): Profitable phytoremediation with biofuel crops. **Geol. Ecol. Landsc.** v. 2, 51–60, 2018.
- BARCELO, J. E POSCHENRIEDER, C. Plant water relations as affected by heavy metal stress: a review. **Journal of Plant Nutrition**, v.13, 1-37, 1990.
- Benavides, M. P; Gallego, S. M. & Tomaro, M. L. Cadmium toxicity in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.17, 21-34, 2005.
- BORIN, A. L. D. C. **Fitorremediação de cádmio e zinco por Amaranthaceae**. Tese (Doutorado em Recursos Ambientais e Uso da Terra) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 169.p 2010.
- CHANG, H. L; KANG, C. Y; LEE, T. M; Hydrogen peroxide production protects *Chlamydomonas reinhardtii* against light-induced cell death by preventing singlet oxygen accumulation through enhanced carotenoid synthesis. **Journal of plant physiology**, v.170, 976-986, 2013.
- CHAVES, L. H. G; Souza, R. S. Crescimento, distribuição e acumulação de cádmio em plantas de *Jatropha curcas*, **Rev. de Ciências Agrárias** [online], v.37, 286 -291, 2014.
- CUPERTINO, I.C.F.S. - **Respostas morfofisiológicas e nutricionais de plantas jovens de seringueira *Hevea brasiliensis* [Willd. Ex. Adr. de Juss.) Muell.-Arg.] cultivadas na presença de alumínio, cádmio, níquel e zinco**. Tese de Doutorado. Lavras, Universidade Federal de Lavras. 116, 2006.
- DIAS, M.C; MONTEIRO, C; MOUTINHO, P. J; CORREIA, C; GONCALVES, B; SANTOS, C. Cadmium toxicity affects photosynthesis and plant growth at different levels. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.35, 1281 – 1289, 2012.

FENG, G; ZHANG, Z; WAN, C; LU, P, BAKOUR, A. Effects of saline water irrigation on soil salinity and yield of summer maize (*Zea mays* L.) in subsurface drainage system. **Agricultural Water Management**, v. 193, 205–213, 2017.

FERREIRA, D. F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência & Agrotecnologia**, v.35, 1039-1042, 2011.

FERREIRA, M. M.A. A. S; SANTOS, J.A. G; MOURA, S.C; ABREU, C.B; BOMFIM, M.R; AZEVEDO NETO, A.D. Cadmium effects on sunflower growth and mineral nutrition, **African Journal of Agricultural Research**, v.11, 3488-3496, 2016.

GALLEGO, S. M; PENA, L. B; BARCIA, R. A; AZPILICUETA, C. E; IANNONE, M. F; ROSALES, E. P; Benavides, M. P. Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: insight into regulatory mechanisms. **Environ. Exp. Bot**, 83, 33-46, 2012.

GUIMARÃES, M.A.; SANTANA, T.A.; SILVA, E.V; ZENZEN, I.L; LOUREIRO, E. M. Toxicidade e tolerância ao cádmio em plantas. **Revista. Trópica.**, v.3, 58-68, 2008.

HOAGLAND, D. R; ARNON, D. I. The water-cultured method for growing plants without soil. **California Agricultural Experiment Station bull**, v.347, 1-32, 1950

JAISSWAL, A; VERMA, A; JAISSWAL, P. Detrimental Effects of Heavy Metals in Soil, Plants, and Aquatic Ecosystems and in Humans. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, v. 37, 183-197, 2018.

JITAR, O; TEODOSIU, C; OROS, A; PLAVAN, G; NICOARA, M. Bioaccumulation of heavy metals in marine organisms from the Romanian sector of the Black Sea. **New Biotechnology**, v. 32, 369-378, 2015.

LINDBERG, S.; LANDBERG, T., GREGER, M. Cadmium uptake and interaction with phytochelatins in wheat protoplasts. **Plant Physiology**, v.45, 47-53, 2007.

LÓPEZ-MILLÁN, A.; SAGARDOY, R.; SOLANAS, M; ABADÍA, A; ABADÍA, J. Cadmium toxicity in tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants grown in Hydroponics. **Environmental and Experimental Botany**, v.65, 376-385, 2009

LÓPEZ-MILLÁN, A; SAGARDOY, R; SOLANAS, M; ABADÍA, A; ABADÍA, J. Cadmium toxicity in tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants grown in Hydroponics. **Environmental and Experimental Botany**, v.65, 376-385, 2009.

MARSDEN, I. D; RAINBOW, P.S. Does the accumulation of trace metals in crustaceans affect their ecology. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 300, 373 - 408, 2004.

MELLEM, J. J; BAIJNATH, H; ODHAV, B. Bioaccumulation of Cr, Hg, As, Pb, Cu and Ni with the ability for hyperaccumulation by *Amaranthus dubius*. **African Journal of Agricultural Research**. v. 7, 591-596, 2012.

NAZAR, R; IQBAL, N; MASOOD, A; KHAN, M. I. R; SYEED, S; KHAN, N. A. Cadmium toxicity in plants and role of mineral nutrients in its alleviation. **Am. J. Plant Sci**, v.3, 1476 –1489, 2012.

NEDJIMI, B; DAOUD, Y. Cadmium accumulation in *Atriplex halimus* subsp *schweinfurthii* and its influence on growth, proline, root hydraulic conductivity and nutrient uptake. **Flora**, v. 204, 316-324, 2009.

POPOVA, L; MASLENKOVA, L; YORDANOVA, R; KRANTEV, A; SZALAI, G; JANDA, T. Salicylic Acid Protects Photosynthesis Against Cadmium Toxicity In Pea Plants. **General and Applied Plant Physiology**, v. 34, 133-148, 2008.

Prasad, M. N. V. Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants. **Environmental and Experimental Botany**, v.35, 525-545, 1995.

RASCIO, N.; NAVARI-IZZO, F. Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? **Plant Science**, v.180, 169 – 18, 2011.

REZVANI, V; ZAEFARIAN, F; MIRANSARI, M; NEMATZADEH, G. A, Uptake and translocation of cadmium and nutrients by *Aeluropus litoralis*. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 58, 1413–1425, 2012.

ROCHA, C. H. B; AZEVEDO, L. P. Avaliação da presença de metais pesados nas águas superficiais da Bacia do Córrego São Mateus, Juiz de Fora (MG), Brasil. **Revista Espinhaço**, v. 4, 33-44, 2015.

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

SARWAR, N; SAIFULLAH, SUKHDEV, S. M; MUNIR, H.Z; ASIF, N; Sadia, B; Ghulam, F. Role of mineral nutrition in minimizing cadmium accumulation by plants (Review). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, 925-937, 2010.

SFAKIANAKIS, D. G; RENIERI, E; KENTOURI, M; TSATSAKIS. Effect of heavy metals on fish larvae deformities: A review. **Environmental Research**, v.137, p. 246- 255, 2015.

SILVA, A. A. **Identificação de espécies hiperacumuladoras e prospecção de genes relacionados à tolerância de plantas a cádmio**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010.

SOPYAN, R; SIKANNA, SUMARNI, N. K. Fitoakumulasi merkuri oleh akar tanaman bayam duri (*Amarantus spinosus* Linn.) pada tanah tercemar. **Online Journal of Natural Science**, v.3, 31-39, 2014.

SOUZA, L. A; ANDRADE, S. A. L; SOUZA, C. R. S; SCHIAVINATO, M. A. Tolerância e potencial fitorremediador de *Stizolobium aterrimum* associada ao fungo micorrízico arbuscular *Glomus etunicatum* em solo contaminado por chumbo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, 1441-1451, 2011.

Sun, J. L; Wu, W. J; Zhao, R. X; Zhang, X. X. Studies on pollution of heavy metals in soils and technology of plant remediation. **J. Changchun Univ. Sci. Technol**, v.26, 46-48, 2003.

TIAN, S; Ding, Y. Z; Ju, X. Hstudy on the response of maize to heavy metal stress and its applications in phytoremediation. **J. Anhui Agric. Sci**, v.37, 2208-2222, 2009.

ULLAH, S; KHAN, J; HAYAT, K; ELATEEQ, A.E. SALAM, U.; YU, B; MA, Y; WANG, H; TANG, Z. Comparative Study of Growth, Cadmium Accumulation and Tolerance of Three Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Cultivars, **Plants**, v. 9, 310, 2020.

USMAN, A. R. A; ALKREDAA, R. S; AL-WABEL, M. I. Heavy metal contamination in sediments and mangroves from the coast of Red Sea: *Avicennia* sp. marina as potential metal bioaccumulator. **Ecotoxicol Environ Saf**, v. 97, 263-270, 2013.

YANG, Y; NAN, Z; ZHAO, Z. Bioaccumulation and translocation of cadmium in wheat (*Triticum aestivum* L.) and maize (*Zea mays* L.) from the polluted oasis soil of Northwestern China. **Chemical Speciation and Bioavailability** v.26, 42-51, 2014.

CAPITULO 2

Comparação de estratégias quimiométricas de duas e múltiplas vias que descrevem mudanças elementômicas em pimenta exposta ao estresse por cádmio

Autor: Marcos de Oliveira Ribeiro

Orientador: Prof. Dr. Fabio de Souza Dias

Resumo: o objetivo foi comparar estratégias quimiométricas de duas e múltiplas vias que descrevem alterações elementômicas em pimenta exposta ao estresse por absorção, por determinação de cádmio e multi-elementos por MIP OES. O experimento consistiu de cinco diferentes concentrações de cádmio (0; 0,05; 0,1; 0,15; 0,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$) na solução nutritiva. Análises de componentes principais (PCA) e PARAFAC foram realizadas para descrever as mudanças elementômicas por meio de variáveis de concentração de metal ao longo das folhas, caules e raízes de plantas de pimenta. A separação dos tratamentos em grupos mostrou a heterogeneidade dos tratamentos em relação às doses de cádmio aplicadas na solução nutritiva, evidenciando seu nível de fitotoxicidade aos genótipos de pimenta. As variáveis P, K, Ca, Mg e N foram as mais influenciadas demonstradas pela PCA. Isso indica que a adição de Cd afeta a distribuição dos elementos dentro da planta. O aumento do teor de cádmio nas plantas foi proporcional às doses aplicadas.

Palavras-chave: Estresse por cádmio, ferramentas quimiométricas, MIP OES.

Comparison of two- and multiple-way chemometric strategies that describe elemental changes in pepper exposed to cadmium stress

Author: Marcos de Oliveira Ribeiro

Adviser: Prof. Dr Fabio Dias

Abstract :The objective of this work was to evaluate the mineral composition in three different pepper genotypes (Malagueta, Cumari of Pará and Boyra Habanero Red) to compare bidirectional and multivariate chemometric strategies that describe elemental changes in pepper exposed to cadmium stress. The experiment consisted of five different concentrations of cadmium (0; 0.05; 0.1; 0.15; 0.2 $\mu\text{mol L}^{-1}$) in the nutrient solution. Principal component analysis (PCA) and PARAFAC were performed to describe the elementomic changes through variables of metal concentration along the leaves, stems and roots of pepper plants. The separation of treatments into groups showed the heterogeneity of treatments in relation to the doses of cadmium applied in the nutrient solution, showing their level of phytotoxicity to pepper genotypes. The variables P, K, Ca, Mg and N were the most influenced demonstrated by the PCA. This indicates that the addition of Cd affects the distribution of the elements within the plant. The increase in cadmium content in plants was proportional to the doses applied.

Keywords: Cadmium stress, chemometric tools, MIP OES

INTRODUÇÃO

A pimenta (*Capsicum annuum*) pertence à família Solanaceae, que inclui pimentas e pimentões, originada na América Central e do Sul, e seu cultivo se espalhou pelo mundo (UGULU et al., 2021), podendo ser consumida in natura e sob a forma de conservas, geleia, páprica, desidratada e desidratada. É uma importante fonte de vitaminas A, C, E, B1, B2, fósforo, potássio e cálcio (GE et al., 2019). Além de ser uma planta medicinal, com diversos usos e aplicações para a indústria farmacêutica, devido à elevada quantidade de antioxidantes, como a capsaicina e a capsantina, principais princípios ativos (PADILHA et al., 2015).

A humanidade está muito preocupada com tipos de alimentos mais saudáveis que fornecem nutrientes essenciais para o corpo humano. Portanto, é importante avaliar a concentração de elementos essenciais, como Ca, K, Mg, Fe, Cu e Zn, a fim de saber se os alimentos consumidos pelo homem atendem às necessidades nutricionais (PEREIRA et al., 2018). Além disso, é importante supervisionar elementos tóxicos como Ba, Cd, Hg e Pb, e possíveis distúrbios fisiológicos podem ocorrer devido ao excesso desses elementos no corpo humano (SOUZA et al., 2019).

Os metais tóxicos são poluentes ambientais altamente persistentes e sua toxicidade é um problema cada vez mais prejudicial para os fenômenos ecológicos e nutricionais (NADEEM et al., 2019). A poluição dos solos agrícolas por metais tóxicos e potencialmente tóxicos tornou-se um dos principais problemas ambientais enfrentados pela humanidade (MALAR et al., 2014), causado pelo rápido desenvolvimento industrial e das atividades agrícolas (ZENG et al., 2019). Esses metais podem degradar seriamente o solo, além de serem incorporados às teias alimentares por meio da absorção pela planta (KHAN et al., 2021). Dentre os metais tóxicos, o cádmio se destaca pelo alto risco ambiental causado pelo seu uso intenso, toxicidade e ampla distribuição (RAN et al., 2016).

O cádmio pode ser encontrado naturalmente no solo por meio da degradação da rocha matriz devido ao intemperismo, locais de transporte de partículas, transporte de poeira de longo alcance e atividades vulcânicas. Em solos não contaminados, a concentração de cádmio pode variar de 0,01 a 1,0

mg kg¹ (IMSENG et al., 2018). A presença de cádmio no solo também pode ser decorrente de fontes antrópicas, que podem ocorrer por meio da destinação inadequada de lodo de esgoto, atividades industriais e agrícolas, aterros a céu aberto (ZENG et al., 2019). Sua presença na cadeia alimentar é um problema para a saúde humana (HUANG et al., 2017). Devido à sua alta solubilidade e capacidade de transferência do solo para as raízes e raízes para as folhas e frutos (PIEKUT et al. 2018). Portanto, sua toxicidade está sendo amplamente estudada, uma vez que este elemento causa uma série de efeitos deletérios na planta, onde inibe a fixação de carbono, diminui a clorofila e a atividade fotossintética, induz estresse osmótico, reduzindo o conteúdo relativo de água nas plantas. folhas, condutância estomática e transpiração, além de competir com outros nutrientes com características químicas semelhantes por sítios de absorção, interferindo na absorção de Fe e P e no transporte e absorção de Ca, Mg, K, N (GALLEGO et al. , 2012).

A determinação de nutrientes por técnicas espectroanalíticas, como espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) (BONSUCESO et al., 2012) espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) (DIAS et, al., 2007) Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) (NI et al., 2015) e espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) (CARVALHO et, al., 2015). O espectrômetro atômico por plasma induzido por microondas (MIP OES), tem sido amplamente utilizado para identificar elementos em diferentes tipos de amostras, como amostras de alimentos. Por ser uma técnica de baixo custo operacional devido ao plasma ser mantido com nitrogênio, retirado do ar atmosférico (ABREU et, al., 2021), além de possuir versatilidade com uma amostra de maior simplicidade operacional, apresenta precisão e bons limites de detecção, sendo nível ppb para a maioria dos elementos em solução (SOUZA et al., 2019).

Técnicas multivariadas têm sido amplamente utilizadas porque permitem avaliar vários parâmetros experimentais ao mesmo tempo (ALI et al., 2021). Desde a capacidade de interpretar dados espectrais do solo e a técnica de calibração multivariada, é considerada como o principal fator para aumentar a precisão das previsões das propriedades do solo (NAWAR et al., 2016). O modelo Linear de calibração multivariada, como regressão de componentes principais (PCR), mostrou-se eficiente para extrair matematicamente padrões de

absorção complexos e encontrar a correlação entre esses padrões e as propriedades do solo.

A análise multivariada, especificamente a Análise de Fator Paralelo (PARAFAC), é uma ferramenta poderosa para determinação simultânea de componentes fluorescentes (CARROLL & CHANG, 1970), pois descreve a contribuição de cada componente para o sinal medido em três dimensões, respectivamente. Além disso, as informações obtidas pelo PARAFAC podem ser usadas para construir modelos de classificação e discriminação robustos e confiáveis. No método, um conjunto de dados de três vias é composto por três matrizes. Com as matrizes, podem ser obtidas informações como concentração, pico cromatográfico e espectros de componentes puros (ZHANG et al., 2021).

Dada a ação benéfica da pimenta na saúde humana, a economia e a escassez de informações sobre a tolerância desta cultura ao cádmio, este estudo teve como objetivo comparar estratégias quimiométricas de duas e múltiplas vias que descrevem alterações elementômicas em pimenta exposta ao estresse por absorção, por determinação de cádmio e multi-elementos por MIP OES.

MATERIAIS E MÉTODOS

INSTRUMENTAÇÃO

Um espectrômetro de emissão óptica de plasma induzido por microondas, modelo MIP OES 4200 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA) foi usado em todas as determinações. A introdução da amostra compreendeu um amostrador automático Agilent SPS 3, uma câmara de pulverização ciclônica de passagem dupla e um nebulizador OneNeb inerte. Um líquido N₂ Dewar modelo 4107 (Agilent Technologies) foi usado como fonte de gás de plasma. A correção de fundo foi realizada automaticamente usando o software MP Expert. A rotação da bomba peristáltica foi de 15 rpm. O tempo de estabilização foi de 15s e o tempo de integração foi de 3s. Dois parâmetros operacionais críticos (taxa de fluxo do gás nebulizador e posição de visualização) foram otimizados automaticamente pelo software MP Expert (Agilent Technologies). Os comprimentos de onda usados foram: Ca (317,933), Mg (518,360), Fe (371,993), Mn (403,449), P (214,915), K (766,491), Cu (324,754) e Cd (508,582). A pressão do nebulizador e a posição de visualização foram otimizadas automaticamente pelo instrumento. Para o procedimento de digestão ácida das amostras de pimenta, foi utilizado um bloco de digestão modelo TE-040/25 da Tecnal (Piracicaba, SP, Brasil). A determinação de nitrogênio foi realizada pelo método espectrofotométrico de hipoclorito de fenol no comprimento de onda de 630 nm (FAITHFULL, 2002).

REAGENTES, SOLUÇÕES

Todos os produtos químicos usados nos experimentos eram de grau analítico. As soluções aquosas foram preparadas com água ultrapura (resistividade > 18 MΩ cm) obtida no sistema de purificação Milli-Q® (Millipore, Bedford, EUA). Todos os frascos e vidrarias foram embebidos em HNO₃ a 10% (v / v) por pelo menos 24 he enxaguados com água antes do uso. A solução estoque P, K, Ca, Mg, N, Cd, Fe, Cu, Mn (1000 mg L⁻¹) (SpecSol, Quimlab Química e Metrologia, São José dos Campos, Brasil) foram usados para preparar as soluções de referência padrão (diluído em HNO₃ 1,0 mol L⁻¹), utilizado para experimentos de calibração. Ácido sulfúrico e peróxido de hidrogênio (Merck, Darmstadt, Alemanha) foram usados para a digestão.

AMOSTRA E PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

As plantas de pimenta foram produzidas em casa de vegetação localizada no Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Campus Cruz das Almas, Bahia-Brasil (12 ° 40'19 "S, 39 ° 06'23 "O, altitude 220 m). Foram utilizadas sementes de 3 genótipos de pimenta (G1 = Malagueta "*Capsicum frutescen*"; Cumari do Pará G2 = "*Capsicum chinense Jacquin*" Habanero boyra vermelha G3 = "*Capsicum chinense*"). As sementes foram semeadas em copos plásticos (70 mL) contendo areia lavada e irrigadas diariamente com água destilada. Após 10 dias de emergência, as mudas foram transferidas para bacias plásticas, contendo 12 L da solução nutritiva de HOAGLAND & ARNON (1950), onde permanecerão por oito dias, para fins de aclimação. Após esse período, foram iniciados os tratamentos com cinco concentrações de cádmio e (0; 0,05; 0,1; 0,15; 0,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$ fornecidos na forma de Cd (NO₃)₂. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 4 repetições. Os níveis das soluções foram completados diariamente com água destilada e o pH foi ajustado para 4,0 ± 0,2, sendo monitorado diariamente e corrigido com HCl ou NaOH quando necessário. As plantas permaneceram nestas condições por um período de 21 dias. Após esse período, as plantas foram separadas em folhas, caules e raízes, em seguida, o material vegetal foi embalado em sacos de papel devidamente identificados e levado para uma estufa com circulação forçada de ar a 65° C por 72 h. As amostras foram trituradas em moinho de faca Willey antes de serem prensadas, trituradas e peneiradas em grânulos de 100 micrômetros Para posterior análise de N, P, K.

PROCEDIMENTO DE DIGESTÃO

O procedimento de digestão ácida das amostras de pimenta foi realizado em bloco digestor. Primeiramente, 0,1 g da amostra foi pesada diretamente em tubos de digestão, em triplicata e 3 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) foram adicionados em uma coifa a uma temperatura de 350 ° C por 40 min, conforme descrito por ABREU ET AL. (2021), com modificações. O volume de 3 mL de peróxido de hidrogênio foi adicionado a cada tubo. Após o tempo de análise, o conteúdo dos tubos foi filtrado e transferido para frascos volumétricos de 100 mL.

Conforme Resolução 899 da ANVISA (BRASIL, 2003), o limite de quantificação (LQ) é descrito como sendo a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com confiabilidade e exatidão sob as condições experimentais estabelecidas. Na prática, sinaliza como sendo o padrão de calibração da menor concentração, excluindo o branco. Esse valor, após ter sido determinado, deve ser testado com amostras independentes, para averiguar se a tendência e a precisão conseguidas são satisfatórias (INMETRO, 2011).

Limites de Quantificação

O limite de quantificação do equipamento é calculado através da multiplicação do desvio-padrão por 10, conforme equação a seguir:

$$LQ = 10 \times s$$

Limites de Detecção

O limite de detecção do equipamento é calculado através da multiplicação do desvio-padrão por 3,3, conforme equação a seguir:

$$LD = 3,3 \times s$$

ANÁLISE MULTIVARIADA

A fim de compreender as correlações entre os múltiplos parâmetros estudados e avaliar de forma consistente o comportamento da pimenta exposta ao estresse por Cd, foi realizada a análise de componentes principais (PCA). O PCA é útil para analisar as inter-relações entre um elevado número de variáveis e para entender a estrutura de conjuntos de dados complexos multivariados que revelam padrões ocultos (BRO & SMILDE 2014). Assim, o PCA realiza uma compressão de dados tornando a matriz original o mais simples possível. O PCA fornece uma visão geral das principais informações contidas em dados bidirecionais, que podem ser visualizados em um espaço de duas ou três dimensões.

As semelhanças e diferenças entre as amostras foram estudadas pela observação dos escores dos componentes principais e a importância das

variáveis foi estudada pelos gráficos de loading. Diferentes modelos de PCA foram desenvolvidos de acordo com as diferentes classes estudadas. Em primeiro lugar, os modelos de PCA foram desenvolvidos para cada grupo de amostras pertencentes a um mesmo tratamento como ferramentas exploratórias para determinar o procedimento de pré-tratamento de dados mais adequado e para descobrir outliers e padrões principais. Conseqüentemente, o PCA foi realizado em dados organizados em cinco matrizes que encerram conjuntos de dados correspondentes a cada tratamento individualmente. Para cada tratamento, as semelhanças e diferenças entre as amostras foram estudadas observando os gráficos de pontuação; e o peso das variáveis foi estudado pelos gráficos de carregamento. Em seguida, modelos de PCA foram desenvolvidos para cada genótipo de pimenta para entender as correlações entre as variáveis em diferentes partes das plantas e para encontrar mudanças elementômicas.

O modelo PARAFAC foi desenvolvido com o objetivo de descrever as mudanças elementômicas por meio de variáveis de concentração de metal ao longo das folhas, caules e raízes das plantas de pimenta durante os diferentes tratamentos com Cd. Resumidamente, PARAFAC decompõe X no produto de três matrizes A , B e C com dimensões (amostra \times NF), (nvar \times NF) e (ntrat \times NF), contendo respectivamente as informações presentes nas amostras, variáveis (concentração de metal) e cada tratamento. O conjunto de dados experimental foi primeiro autoescalonado, com todas as variáveis tendo média zero e variância unitária, evitando assim problemas devido a diferentes magnitudes de dados e escalas de medição. NF foi escolhido por meio do parâmetro de consistência do núcleo (STANIMIROVA et al., 2006); ORTIZ et al., 2015 implementado na caixa de ferramentas N-way para MATLAB (PRAVDOVA et al., 2001).

O pré-processamento de dados, coeficientes de correlação, PCA e PARAFAC foram realizados usando códigos internos escritos em MATLAB 9.2 (R2017a) (The Mathworks, 244 Natick, MA, USA). A modelagem PARAFAC foi implementada usando o N-waytoolbox para MatLab que está disponível online em <http://www.models.life.ku.dk/nwaytoolbox/>

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Vários estudos mostram que a toxidez por cádmio, causa deficiência de macro e micronutrientes (LÓPEZ-MILLÁN et al., 2009, SARWAR et al., 2010; DIAS et al., 2012) proporcionado pela inibição de canais iônicos (SARWAR et al., 2010), redução da absorção de cátions (NAZAR et al., 2012) e o aumento da concentração de Cd na solução.

Uma análise de correlação inicial mostrou que a magnitude das nove concentrações dos elementos sob controle e a correlação entre elas mudam durante os diferentes tratamentos (T1 = 0, T2 = 0,05, T3 = 0,1, T4 = 0,15 e T5 = 0,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$ Cd (NO₃) (Figura 1). Isso significa que a adição de Cd altera a estrutura interna do espaço das variáveis químicas que estão usando para monitorar a absorção de nutrientes, uma vez que os mecanismos envolvidos na absorção de Cd pelas raízes das plantas, consistem em competição por sítios de absorção entre o Cd e outros nutrientes como o Ca, Mg, Zn e Mn como devido à similaridade em suas características químicas (HASAN et al., 2009). Essas mudanças são claramente observadas na figura 1 que contém a representação colorida das matrizes formadas pelos coeficientes de correlação de Pearson nos cinco tratamentos para todas as amostras.

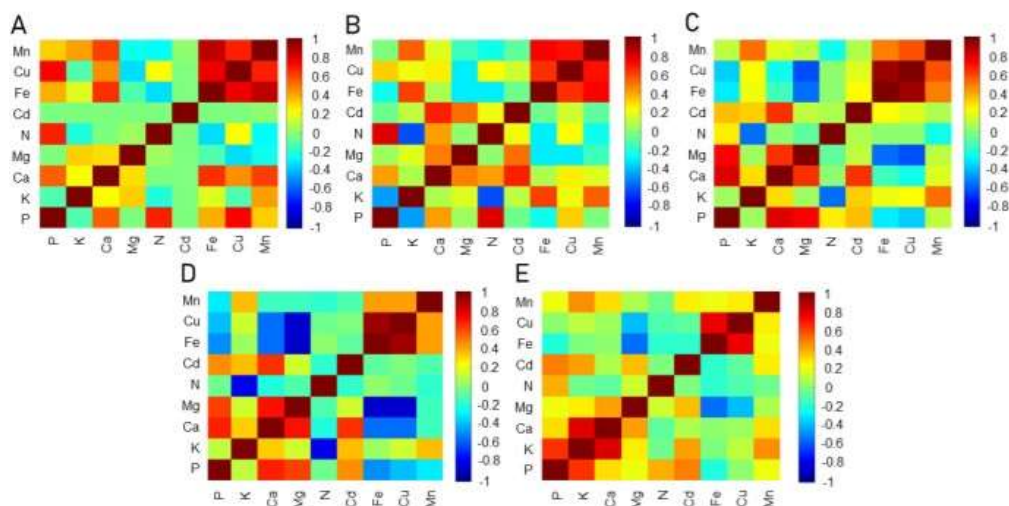


Figura 1. Matrizes de correlação entre as variáveis para os diferentes tratamentos avaliados. (A) T1 (B) T2, (C) T3, (D) T4 e (E) T5.

Em geral, todas as variáveis exibiram correlações positivas ou negativas com outras variáveis em T1, que foram mudando em relação à adição de Cd nos diferentes tratamentos, essas alterações foram mais evidentes à medida que a

adição de Cd aumentou. Por exemplo, a variável Mn está ligeiramente correlacionada positivamente com as variáveis Ca e Cu e ainda mais com Fe no T1(0,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ Cd (NO₃)₂ quando as amostras foram cultivadas sem adição de Cd (Figura 1A). Então, nos tratamentos seguintes com aumento das doses de Cu , o Cd produziu mudanças na correlação dessas variáveis tornando-as em variável não correlacionada quando a nas maiores doses de Cd foi maior (Figura 1B-F).

Diante do exposto, a correlação positiva do Mn com os nutrientes Ca, Cu e Fe no tratamento (T1), pode ser explicada devido à ausência do Cd. De acordo com MALAVOLTA et al., (1997), o Mn inibe a absorção de Fe supostamente por inibição competitiva. Porém, esse fato foi observado no tratamento com a maior dose de Cd. Trabalho realizado por LI et al., (2016) relataram que quando a concentração de Cd no solo foram observadas muito menos correlações positivas entre os nutrientes em *Allium fistulosum* L. O autor relata que esses resultados indicaram que a adição de Cd quebrou o equilíbrio de absorção e translocação de nutrientes na cebola galesa.

Porém, todos esses coeficientes de correlação não podem revelar o fato de que cada variedade de pimenta pode ter um valor específico no conjunto de dados apresenta uma alta complexidade, exigindo análise multivariada para fornecer uma interpretação mais detalhada e formulário geral sobre o modelo subjacente. Por esse motivo, algumas abordagens aplicando diferentes matrizes de dados foram realizadas. Anteriormente, diferentes métodos de pré-processamento eram produzidos, e o melhor em termos de variância explicada obtida nos modelos era o autoescalamento.

A análise de componentes principais (PCA)

Após constatar que todos os tratamentos apresentaram alta variabilidade nos dados adquiridos, uma PCA independente foi realizada para avaliar os tratamento individualmente a fim de avaliar as diferenças entre os diferentes genótipos estudados (Malagueta "*Capsicum frutescen*", Cumari do Pará "*Capsicum chinense Jacquin*" e Boyra Habanero vermelho "*Capsicum chinense*"). Por esta razão, a matriz de dimensão para cada tratamento de tratamento T1 = 0, T2 = 0,05, T3 = 0,1, T4 = 0,15 e T5 = 0,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$ Cd (NO₃)₂ foi 36 x 9. Como resultados de cada análise, os três primeiros PCs foram

selecionados para representar a variabilidade dos dados. A (Figura 2) representa os gráficos de pontuação de cada conjunto de dados definidos pelos componentes 1, 2 e 3. A porcentagem da variância explicada para o componente individual é mostrada em cada eixo, resumindo para cada caso um total de 85,72%, 83,27%, 81,30%, 81,67 % e 69,72% para T1, T2, T3, T4 e T5, respectivamente.

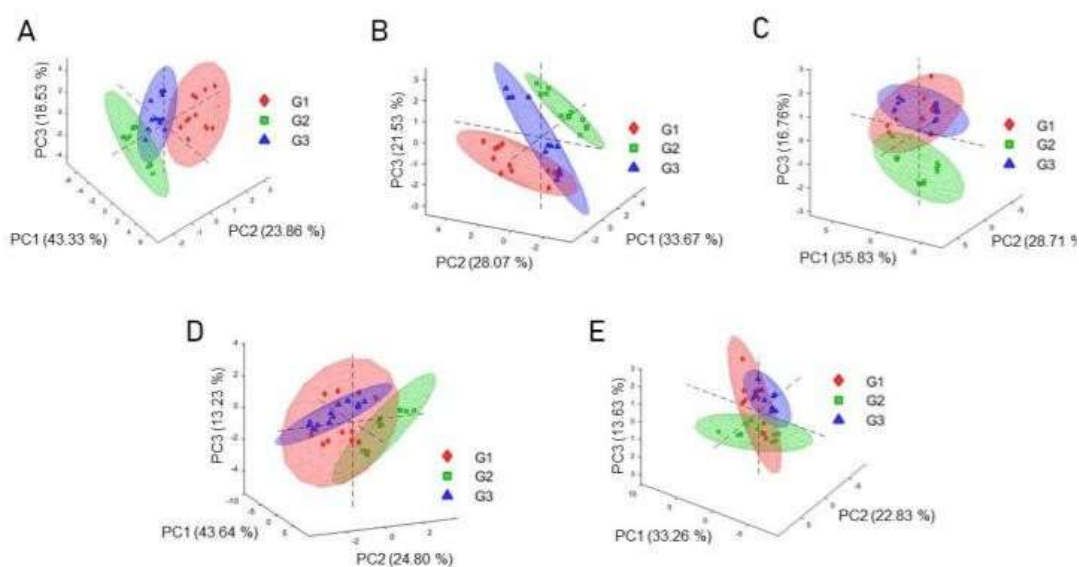


Figura 2. Gráficos de pontuação dos primeiros 3 PCs obtidos do PCA aplicados aos 7 conjuntos de dados correspondentes a cada tratamento (A) T1 (B) T2, (C) T3, (D) T4 e (E) T5. As amostras são apresentadas de acordo com o genótipo: amostras do genótipo 1 (G1-vermelho), amostras do genótipo 2 (G2-verde) e amostras do genótipo 3 (G3-azul). A projeção tridimensional dos elipsóides de confiança aplicando a distribuição t de Student a um nível de confiança de 95% está incluída para facilitar a visualização. Os valores de variação explicados de PC1, PC2 e PC3 são exibidos no eixo correspondente.

Observando a figura 2A, uma clara diferenciação entre os três genótipos para T1 foi evidenciada, o que também pode ser detectado nas amostras correspondentes a T2 (figura 2B). Porém, quando a adição de Cd foi maior, as amostras se sobrepõem impedindo a diferenciação de cada genótipo (Figura 2C-F).

Esses resultados podem ser devido ao fato de que a adição de Cd aumenta a variabilidade dos dados. Por que isso pode ser visto a partir dos

valores de variância explicados onde diminuem à medida que a concentração de Cd aumenta em cada um dos tratamentos, fato que pode estar ocorrendo devido a danos causados às membranas e a destruição de biomoléculas celulares e organelas uma vez que o aumento na concentração de cádmio no meio causa a superprodução de espécies reativas de oxigênio (ABBAS et al., 2017) ou homeostase celular devido à despolarização da membrana citoplasmática e acidificação (GALLEGO et al., 2012). Essa situação dificultaria a diferenciação dos genótipos de pimenta, caso crescessem em solo contaminado com Cd. Porém, considerando apenas amostras sem adição de Cd, os elementos estudados apresentam alta capacidade de discriminar esses genótipos de pimenta.

Posteriormente, em relação às diferenças observadas anteriormente, modelos de PCA foram desenvolvidos para avaliar cada genótipo individualmente. Para tanto, a matriz de dimensão para cada um foi de 60 x 9. De acordo com os resultados obtidos, os três primeiros PCs foram necessários para observar uma diferenciação clara entre as amostras, com > 70% da variabilidade total dos dados para todos os modelos. A Figura 3 mostra as pontuações e gráficos de carregamento de cada conjunto de dados definido por PC1, PC2 e PC3.

Os gráficos de pontuação (Figura 3A-B-C) evidenciam 3 grupos que correspondem às diferentes partes da pimenta: folhas, caules e raízes das plantas. Assim, para todos os casos, pode-se constatar que cada parte da planta possui um comportamento diferente. Além disso, a partir dos gráficos de loading (Figura 3D-E-F), pode-se observar que o comportamento é diferente para cada genótipo. Em termos gerais, as principais variáveis associadas à diferenciação da amostra para PC1 foram P, K, Ca e Mg no lado positivo e Cd, Fe, Cu e Mn no lado negativo. O carregamento no PC2 exibiu maiores valores positivos principalmente para Fe, Cu, Mn, Cd, K e P. Finalmente, o carregamento no PC3 adquiriu os maiores valores principalmente para as variáveis N, K (valores positivos), Mn e Fe (valores negativos). Porém, se cada genótipo for avaliado separadamente, essa tendência muda de um para o outro, revelando que os genótipos têm comportamentos diferentes e que podem ser afetados por cada tratamento de maneiras diferentes. No entanto, a partir desses modelos não foi

possível analisar como os tratamentos com adição de Cd poderiam afetar a distribuição original nas diferentes partes das plantas.

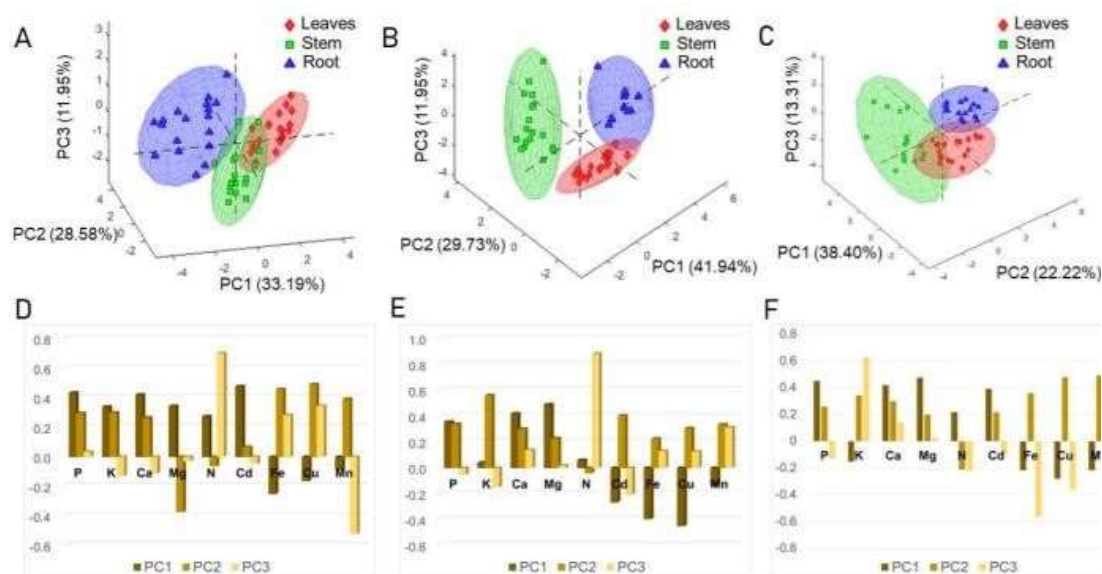


Figura 3. Gráficos de scoring / loading dos primeiros 3 PCs obtidos do PCA aplicados aos 3 conjuntos de dados correspondentes a cada genótipo (A / D) G1 (B / E) G2, (C / F) G3. As amostras são apresentadas de acordo com a parte específica da planta: leaves samples (red), stem samples (green) and root samples (blue). A projeção tridimensional dos elipsóides de confiança aplicando a distribuição t de Student a um nível de confiança de 95% está incluída para facilitar a visualização. Os valores de variação explicados de PC1, PC2 e PC3 são exibidos no eixo correspondente.

Esse resultado era esperado por ser o tratamento com maior concentração de Cd. É comum que o acúmulo de Cd varie significativamente entre genótipos e espécies de plantas (GRATÃO et al., 2008). A incidência de íons Cd no solo pode levar à absorção desses elementos pelas raízes e uma posterior disseminação e transporte de nutrientes nas plantas (ROCHAYATI et al., 2011), também foi demonstrado que o cádmio interage com utilização, armazenamento e uso de vários elementos (como Ca, Mg, P e K), além da absorção de água pelas plantas (KINAY, 2018). Metwally et al., 2005, mostraram uma redução expressiva na absorção de P, K, S, Ca, Zn, Mn e B em ervilhas, exposição ao Cd. Além de reduzir a absorção de Fe e Zn pela planta, resultando em clorose foliar (XU et al., 2017). FERREIRA et al., (2016) relataram que o

estresse por cádmio induziu um aumento de 100% na concentração de Cu na raiz do girassol, mas a concentração desse elemento nas folhas não foi afetada.

PARAFAC

Aparentemente, o PCA não fornece um entendimento completo das mudanças elementares ocorridas em cada genótipo. Portanto, parece evidente que todas as variáveis estudadas devem ser tratadas em conjunto respeitando a estrutura de três vias de dados. Conseqüentemente, os dados eram estruturalmente um tensor de três vias, X , de tamanho $(36 \times 9 \times 5)$. Esses números correspondem às trinta e seis partes de plantas de diferentes genótipos no perfil da amostra, aos nove parâmetros do perfil elementar e aos 5 perfis de tratamento. Com este tensor X $(36 \times 9 \times 5)$, foi ajustado um modelo PARAFAC, que teve um índice de corcondia de 99,99%, implicando que a solução era única. Com esses três fatores, o modelo explicou 97,3% da variância dos dados. O modelo PARAFAC atribui 61,1%, 20,9% e 15,3% no primeiro, segundo e terceiro fator, respectivamente. Em qualquer caso, foi explicado que um modelo PARAFAC define cada fator com os carregamentos relacionados “um-para-um” (neste caso, os três vetores correspondentes, um por perfil). A complexidade ideal foi encontrada para um modelo de três fatores (consistência do núcleo = 100%), explicando 25,3% da variância dos dados. Segundo (BRO, 1997), a consistência do núcleo de um modelo PARAFAC seria próxima a 100% e modelos com valores abaixo de 50% seriam considerados inadequados, portanto, neste caso, o PARAFAC de três fatores parece ser a melhor opção.

Portanto, ao considerar tanto o núcleo (Figura 4) mostra a um resumo dos três componentes do modelo PARAFAC, ou seja, os carregamentos das três matrizes: amostras (A-B-C), variáveis (D-E-F) e tratamentos (G-H-I). Em primeiro lugar, os componentes de cada modo serão analisados separadamente e, em seguida, as interações entre os diferentes modos serão discutidas.

Primeiro, os carregamentos das variáveis nos dois componentes da matriz de variáveis são examinados. O primeiro componente possui altas cargas positivas para P, K, Ca, Mg e N (Figura 4D). Por outro lado, Fe, Cu e Mn são carregados positivamente no segundo componente (Figura 4D). Além disso, Cd é a única variável que apresenta carregamento extremamente alto em relação a

outras variáveis. Os agrupamentos e distribuições das variáveis nos três primeiros componentes PARAFAC são muito semelhantes aos encontrados para os componentes PCA correspondentes e serão discutidos mais extensivamente abaixo.

A distribuição elementar nas diferentes partes das plantas pode ser explicada em termos das cargas de cada amostra do conjunto de dados nos três componentes da matriz da amostra. O primeiro componente (Figura 4A) tem cargas positivas em todas as amostras; no entanto, diferenças claras podem ser observadas entre os genótipos e entre partes das plantas. Todos os genótipos apresentaram os maiores valores para as folhas. Por outro lado, o genótipo 1 apresentou comportamento diferente em relação aos genótipos 2 e 3 para caules e raízes. Para caules, os carregamentos do genótipo 1 apresentaram valores superiores aos das raízes, enquanto os outros dois genótipos apresentaram comportamento oposto. No entanto, as cargas para as hastes do genótipo 2 tiveram valores menores que o genótipo 3.

Um comportamento muito diferente das amostras pode ser visto nas cargas no segundo componente (Figura 4B). Mais uma vez, o genótipo 1 se comporta de maneira diferente, tendo as cargas positivas altas para as amostras de raízes após os caules e depois deixar as amostras. Ao contrário, para os genótipos 2 e 3, as cargas mais altas foram obtidas para amostras de caules sendo ainda as mais altas para o genótipo 2. Mais diferenças podem ser vistas entre os genótipos 2 e 3.

O genótipo 2 apresenta valores de carga para folhas e raízes significativamente mais baixos do que caule e, comparando os valores de carregamento para folhas são maiores do que os valores de carregamento para raízes. Ao contrário, o genótipo 3 não tem um padrão em relação aos carregamentos para folhas e raízes, visto que podem ser observados valores positivos ou negativos, maiores ou menores do que um ou outro.

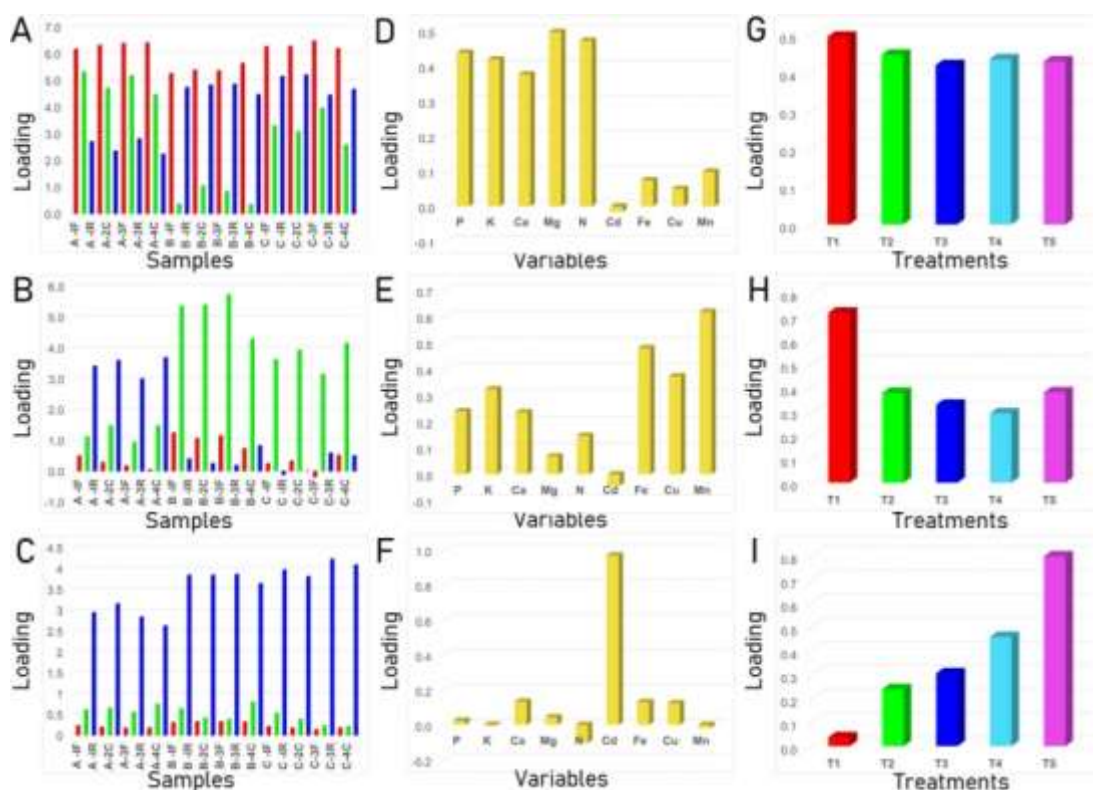


Figura 4. Gráfico de carregamentos obtidos a partir da análise do modelo PARAFAC do conjunto de dados de água. (A-BC) Cargas no modo 1 - perfil para folhas (barra vermelha), caules (barra verde) e amostras de raiz (barra azul) - (DEF), Cargas no modo 2 - variáveis - e cargas (GHI) no modo 3 –Tratamentos-.

Finalmente, o carregamento no terceiro componente também apresentou comportamento diferente em relação aos carregamentos no primeiro e segundo componentes (Figura 4C); no entanto, isso foi exatamente o mesmo para todas as amostras. Neste caso, as amostras de raízes apresentaram fortes carregamentos positivos, enquanto os carregamentos de riachos eram pouco maiores do que os carregamentos de saída, esses resultados demonstram que as plantas para superar a toxicidade do Cd, mantêm este elemento nas raízes, evitando que ele cause danos aos tecidos fotossintéticos nas folhas, onde a capacidade de limitar esta translocação está relacionada ao transbordamento do córtex radicular e endoderme, sendo assim, o diamentador dos tecidos radiculares e do cilindro vascular cria uma barreira que restringe o fluxo de água, diminuindo o transporte de Cd para a parte aérea das plantas (NASSER et al., 2013). FERREIRA et al., (2016) relataram que independentemente do tratamento, a maior parte da absorção de Cd pelo girassol foi alocada na raiz.

Em relação aos diferentes tratamentos, ou seja, o terceiro modo, a Figura 4 (G-H-I) mostra os carregamentos da matriz no modo 3 que explicam a variação dos dados ao longo dos diferentes tratamentos. O primeiro componente exibiu todos os valores positivos, mas os valores não significativos foram observados entre os diferentes tratamentos (Figura 4G). Caso contrário, o segundo componente apresentou também apenas valores positivos, mas, neste caso, os valores de carregamento T1 apresentaram valores superiores aos dos demais tratamentos (Figura 4H). Por outro lado, os carregamentos para o terceiro componente exibiram comportamento muito diferente em relação aos obtidos nos modos 1 e 2 (Figura 4I). Aqui, os valores de carregamento para o tratamento 1 diminuíram drasticamente enquanto os demais carregamentos aumentaram seus valores conforme a concentração de Cd aumenta em cada tratamento, adquirindo para T5 os maiores valores. Analisando cada componente separadamente, pode-se ver que o modo 3 mostra como a adição de Cd afeta as diferentes partes das plantas. Como mencionado acima, as variáveis de Cd apresentam diferenças significativas em relação às demais variáveis e, portanto, o aumento dos valores de carregamento para cada tratamento é devido ao acúmulo de Cd nas plantas. Além disso, pela observação do carregamento no modo 1 pode-se observar que esse acúmulo é produzido principalmente nas raízes. Uma análise semelhante pode ser feita de outros modos. Aqui, o carregamento nos modos 1 e 2 dá uma ideia de como os elementos estão distribuídos por toda a planta e como essa distribuição é afetada nos diferentes tratamentos.

A aplicação das doses de cádmio, causou alterações nas concentrações dos macronutrientes (N, P, K) nos diferentes órgãos das pimentas (tabela 1).

A aplicação de Cd na solução nutritiva proporcionou o aumento linear de (28,77%), na concentração de P na folha do genótipo 1 tendo como o valor máximo ($9,48 \pm 0,69 \text{ mg}^{-1}\text{g}$) porém os genótipos 2 e 3 não apresentaram resultado significativo, no caule apenas o genótipo 2 apresentou resultado significativo, tendo como valor máximo ($7,12 \pm 0,06 \text{ mg}^{-1} \text{ g}$) onde apresentou redução até a dose $0,08 \text{ Cd (mmol L}^{-1}\text{)}$ (52%), visto que da dose $0,08$ até a $0,2$ (mmol L^{-1}) teve um aumento de 100%, já para os genótipos 2 e 3 os resultados não foram significativos, resultado similar foi encontrado em estudo com plantas de cedro (PAIVA et al., 2001). Na raiz, a aplicação do Cd na solução nutritiva fez

com que a concentração de P na raiz do genótipo 1 reduzisse até a dose 0,1 (mmol L⁻¹) (97%) sendo que da dose 0,1 até a 0,2 (mmol L⁻¹) teve um aumento de 367% apresentando o valor máximo de (4,99±1,2 mg⁻¹g). Já no genótipo 2, o valor máximo foi de (7,87±0,18 mg⁻¹g) o que corresponde a um aumento de (156%) com relação a testemunha, no entanto no genótipo 3 os resultados não foram significativos. Esse aumento na concentração de P nas raízes dos genótipos 1 e genótipo 2, na folha do genótipo 1 e caule no genótipo 2 pode ter ocorrido motivado por sua precipitação na forma de fosfato de cádmio, forma essa insolúvel, sendo assim, de baixo transporte (YANG *et al.*, 1996), além de aumenta a superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e a atividade da catalase (CAT) (SARWAR *et al.*, 2010). Esses resultados do sistema radicular também foram observados por outros autores, trabalhando com diferentes espécies de plantas (YANG *et al.*, 1996), embora GUSSARSON (1994) tenha verificado que, em mudas de *Betula pendula*, houve redução no teor radicular de P com a aplicação de Cd em solução nutritiva. De acordo com KABATA-PENDIAS & PENDIAS (1984), a presença de Cd provoca antagonismo sobre a absorção de P.

Para os teores de K, a adição das concentrações Cd propiciou um aumento na folha e na raiz das plantas do genótipo 1, folha (60%) tendo como o valor máximo (4,29±0,59 mg⁻¹g), porém no caule e nas raízes esses resultados não foram significativos. Se assemelhando aos encontrado por FERREIRA, 2016 que verificou aumento na concentração de k com as doses de Cd. Esses

Tabela 1: Concentração de cádmio em folhas, caule e raízes em genótipos de pimenta expostas a Cd.

Genótipo 1 “Pimenta Malagueta”									
FOLHA									
Trat	Doses Cd (mmol L ⁻¹)	p(mg ⁻¹ g)	K (mg ⁻¹ g)	Ca (mg ⁻¹ g)	Mg (mg ⁻¹ g)	N (mg ⁻¹ g)	Cu (mg ⁻¹ g)	Fe(mg ⁻¹ g)	Mn(mg ⁻¹ g)
G1T1	0,0	7,55±0,32	3,03±0,10	8,09±1,26	18,79±1,28	3,27±0,88	<LQ	0,09±0,04	0,07±0,01
G1T2	0,05	7,89±0,69	2,68±0,60	5,84±0,63	23,83±5,30	3,52±1,05	<LQ	0,03±0,01	0,15±0,01
G1T3	0,1	9,48±0,69	4,10±1,67	9,16±1,19	47,41±1,21	2,56±0,06	<LQ	0,03±0,03	0,37±0,03
G1T4	0,15	8,64±0,24	4,29±0,59	8,94±1,36	46,83±4,95	2,93±1,45	<LQ	0,07±0,04	0,29±0,03
G1T5	0,2	8,72±0,61	4,15±0,08	10,6±1,22	40,91±2,65	4,07±0,57	<LQ	0,06±0,02	0,14±0,01
CAULE									
G1T1	0,0	7,38±0,28	3,51±0,11	6,42±0,57	12,64±0,22	2,61±0,40	0,03±0,01	0,35±0,07	0,83±0,12
G1T2	0,05	5,15±0,29	2,87±0,52	6,54±1,27	17,68±0,38	4,24±0,43	0,04±0,02	0,26±0,06	0,37±0,06
G1T3	0,1	3,50±0,73	4,52±0,51	6,89±1,42	14,41±5,52	3,09±1,60	0,03±0,01	1,35±0,82	0,36±0,13
G1T4	0,15	3,09±1,04	4,26±2,14	3,88±0,11	6,76±0,95	3,55±0,22	0,05±0,01	0,81±0,10	0,29±0,17
G1T5	0,2	4,99±1,20	4,92±0,95	7,42±0,51	30,78±0,65	1,45±0,58	0,04±0,01	0,16±0,01	0,28±0,03
RAIZ									
G1T1	0,0	5,28±0,29	2,54±0,21	4,03±0,46	5,47±ND	2,35±0,57	<LQ	0,05±0,04	0,04±0,02
G1T2	0,05	5,15±0,33	2,70±0,46	3,33±1,54	11,41±0,23	2,66±1,75	<LQ	0,08±0,01	0,05±0,01
G1T3	0,1	3,50±0,73	3,21±1,07	4,75±0,26	25,00±0,79	2,38±0,38	<LQ	0,01±0,03	0,09±0,01
G1T4	0,15	3,09±1,04	2,83±0,73	7,01±1,46	28,19±10,23	3,22±1,53	<LQ	0,04±0,05	0,28±0,02
G1T5	0,2	4,99±1,20	3,270,23	8,79±0,08	18,59±0,46	1,65±0,90	<LQ	1,07±0,32	0,14±0,01
Genótipo 2” “Cumari do Pará “									
FOLHA									
G2T1	0,0	3,18±0,45	4,49±0,84	3,49±0,32	16,42±0,24	0,45±0,13	<LQ	0,12±0,01	0,08±0,01
G2T2	0,05	3,02±0,25	3,81±0,09	1,47±0,11	21,77±1,16	0,70±0,14	<LQ	0,18±0,04	0,15±0,04
G2T3	0,1	3,73±1,09	4,86±0,48	3,86±0,14	33,33±2,17	0,98±0,34	<LQ	0,04±0,02	0,35±0,09
G2T4	0,15	4,64±0,92	5,05±0,09	6,03±0,16	38,57±0,68	0,87±0,05	<LQ	0,09±0,01	0,28±0,06
G2T5	0,2	3,61±0,12	2,22±0,72	6,50±0,14	38,36±5,37	1,27±0,81	<LQ	0,02±0,01	0,12±0,22
CAULE									
G2T1	0,0	5,82±0,05	4,71±0,25	10,80±0,76	12,61±1,50	0,26±0,09	<LQ	0,45±0,07	1,44±0,44
G2T2	0,05	3,56±0,21	4,66±0,07	4,95±0,01	15,61±1,50	0,50±0,45	<LQ	0,43±0,04	0,48±0,38
G2T3	0,1	3,64±0,13	4,80±0,29	4,15±0,17	15,61±0,36	0,70±0,29	0,03±0,01	0,84±0,03	0,38±0,01
G2T4	0,15	5,38±0,43	5,28±0,43	5,21±0,48	14,77±0,70	1,09±0,37	0,04±0,01	0,76±0,06	0,36±0,08
G2T5	0,2	7,12±0,06	4,24±0,73	9,76±0,28	11,51±0,82	1,86±1,24	<LQ	1,29±1,36	0,30±0,29
RAIZ									
G2T1	0,0	4,17±0,08	3,64±0,39	5,06±1,26	20,68±0,18	0,42±0,01	<LQ	<LQ	0,07±0,07
G2T2	0,05	3,06±1,65	3,25±0,15	5,63±0,24	27,16±1,83	0,74±0,10	<LQ	<LQ	0,09±0,03
G2T3	0,1	6,50±0,64	5,77±0,28	9,64±1,70	29,34±0,82	1,32±0,11	<LQ	<LQ	0,28±0,02
G2T4	0,15	7,81±0,22	6,20±0,55	11,71±1,00	37,13±0,56	1,01±0,11	<LQ	<LQ	0,21±0,06
G2T5	0,2	7,87±0,18	6,66±0,21	14,64±0,15	35,58±1,98	1,19±0,24	<LQ	<LQ	0,34±0,04
Genótipo 3 “Boyra Habanero vermelho”									
FOLHA									
G3T1	0,0	4,80±0,69	3,78±0,10	3,17±0,24	10,84±0,08	1,77±0,21	<LQ	0,03±0,04	0,05±0,05
G3T2	0,05	4,69±0,18	2,76±0,23	2,58±0,26	13,52±0,71	2,69±1,28	<LQ	0,04±0,03	0,03±0,02
G3T3	0,1	4,33±0,05	3,50±0,77	3,18±0,53	14,76±0,59	2,49±0,42	<LQ	0,14±0,04	0,06±0,02
G3T4	0,15	7,44±0,35	2,86±0,16	5,44±1,12	28,08±0,13	3,52±0,43	<LQ	0,03±0,05	0,11±0,11
G3T5	0,2	6,71±0,61	2,50±0,01	6,26±0,03	19,26±2,00	2,87±1,40	<LQ	0,05±0,08	0,10±0,04
CAULE									
G3T1	0,0	4,88±1,66	5,35±1,18	4,31±0,58	12,71±0,20	2,06±0,30	<LQ	0,12±0,08	0,69±0,26
G3T2	0,05	5,58±0,61	3,76±0,33	3,04±0,47	19,47±0,52	1,61±0,30	<LQ	0,19±0,04	0,31±0,14
G3T3	0,1	4,53±0,26	3,88±0,32	3,39±0,14	16,79±1,09	1,61±0,46	<LQ	0,19±0,08	0,32±0,21
G3T4	0,15	5,48±0,67	3,36±0,89	5,66±0,43	15,27±0,14	2,93±0,87	<LQ	0,39±0,023	0,18±0,06
G3T5	0,2	6,51±1,67	2,81±0,30	3,79±0,36	8,6±1,24	2,19±1,19	<LQ	0,26±0,087	0,14±0,19
RAIZ									
G3T1	0,0	5,67±1,20	5,02±1,08	7,77±0,38	24,46±0,88	2,68±0,47	LQ	0,07±0,02	0,09±0,07
G3T2	0,05	4,81±1,73	4,03±0,59	7,20±0,71	28,31±1,18	3,05±0,24	LQ	<LQ	0,15±0,015
G3T3	0,1	7,14±1,05	3,67±0,51	8,15±0,48	37,36±4,84	2,64±0,36	LQ	0,10±0,04	0,21±0,04
G3T4	0,15	10,59±0,22	3,41±0,33	9,93±0,15	35,16±0,53	2,84±1,46	LQ	<LQ	0,20±0,05
G3T5	0,2	6,92±1,90	3,10±0,05	5,70±0,49	27,17±3,87	2,43±0,20	LQ	0,45±0,02	0,15±0,02

LQ = limite de Quantificação (LQ para Cu = 0,37 (mg L⁻¹) e LQ para o Fe = 2,81 (mg L⁻¹)

resultados podem estar relacionados a manutenção de K nas folhas que deve ter ajudado na abertura dos estômatos das folhas nas doses mais altas de Cd, favorecendo a regulação do potencial osmótico, controle das trocas gasosas e as relações hídricas da planta durante o estresse, no genótipo 2 esse aumento foi verificado nas raízes que teve um crescimento linear de 132%, apresentando valor máximo de $(6,66 \pm 0,21 \text{ mg}^{-1}\text{g})$, porém nas folhas e no caule a presença do Cd não proporcionou um resultado significativo. No genótipo 3 ao contrário do genótipo 1, o incremento do Cd na solução nutritiva proporcionou redução em todos os órgãos, apresentando resultado significativo no caule (43,2%) e nas raízes (36,5%), já nas folhas não foram encontrados resultados significativos resultado semelhante foi encontrado por PAIVA et al., (2001) com cedro e por CIEĆKO et al., (2004) com milho, onde se verificou uma redução nos teores de K.

O K está diretamente ligado à atividade metabólica da planta, possuindo diversas funções na ativação enzimática, na síntese de proteínas, na fotossíntese, na abertura e fechamento dos estômatos (HAWKESFORD et al., 2012). Sendo assim, a conservação do teor de K nas raízes, caule e folhas pode influenciar na diminuição da toxicidade do Cd, devido à sua importância em vários processos relacionados com o crescimento.

A aplicação de cádmio acarretou um aumento na concentração de N na folha do genótipo 2 de (157%), no genótipo 3 (78,67%) tendo o valor máximo de $(1,27 \pm 0,81 \text{ mg}^{-1}\text{g})$, $(3,52 \pm 0,43 \text{ mg}^{-1}\text{g})$ e no genótipo 1 não apresentou resultado significativo. No caule e na raiz, a concentração de N só foi significativa no genótipo 2 que apresentou um crescimento linear de 653% e 169,6% apresentando valor máximo $(1,86 \pm 1,24 \text{ mg}^{-1}\text{g})$ e $(1,32 \pm 0,11 \text{ mg}^{-1}\text{g})$ em comparação com o tratamento testemunha, sendo que os genótipos 1 e 3 não apresentaram resultados significativos. Resultados semelhantes foram encontrados por FERREIRA (2016) que relatou o aumento nas concentrações de N submetidos a diferentes concentrações de Cd e difere dos encontrado por LÓPEZ-MILLÁN et al., 2009; que relatou reduções nas concentrações de cádmio submetidos as plantas de tomate. O aumento no teor de N encontrado nas plantas de pimenta pode estar relacionado ao mecanismo de absorção pelas raízes ou devido ao sinergismo ou antagonismo de elementos como fosforo e

potássio (CIECKO et al., 2004), ou pode ter ocorrido sinergismo entre o N e o Cd facilitando a chegada do nitrogênio na parte aérea da planta (LUO et al., 2012).

Pode-se observar que o cultivo na presença de Cd alterou as concentrações de Ca (tabela 1) nas folhas dos genótipos de pimentas pois os mesmos apresentaram aumento de 54,24% no genótipo 1, 165,03% no genótipo 2 e 129 % no genótipo 3 tendo como valor máximo ($10,6 \pm 1,22 \text{ mg}^{-1} \text{ g}$); ($6,50 \pm 0,14 \text{ mg}^{-1} \text{ g}$); ($6,26 \pm 0,23 \text{ mg}^{-1} \text{ g}$). No caule esse efeito foi encontrado no genótipo 1 que teve um aumento de 140% apresentando valor máximo de ($7,42 \pm 0,51 \text{ mg}^{-1} \text{ g}$), no genótipo 2 que apresentou redução de 64% até a dose $0,1 (\text{mmol L}^{-1})$, visto que da dose $0,1$ até a $0,2 (\text{mmol L}^{-1})$ teve um aumento de 159% já o genótipo 3 não apresentou resultados significativos. Com relação as raízes apenas o genótipo 2 apresentou resultados significativos tendo um aumento de 187% com relação a testemunha. A maioria dos resultados encontrados principalmente no genótipo 1 desse estudo difere dos encontrado por AUGUSTO et, al., 2014 que estudando a bioacumulação de metais tóxico em *brassica juncea*, verificou uma redução nos teores de Ca nas folhas e nas raízes. É possível que os sítios de ligação de cátions nos transportadores e canais possua uma afinidade maior com os íons Ca^{2+} do que por metais tóxicos (SEREGIN; KOZHEVNIKOVA, 2008). Sendo assim, pode explicar em parte que a presença de Cd na solução não proporcionou alterações na absorção de Ca. A manutenção da absorção de Ca pode auxiliar na tolerância das espécies aos efeitos tóxicos do Cd. O cálcio pode aliviar a toxicidade do Cd, pois esse compete por canais de Ca na planta.

O cálcio é um elemento fundamental na manutenção da integridade celular, pois como um íon divalente, o Ca tanto forma complexos intramoleculares como liga moléculas em complexos intermoleculares (PILBEAM & MORLEY, 2007). Ele também é necessário na formação do fuso mitótico durante a divisão celular e na síntese de novas paredes celulares em células recém divididas, necessário para a integridade física e função normal das membranas e, mais recentemente, tem sido considerado como um mensageiro secundário para várias respostas das plantas aos sinais hormonais e ambientais (HOPKINS & HÜNER, 2009; TAIZ & ZEIGER, 2013).

O teor de Mg (tabela 1) nas folhas de pimenta aumentou significativamente no genótipo 1 (168%) e o genótipo 2 (23%) tendo como valor máximo ($47,41 \pm 1,21 \text{ mg}^{-1}\text{g}$), ($38,57 \pm 0,68 \text{ mg}^{-1}\text{g}$). No caule esse aumento só foi evidenciado no genótipo 1, onde foi verificado um aumento de 679% apresentando o valor máximo de ($30,78 \pm 0,65 \text{ mg}^{-1}\text{g}$), porém os genótipos 2 e 3, ambos apresentaram reduções quadrática de 21 % e 39% com relação a testemunha. Nas raízes esse aumento foi verificado apenas no genótipo 2 que teve um aumento linear de 63% apresentando o valor máximo de ($37,13 \pm 0,56 \text{ mg}^{-1}\text{g}$), no genótipo 1 não foi verificado resultado significativo. Esses resultados diferem em partes com os encontrados por outros autores, como FERREIRA (2016), principalmente para os dados relacionados com a folha do genótipo 2.

A manutenção da absorção do Mg e do Ca pode ser uma estratégia de tolerância para aliviar a toxicidade ao Cd. A absorção e transporte de Mg para a parte aérea pode ajudar a garantir a biossíntese de clorofila, evitando maiores danos, além dos provocados diretamente pelo Cd (ARAVIND; PRASAD, 2004). Onde os íons Mg é fundamental na ativação da maioria das enzimas envolvidas na respiração, fotossíntese e síntese de DNA e RNA das células vegetais (TAIZ & ZEIGER, 2013). É importante no processo estrutural da molécula de clorofila, na estabilização de proteínas, ribossomos, ácidos nucleicos e membranas e é essencial nas reações envolvendo o ATP (HOPKINS & HÜNER, 2009; GOMES et al. 2013). Sendo o Mg, um componente importante das clorofilas, dos processos enzimáticos e do metabolismo energético, a sua nutrição interfere diretamente na assimilação de carbono e nas transformações de energia (MERHAUT, 2007).

O estresse proporcionado pelo Cd pode alterar as concentrações dos micronutrientes Fe, Cu e Mn nas folhas, caule e raízes das pimentas. A presença do Cd na solução alterou de forma significativa, elevando a concentrações de Fe apenas no caule dos genótipos 2 (14,6%) e no 3 (38,9%) apresentando o valor máximo de ($1,29 \pm 1,36 \text{ mg}^{-1}\text{g}$) e ($0,39 \pm 0,023 \text{ mg}^{-1}\text{g}$). Já nas folhas e nas raízes dos genótipos 1, 2 3 e no caule dos genótipos 1 e 3 não foi evidenciados resultados significativos.

Os teores de Cu não apresentaram valores significativos. Já o Mn teve o valor máximo ($0,37 \pm 0,03 \text{ mg}^{-1}\text{g}$) gerando um aumento de 617% até o tratamento 3 ($0,1 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Cd}$) que posteriormente ocorreu uma redução de 57%

o genótipo 2 teve resultado semelhantes ao genótipo 1, onde apresentou valor máximo ($0,35 \pm 0,09 \text{ mg}^{-1}\text{g}$) tendo evidenciado um aumento significativo de (436%) até o tratamento 3 ($0,1 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Cd}$) que posteriormente teve um aumento de 56%. Na raiz o incremento do Cd proporcionou alteração significativa em todos os genótipos proporcionando uma redução de 142% no genótipo 1, já no genótipo 2 foi verificado um aumento de (58,9%) apresentando um valor máximo de ($0,34 \pm 0,04 \text{ mg}^{-1}\text{g}$) no genótipo 3 apresentou um aumento de e (108,75%) tendo um valor máximo de ($0,21 \pm 0,04 \text{ mg}^{-1}\text{g}$) e posteriormente uma redução de (38,9%). Na literatura tem sido relatados efeitos antagônicos, e sinérgicos entre o Cd e o Mn (SARWAR et al., 2010). No presente estudo, ocorreu os dois efeitos, tanto sinérgicos como os antagônicos. Esses resultados são decorrentes a clorose e a necrose das folhas dos diferentes tratamentos de Cd à deficiência de Fe e Mn nas folhas. Geralmente o Cd pode competir com transportadores ou perturbar a expressão do gene transportador, que pode presumivelmente, ainda mais a absorção de micronutrientes (KÜPPER & KOCHIAN, 2010). Os resultados semelhantes foram encontrados por ZHI et al., 2015 que constataram que o estresse pelo Cd pode provocar a diminuição na absorção dos micronutrientes e promover o acúmulo de Cd em *Brassica juncea* L.

CONCLUSÃO

O uso do PARAFAC proporcionou uma representação simples e direta que facilita um entendimento rápido e abrangente das informações elementomic. a adição de cádmio influenciou na absorção de todos os nutrientes.

A separação dos tratamentos em grupos evidenciou a heterogeneidade dos tratamentos em relação às doses de cádmio aplicadas na solução nutritiva, evidenciando seu nível de fitotoxicidade aos genótipos de pimenta.

Dentre as variáveis P, K, Ca, Mg e N foram as mais influentes demonstradas pela análise de componentes principais (ACP).

O aumento do teor de cádmio nas plantas foi proporcional às doses aplicadas.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi parcialmente financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES).

REFERÊNCIAS

- ABBAS, T; RIZWAN, M; ALI, S; ADREES, M; ZIA-UR-REHMAN, M; QAYYUM, M. F; OK, Y.S; MURTAZA, G. Effect of biochar on alleviation of cadmium toxicity in wheat (*Triticum aestivum* L.) grown on Cd-contaminated saline soil. **Environ. Sci. Pollut.** v.25, 25668–25680, 2017.
- ABREU, C. B; RIBEIRO, M, O; PINHO, C. S; CARNEIRO, C, N; AZEVEDO NETO, A. D; SOUZA, M. O; DIAS, F. S. Exploratory analysis in the evaluation of stress due to aluminum presence in *Physalis angulata* L. and multielement determination by microwave-induced plasma optical emission spectrometry (MIP OES). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, 5598–5608, 2021.
- ALI, J; TUZEN, M; FENG, X; KAZI, T. G. Determination of trace levels of selenium in natural water, agriculture soil and food samples by vortex assisted liquid-liquid microextraction method: Multivariate techniques. **Food Chemistry**, v. 344, 128706, 2021.
- ARAVIND, P; PRASAD, M. N. V. Zinc protects chloroplasts and associated photochemical functions in cadmium exposed *Ceratophyllum demersum* L, a freshwater macrophyte. **Plant Science**, v.166, p.1321-1327, 2004.
- AUGUSTO, A. S; BERTOLI, A. C; CANNATA, M. G; CARVALHO, R; BASTOS, A. R. R. Bioacumulação de Metais Pesados em *Brassica juncea*: Relação de Toxicidade com Elementos Essenciais. **Rev. Virtual Quim**, v. 6, 1221-1236, 2014.
- BENAVIDES, M. P; GALLEGOSM, TOMAROML. Cadmium toxicity in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 17:21-34. 2005.
- BONSUCESSO, J. S; OLIVEIRA, L. C; SANTOS, W. N. L; DIAS, F. S. preconcentration and determination of copper in tobacco leaves samples by using a minicolumn of sisal fiber (*Agave sisalana*) loaded with Alizarin fluorine blue by FAAS. **Talanta**, v. 89, 276-279, 2012.
- BORGES, K. L. R; SALVATO, F; ALCÂNTARA, B. K; NALIN, R. S; PIOTTO, F. A; AZEVEDO, R. A. Temporal dynamic responses of roots in contrasting tomato genotypes to cadmium tolerance. **Ecotoxicology**, v.27, 245–258, 2018.
- BRO, R; SMILDE, A. K. Principal component analysis, *Anal. Methods*, v.6, 2812–2831, 2014.

BRO, RASMUS. PARAFAC. Tutorial and applications, **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 38, 149-171, 1997.

CARROLL, J. D; CHANG J. J. Analysis of individual differences in multidimensional scaling via an n-way generalization of "Eckart-Young" decomposition, **Psychometrika**, v.35, 283–319, 1970.

CARVALHO, R. N. C. S; BRITO, G. B; KORN, M, G. A; TEIXEIRA, J. S. R; DIAS, F. S; DANTAS, A. F; TEIXEIRA, L. S. G. **Multi-element determination of copper, iron, nickel, manganese, lead and zinc in environmental water samples by icp oes after solid phase extraction with a c18 cartridge loaded with 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol**. *Analytical 518 methods*, v. 7, 8714 – 8719, 2015.

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

DIAS, F. S; SANTOS, W. N. L; COSTA, A. C. S; WELZ, B; VALE, M. G. R; FERREIRA, S. L. C. Application of multivariate techniques for optimization of direct method for determination of lead in naphtha and petroleum condensate by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Microchimica Acta**, v.158, 321-326, 2007.

FAITHFULL, N. T. **Methods in agricultural chemical analysis: a practical handbook**. Wallingford: CABI Publishing, 266, 2002.

FERREIRA, M. M. A. A. S; SANTOS, J.A. G; MOURA, S.C; ABREU, C.B; BOMFIM, M.R; AZEVEDO NETO, A.D. Cadmium effects on sunflower growth and mineral nutrition, **African Journal of Agricultural Research**, v.11, 3488-3496, 2016.

GALLEGO, S. M; PENA, L. B; BARCIA, R. A; AZPILICUETA, C. E; IANNONE, M. F; ROSALES, E. P; BENAVIDES, M. P. Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: insight into regulatory mechanisms. **Environ. Exp. Bot**, v. 83, 33-46, 2012.

GE, W; KONG, X; ZHAO, Y; WEI, B; ZHOU, Q; & JI, S. Insights into the metabolism of membrane lipid fatty acids associated with chilling injury in post-harvest bell peppers. **Food Chemistry**, v. 295, 26-35, 2019.

Gomes, M. P; Marques, T. C. L. L. S. M; SOARES, A. M. Cadmium effects on mineral nutrition of the Cd-hyperaccumulator *Pfaffia glomerata*. **Biologia**, v. 68, 223-230, 2013.

GRATÃO, P. L; MONTEIRO, C. C; ANTUNES, A.M; PERES, L. E. P, AZEVEDO, R. A. Acquired tolerance of tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Micro- Tom) plants to cadmium- induced stress. **Ann Appl Biol**, v. 153, 321-333, 2008.

GUSSARSON, M. Cadmium-induced alterations in nutrient composition and growth of *betula pendula* seedlings: The significance of fine roots as a primary target for cadmium toxicity. **Journal of Plant Nutrition**, v.17, 2151 – 2163, 1994.

HAWKESFORD, M; HORST, W; KICHEY, T; LAMBERS, H; SCHJOERRING, J; MOLLER, S. I; WHITE, P. Functions of macronutrients. In: Marschner, P. (ed.). **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. Elsevier, cap.6, 135-189, 2012.

HOPKINS, W. G; HÜNER, N. P. A. **Introduction to plant physiology**. Hoboken, John Wiley & Sons Inc. 4th ed. 503, 2009.

HOPKINS, WILLIAM G; HÜNER, N. P. A. **Introduction to plant physiology**. Hoboken, John Wiley & Sons Inc. 4th ed. 503 p. 009.

HUSSAIN, A; ALI, S; RIZWAN, M; REHMAN, M; YASMEEN, T; HAYAT, M. T; HUSSAN, G; ALI, Q; HUSSAIN, S. M. Morphological and Physiological Responses of Plants to Cadmium Toxicity. in *Cadmium Toxicity and Tolerance in Plants: From Physiology to Remediation*. 47-72, 2019.

Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. Comissão Técnica de Química CT05. **Orientação sobre validação de métodos analíticos: documento de caráter orientativo**: DOQCGCRE-008: revisão 04. Brasília, DF, 19 p. 2011.

IMSENG, M; WIGGENHAUSER, M; KELLER, A; MÜLLER, M; REHKÄMPER, M., MURPHY, K; KREISSIG, K; FROSSARD, E; WILCKE, W; BIGALKE, M. Fate of Cd in Agricultural Soils: A Stable Isotope Approach to Anthropogenic Impact, Soil Formation, and Soil551 Plant Cycling. **Environ. Sci. Technol**, v.52, 1919-1928. 2018.

KABATA-PENDIAS, A; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. CRC Press, Boca Raton, USA. 315 p, 1984.

KHAN, Z. I; UGULU, I; ZAFAR, A; MEHMOOD, N; BASHIR, H; AHMAD, K; SANA, M. Biomonitoring of heavy metals accumulation in wild plants growing at

soon valley, Khushab, Pakistan. **Pakistan Journal of Botany**, v. 53, 247-252, 2021.

KINAY, A. Effects of cadmium on nicotine, reducing sugars and phenolic contents of Basma tobacco variety. **Fresenius Environ. Bull**, v. 27, 9195-9202, 2018.

KÜPPER, H; KOCHIAN, L.V. Transcriptional regulation of metal transport genes and mineral nutrition during acclimatization to cadmium and zinc in the Cd/Zn hyperaccumulator, *Thlaspi caerulescens* (Ganges population). **New Phytol**, v.185, 114–129. 2010.

LI, XUHUI; QIXING, ZHOU; SUN, XIAOYIN; REN, WENJIE. Effects of cadmium on uptake and translocation of nutrient elements in different welsh onion (*Allium fistulosum* 562 L.) cultivars. **Food Chemistry**. v.194, 101-110, 2016.

LÓPEZ-MILLÁN, A; SAGARDOY, R; SOLANAS, M; ABADÍA, A; ABADÍA, J. Cadmium toxicity in tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants grown in Hydroponics. **Environmental and Experimental Botany**, v. 65, 376-385, 2009.

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

LUO, J-S; ZHANG, Z. **Mechanisms of cadmium phytoremediation and detoxification in plants**, The Crop Journal. 2021.

MALAR, S; VIKRAM, S. S; FAVAS, P. J. C; PERUMAL, V. Lead heavy metal toxicity induced changes on growth and antioxidative enzymes level in water hyacinths [*Eichhornia crassipes* (Mart.)]. **Botanical Studies**, v.55, 1-11. 2014.

MALAVOLTA, E; VITTI, G.C; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas**. 2.ed. Piracicaba: Potafos, 319, 1997.

METWALLY, A; SAFRONOVA, V. I; BELIMOV, A. A; DIETZ, K. J. Genotypic variation of the response to cadmium toxicity in *Pisum sativum* L. **J. Exp. Bot**. v.56, 167-178. 2005.

NADEEM, M; QURESHI, T. M; UGULU, I; RIAZ, M. N; AN, Q. U; DOGAN, Y. Mineral, vitamin and phenolic contents and sugar profiles of some prominent date palm (*Phoenix dactylifera*) varieties of Pakistan. **Pakistan Journal of Botany**, v.51, 171-178, 2019.

NASEER, S; LEE, Y; LAPIERRE, C; FRANKE. R; NAWRATH, C; GELDNER, N. Casparian strip diffusion barrier in *Arabidopsis* is made of a lignina polymer

without suberin. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.109, 10101-10106, 2012.

NI, Z; TANG, F; LIU, Y; SHEN, D; MO, R. Multielemental analysis of camellia oil by microwave dry ashing and inductively coupled plasma mass spectrometry. **Analytical Letters**, v. 48, 1777 – 1786, 2015.

NOGUEIROL, R. C; MONTEIRO, F. A; GRATÃO P. L; SILVA, B. K. A; AZEVEDO, R. A. Cadmium application in tomato: nutritional imbalance and oxidative stress. **Water Air Soil Poll**, v.227, 210, 2016.

ORTIZ, M. C; SARABIA, L. A; SÁNCHEZ, M. S; HERRERO, A; SANLLORENTE, S; REGUERA, C. **Data Handling in Science and Technology**, v. 29, 37-81, 2015.

PADILHA, H. K. M; PEREIRA, E. D. S; MUNHOZ, P. C; VIZZOTTO, M; VALGAS, R. A; BARBIERI, R. L. Genetic variability for synthesis of bioactive compounds in peppers (*Capsicum annuum*) from Brazil. **Food Science and Technology**, v.35, 516–523, 2015.

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

PEREIRA, C. C; SILVA, N. E; SOUZA, O. A; VIEIRA, A. M; RIBEIRO, S. A. CADORE, S; Evaluation of the bioaccessibility of minerals from blackberries, raspberries, blueberries and strawberries. **J. Food Compos**, v.68, 73–78, 2018.

PIEKUT, A; GUT, M; ÓWIELAŁG-DRABEK, M; DOMAGALSKA, J; MARCHWIŃSKA-WYRWAL, E. The relationship between children's non-nutrient exposure to cadmium, lead and zinc and the location of recreational areas - Based on the Upper Silesia region case (Poland). **Chemosphere**, v. 223, 544-550, 2019.

PILBEAM, D. J; MORLEY, P.S. Calcium. In: BARKER, A. V; PILBEAM, D. J. **Handbook of plant nutrition**. Boca Raton: CRC Press, 121-144, 2007.

PIRES, L. S. N; DIAS. F. S; TEIXEIRA, L. S. G. Assessing the internal standardization of the direct multi-element determination in beer samples through microwave-induced plasma optical emission spectrometry. **Analytica chimica acta**, v.1090, 31-38. 2019.

POPOVA, L. P; MASLENKOVA, L.T; IVANOVA, A.P; STOINOVA, Z. **Role of salicylic acid in alleviating heavy metal stress**. In: Ahmad, P; Prasad, M.N.V.

(Eds.), *Environmental Adaptations and Stress Tolerance of Plants in the Era of Climate Change*. Springer, New York, Dordrecht, Heidelberg, 441–466. 2012.

PRAVDOVA, V., WALCZAK, B., MASSART, D.L., ROBBERECHT, H., CAUWENBERGH, V. P R. HENDRIX, H. DEELSTRA, **J. Food Compos. Anal.** 14 207, 2001.

RAN, J; WANG, D; WANG, C; ZHANG, G; ZHANG, H. Heavy metal contents, distribution, and prediction in a regional soil–wheat system. *Sci. Total Environ.*, v. 544, 422–431, 2016.

ROCHAYATI, S; DU LAING, G; RINKLEBE, J; MEISSNER, R; VERLOO, M. Use of reactive phosphate rocks as fertilizer on acid upland soils in Indonesia: accumulation of cadmium and zinc in soils and shoots of maize plants. **J. Plant Nutr. Soil Sci.**, v. 174, 186 –194, 2011.

SARWAR, N; SAIFULLAH, S. S. M; MUNIR, H.Z; ASIF, N; SADIA, B; GHULAM, F. Role of mineral nutrition in minimizing cadmium accumulation by plants (Review). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, 925-937, 2010.

SEREGIN, I. V; KOZHEVNIKOVA, A. D. Roles of root and shoot tissues in transport and accumulation of cadmium, lead, nickel, and strontium. **Journal of Plant Physiology**, v. 55, 1-22, 2008.

SOUZA, A. O; PEREIRA, C. C; HELING, A. I; ORESTE, E. Q; CADORE, S; RIBEIRO, A. S; VIEIRA, M. A. Determination of total concentration and bioaccessible fraction of metals in infant cereals by MIP OES. **J. Food Compost**, v. 77, 60–65. 2019.

STANIMIROVA, I; ZEHL, K; MASSART, D; HEYDEN, V. J. O. Y. Einax, *Anal. Bioanal. Chem.* 385, 771. UGULU, I; AKHTER, P; KHAN, Z. I; AKHTAR, M; AHMAD, K. Trace metal accumulation in pepper (*capsicum annum l.*) grown using organic fertilizers and health risk assessment from consumption. **food research international**, 140, 109992, 2006.

TAIZ, L; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, P. 954. 2013.

TAO, L; GUO, M; REN, J. Effects of cadmium on seed germination, coleoptile growth, and root elongation of six pulses. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 24, 255-299. 2015.

XU, P; ZHANG, C; LU, Y; XIONG, W. Chromosomal expression of CadR on *Pseudomonas aeruginosa* for the removal of Cd (II) from aqueous solutions. **Sci. Total Environ.** v.636, 1335-1361, 2018.

YANG, R; SERRANO, M; SLATER, J; LEUNG, E; KOEFFLER, H. P. Analysis of Analysis of p16^{INK4a} and Its Interaction with CDK4. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.218, p. 254-259, 1996.

ZENG, S; MA, J; YANG, Y; ZHANG, S; LIU, G. J; CHEN, F; Spatial assessment of farmland soil pollution and its potential human health risks in China. **Sci. Total Environ**, 642–653, 2019.

ZHANG, J; GUO, C; CAI, W; SHAO, X. Direct non-trilinear decomposition for analyzing high-dimensional data with imperfect trilinearity. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v.210, 104244, 2021.

ZHI, Y; HE, K; SUN, T; ZHU, Y; ZHOU, Q. Assessment of potential soybean cadmium excluder cultivars at different concentrations of Cd in soils. **J. Environ. Sci.** v. 35, 108–114, 2015.

CAPITULO 3

Crescimento, pigmentos, e solutos orgânicos em *Capsicum chinense* sob estresse por cádmio

Autor: Marcos de Oliveira Ribeiro

Orientador: Prof. Dr. Fabio de Souza Dias

Resumo: O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do Cd no número de folha, altura, comprimento da raiz, matéria seca, pigmentos e solutos orgânico no genótipo de pimenta Boyra Habanero Vermelha "*Capsicum chinense*. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco níveis de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ (0; 0,05; 0,075; 0,1; 0,125; 0,15; mmol L^{-1}) na solução nutritiva e quatro repetições. na solução nutritiva e quatro repetições. A adção do cadmio na solução provocou redução na Alt, NF e CR, consequentemente na biomassa. Essa alteração também foi evidenciada nos pigmentos onde ocorreu redução na Cla, Clb e Car, já no solutos orgânicos essa redução foi evidenciada na prolina nas raiz e prolina nas folhas.

Palavras-chave: Clorofila, prolina, pimenta, carboidratos

Growth, pigments, and organic solutes in *Capsicum chinense* under cadmium stress

Author: Marcos de Oliveira Ribeiro

Adviser: Prof. Dr Fabio Dias

Abstract: The objective of this work was to evaluate the effect of Cd on leaf number, height, root length, dry matter, pigments and organic solutes in the Boyra Habanero Vermelha pepper genotype "*Capsicum chinense*". The experimental design used was completely randomized, with five levels of Cd(NO₃)₂ (0; 0.05; 0.075; 0.1; 0.125; 0.15; mmol L⁻¹) in the nutrient solution and four replications. in the nutrient solution and four repetitions. The addition of cadmium in the solution caused a reduction in Alt, NF and CR, consequently in biomass. This change was also evidenced in the pigments where there was a reduction in Cla, Clb and Car, whereas in organic solutes this reduction was evidenced in proline in the roots and proline in the leaves.

Keywords: Chlorophyll, proline, pepper, carbohydrates.

INTRODUÇÃO

O cultivo de pimentas é muito importante para o Brasil devido as características de rentabilidade e a importância social, já que o cultivo de pimenta é realizado por agricultores familiares que geram empregos, pois a cultura exige grande quantidade de mão de obra, em especial durante a colheita (MOREIRA *et al.*, 2006). Elas são cultivadas em todas as regiões do Brasil. Além de serem bastante consumidas in natura, as elas também abastecem a agroindústria e podem ser processadas e utilizadas em várias linhas de produtos (ARAÚJO, 2007).

A composição e a origem dos alimentos consumidos são de grande importância, visto que a alimentação se torna a principal porta de entrada para metais tóxicos no corpo humano (TAVARES, 2010). O aumento de áreas agrícolas contaminadas por metais tóxicos é uma preocupação global, uma vez que o uso de fertilizantes, herbicidas e fungicidas continuam sendo utilizados de forma inadequada na agricultura, dentre esses metais se destaca o cádmio que tem alta toxicidade para o crescimento e desenvolvimento das plantas (BENAVIDES *et al.*, 2005).

Naturalmente, o Cd é encontrado em baixas concentrações no solo, na forma de Cd²⁺ (VERBRUGGEN *et al.*, 2009; GALLEGO *et al.*, 2012) Ele se destaca entre os metais tóxicos por apresentar alto risco ambiental devido ao sua alta toxicidade e ampla distribuição. A presença do Cd nas plantas causa diversos distúrbios morfológicos, fisiológicos, bioquímicos e estruturais, como redução do crescimento, diminuir a taxa de fotossíntese e causa alterações tanto enzimáticas (NOGUEIROL *et al.*, 2016), como na captação e transporte de água e nutrientes, fotossíntese e respiração (DOURADO *et al.*, 2014; RIZWAN *et.*, 2019).

No nível bioquímico, os metais em excesso causam um efeito deletério na função da membrana e inibe as atividades enzimáticas (YUSUF *et al.*, 2010). Além disso, há evidências crescentes de que a toxicidade desse metal está associada ao estresse oxidativo (ROMERO-PUERTAS *et al.*, 2007; YAN *et al.*, 2010) como é evidenciado no aumento na concentração de radicais hidroxila, ânions superóxido, óxido nítrico e peróxido de hidrogênio (HAO *et al.*, 2006; YAN

et al., 2010). Todos estes alteram os processos fisiológicos, reduzido o rendimento e a qualidade da colheita (GAJEWSKA et al., 2006).

Na maioria dos casos, os sintomas de toxicidade deste elemento nas plantas assumem a forma de ligação do metal ao grupos de proteínas sulfidríla, criando um complexo metal-proteína que interfere na biossíntese da clorofila inibindo a atividade da enzima fotossintética no Ciclo de Calvin (GALLEGO et al., 2012), podendo causar aberrações nos cromossomos e a formação de micronúcleos (PIZZAIA, 2013), além de provocar a despolarização da membrana e acidificação do citoplasma, levando à ruptura do homeostase celular (GRATÃO et al., 2005; GALLEGO et al., 2012).

Sendo assim esse trabalho tem como objetivo verificar o efeito causado pelo Cd no crescimento, pigmentos e nos teores de solutos orgânicos das plantas de pimenta.

MATERIAL E MÉTODO

As plantas de pimenta foram produzidas em casa de vegetação localizada no Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Campus Cruz das Almas, Bahia-Brasil (12 ° 40'19 "S, 39 ° 06'23 "O, altitude 220 m).

Material vegetal, condições de crescimento e tratamentos:

As sementes do genótipo foram semeadas em copos plásticos (70 mL) contendo areia lavada e irrigada diariamente com água destilada. Decorridos 10 dias da emergência, as plântulas foram transferidas para bacias plásticas, contendo 12 L de solução nutritiva de HOAGLAND & ARNON (1950), onde permaneceram por oito dias, para efeito de aclimatação. Após este período foram iniciados os tratamentos com cinco concentrações de Cd (0; 0,05; 0,075; 0,1; 0,125; 0,15) $\mu\text{mol L}^{-1}$, fornecidos na forma de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$. As plantas permaneceram nestas condições por um período de 21 dias. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições. Os níveis das soluções foram completados diariamente com água destilada e o pH foi ajustado para $4,0 \pm 0,2$, sendo monitorado diariamente e corrigido com HCl ou NaOH quando necessário. Após esse período, as plantas foram separadas em folhas, caules e raízes e amostras de folhas foram coletadas para as análises dos teores de pigmentos (clorofila *a*, clorofila *b* e carotenóides). A extração dos pigmentos foi realizada em etanol a 95% e a determinação dos teores das clorofilas *a* (Cl*a*) e *b* (Cl*b*) e dos carotenóides (Car) foi realizada por espectrofotometria a 470, 649 e 664 nm, respectivamente, conforme metodologia descrita por LICHTENTHALER & BUSCHMANN (2001). Amostras de folhas e raízes coletadas para as análises de solutos orgânicos, foram imediatamente congeladas, liofilizadas, trituradas e armazenadas em geladeira, para análises posteriores. Os extratos utilizados nas análises bioquímicas foram preparados macerando-se, em almofariz 1,0 g de tecidos liofilizado de folhas e raízes em 5 mL de tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,0, contendo EDTA 0,1 mM. O homogeneizado foi filtrado em tecido de musselina e centrifugado a $12000 \times g$ por 15 min. O sobrenadante foi armazenado em ultra freezer (-80 °C) e utilizado nas determinações dos solutos orgânicos.

O teor de carboidratos solúveis foi determinado por espectrofotometria a 490 nm pelo método do fenol-ácido sulfúrico, utilizando-se a D-(+)-glucose como padrão (DUBOIS et al., 1956). A prolina livre foi determinada por espectrofotometria a 520 nm, utilizando-se a ninhidrina como reagente específico e a prolina pura como padrão (Bates et al., 1973). Os aminoácidos livres totais foram determinados por espectrofotometria a 570 nm pelo método da ninhidrina, utilizando-se a L-leucina pura como padrão (Yemm e Cocking, 1955). As proteínas solúveis foram determinadas por espectrofotometria a 595 nm pelo método de ligação ao corante, utilizando-se a albumina de soro bovino pura como padrão (BRADFORD, 1976).

Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos às análises de variância e de regressão utilizando o programa SISVAR (FERREIRA, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As características de crescimento e desenvolvimento das plantas são importantes indicadores de áreas contaminadas (ZENG et al., 2018). A adição do Cd na solução nutritiva proporcionou uma redução significativa em todas as variáveis relacionadas ao crescimento e desenvolvimento da pimenta.

Essa redução foi mais evidenciada na dose mais alta $0,2\mu\text{mol L}^{-1}$ que teve uma redução de 29,8%, o número de folha (NF) 64,44% e o comprimento da raiz (CR) 40,4%. Também, foram observados sintomas visíveis de toxidez, como a redução das raízes secundarias e o encurtamento da raiz principal nos tratamentos com maiores cocentrções de Cd (GAUTAM et al., 2016).

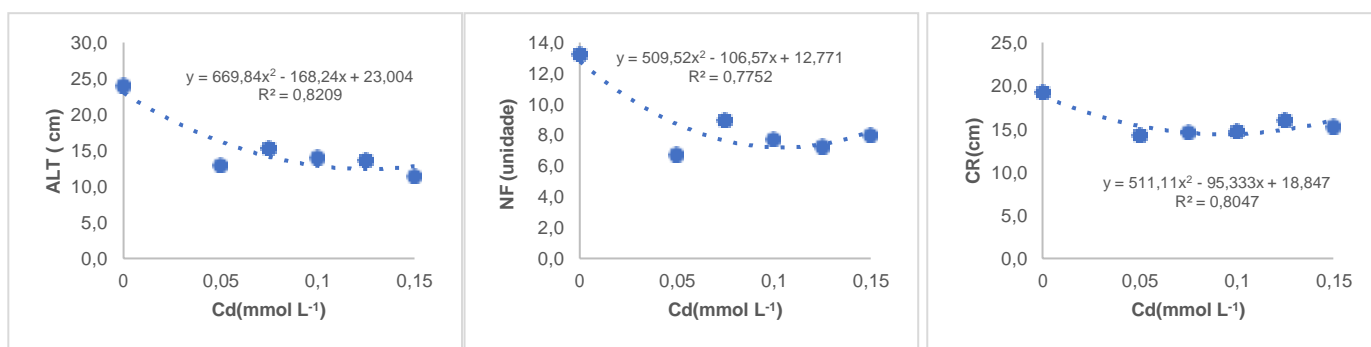


Figura 1. Altura de planta (ALT), Número de folha (NF), Comprimento da raiz (CR), das plantas de pimenta do genótipo G3 (Boyra Habanero Vermelha) cultivadas por 21 dias em casa de vegetação, expostas a níveis de cádmio na solução nutritiva.

Esses sintomas são reflexos da concentração e distribuição desse elemento e a interação junto ao complexo de troca nas raízes das plantas de pimenta. O efeito toxico causado pelo Cd no crescimento de raízes pode ser decorrência a redução da mitose, danos no aparelho de Golgi, a síntese reduzida de componentes de parede celular e alterações no metabolismo de polissacarídeo. Em espécies como o milho (PÁL et al., 2006), a presença do Cd não parou a divisão celular, mas inibiu o alongamento das células (VASSILEV & YORDANOV 1997; LUX et al., 2010). Estudos têm evidenciado que a absorção de Cd pode gerar efeitos fisiológicos, bioquímicos, e estruturais, levando as plantas a apresentarem sintomas visuais como redução do sistema radicular, modificações nas atividades enzimáticas e na fotossíntese (GAUTAM et al., 2011) Segundo CHAVES & SOUZA (2014), a maior dose de Cd provocou uma

diminuição significativa na altura das plantas, diâmetro caulinar, número de folhas e área foliar de 31, 37, 31 e 37%, respectivamente, em relação à testemunha.

A produção de biomassa tem sido considerada a mais importante dentre as variáveis no que diz respeito ao efeito dos contaminantes sobre o crescimento das plantas (SOUZA et al., 2011), sendo considerado um importante parâmetro para seleção de plantas tolerantes a metais (BATISTA, 2013).

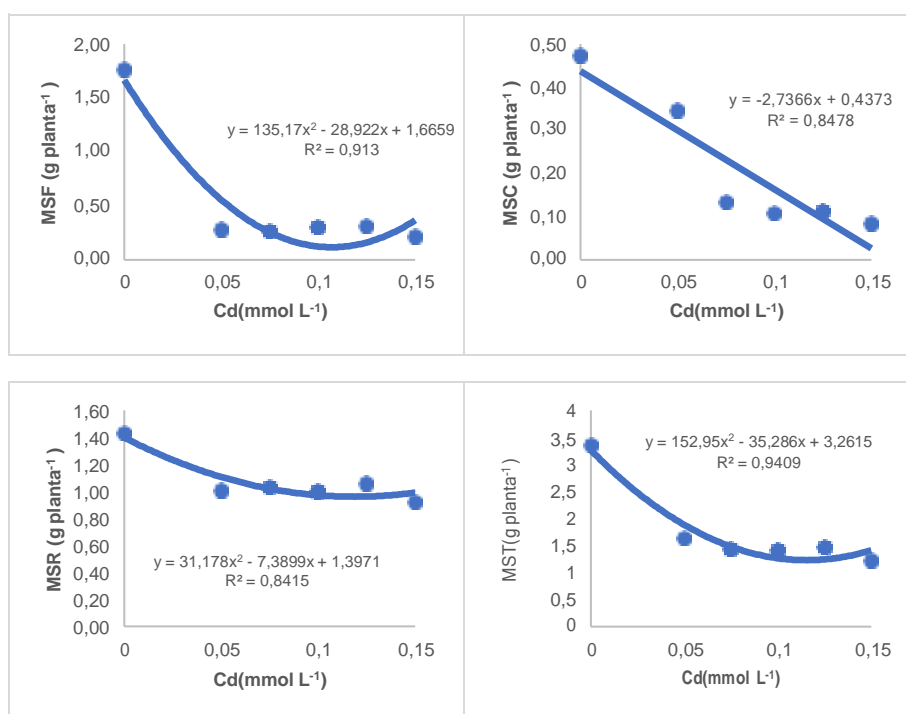


Figura 2. Massa seca da raiz (MSR), Massa seca do caule (MSC), Massa seca da folha (MSF), Massa seca Total (MST), das plantas de pimenta do genótipo (Boyra Habanero Vermelha) cultivadas por 21 dias em casa de vegetação, expostas a níveis de cádmio na solução nutritiva.

A adição do Cd na solução nutritiva provocou a redução em todas as variáveis relacionada a biomassa da planta, sendo mais evidenciada na dose mais alta 0,2 μmol L⁻¹, onde a MSF foi variável que apresentou maior redução (1302,19%), seguida da MSC que teve uma redução de 125,2% e da MSR que obteve uma redução de 45,65% e conseqüentemente uma redução na MST de 166%. Essa redução que ocorreu devido a produção de biomassa está diretamente relacionada a fotossíntese realizada pela planta. Sendo assim, a redução da produção de biomassa da planta ocorreu em parte devido a

redução da área foliar e a clorose as quais reduziram a atividade fotossintética da planta. Resultados semelhantes foram encontrados por SILVA, (2010) que apesar das plantas apresentarem sintomas de amarelecimento nas doses de Cd superiores a 16 mg de Cd kg⁻¹ de substrato, o efeito fitotóxico desse metal foi observado na massa seca da parte aérea, já nas doses menores, encontrando uma maior sensibilidade na parte aérea, mostrando redução significativa já a partir da dose de 8 mg de Cd kg⁻¹ de substrato. Já a massa seca de raízes apresentou comportamento diferente. Ela aumentou de forma quadrática com o incremento da dose de Cd no substrato até à dose de 8 mg de Cd kg⁻¹ de substrato, havendo acentuada redução nesse parâmetro com aplicação de doses mais altas (16 e 32 mg de Cd kg⁻¹ de substrato).

De acordo com (PARMAR; KUMARI; SHARMA, 2013), o Cd reduzir a atividade fotoquímica, pois a sua fitotoxicidade desnatura as estruturas de algumas proteínas dos fotossistemas e as atividades de enzimas do ciclo de Calvin, além de afetar a substituição de um metal de sua estrutura por Cd, ou ligação de Cd a grupos sulfidríla, levando a um dobramento incorreto ou interferindo com redox-enzimático regulamentação (HOSEINI; ZARGARI, 2013), sendo assim, a presença do Cd na solução nutritiva provocou a redução dos pigmentos *Cl_a*, *Cl_b* e *Car* (figura 3), sendo essa redução mais evidenciada na 0,1 μmol L⁻¹, que obteve na *Cl_b* uma redução de 271,15%, seguida dos *Car* que apresentou uma redução de 156,80% e *Cl_a* que teve uma redução de 90,8%. Esse fato ocorreu visto que o estresse por metal, converte a *Cl_a* em *Cl_b* pela oxidação do grupo metil do anel II no aldeído, diminuindo a proporção de clorofila a / b (SANITÀ DI TOPPI ET al., 2005). A exposição das plantas ao Cd causa declínio na taxa fotossintética que pode ser proporcionada pelas alterações na ultraestrutura dos cloroplastos devido a ação de radicais livres, inibição ou degradação na síntese dos pigmentos cloroplastídicos, a diminuição na taxa de transporte de elétrons ou inibição da atividade das enzimas do ciclo de Calvin (GALLEGO et al., 2012). Como principal pigmento responsável pela captação da energia luminosa, a clorofila é frequentemente utilizada como um indicador do efeito dos estresses ambientais em plantas (TAIZ & ZEIGER, 2013).

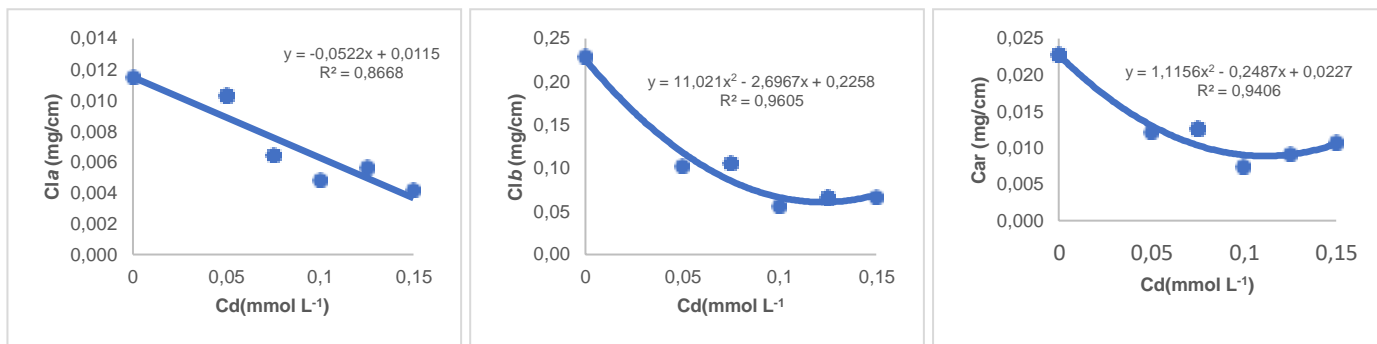


Figura 3. Clorofila *a* (Cla), Clorofila *b* (Cib), Carotenoides (Car) das plantas de pimenta do genótipo (Boyra Habanero Vermelha) cultivadas por 21 dias em casa de vegetação, expostas a níveis de cádmio na solução nutritiva.

Esses resultados estão de acordo com o ação negativa que o Cd provoca na fotossíntese das folhas de *Platycladus orientalis* (ZENG et al., 2018). Geralmente, O Cd vai inibir de forma direta ou indireta a síntese de clorofila pois ele reduz a quantidades de genes relacionados à fotossíntese, interagindo com enzimas que requerem sulfidril, como porfobilinogênio desaminase e protoclorofilida redutase, que estão relacionados a síntese de clorofila; e interromper o transporte de elétron entre PSII e PSI, a distribuição de energia de PSII e a assimilação CO₂ (GALLEGO et al., 2012; ZENG et al., 2018). Resultados semelhantes foram encontrados por BORA et al., (2020) que constatou redução significativa na biomassa, no comprimento da raiz, na altura da planta e na clorofila de *Ceratopteris pteridoides* quando expostos a água contendo 20 µM de Cd.

Os solutos orgânicos são compostos solúveis, de peso molecular baixo e que não apresentam toxicidade quando estão em elevadas concentrações no interior das células, (ASHRAF & FOOLAD, 2007). A exposição das plantas a níveis tóxicos de metais desencadeia uma gama de alterações fisiológicas e metabólicas, exemplo disso, é o desencadeamento da liberação de proteínas de tilacóides (HOSSAIN et al., 2012) e formação de peptídios ricos em grupos tiólicos, como Fitoquelatinas e Metalotioneínas (SANTOS et al., 2011), sintetizadas a partir de mecanismos para restringir o excesso de metais pesados. A síntese de solutos orgânicos, como carboidratos, por exemplo, restabelece o equilíbrio osmótico celular, devido ao excesso de sais no meio externo (MUNNS et al., 2002). O estresse provocado pelo cd na solução nutritiva proporcionou alterações em todos os solutos estudados.

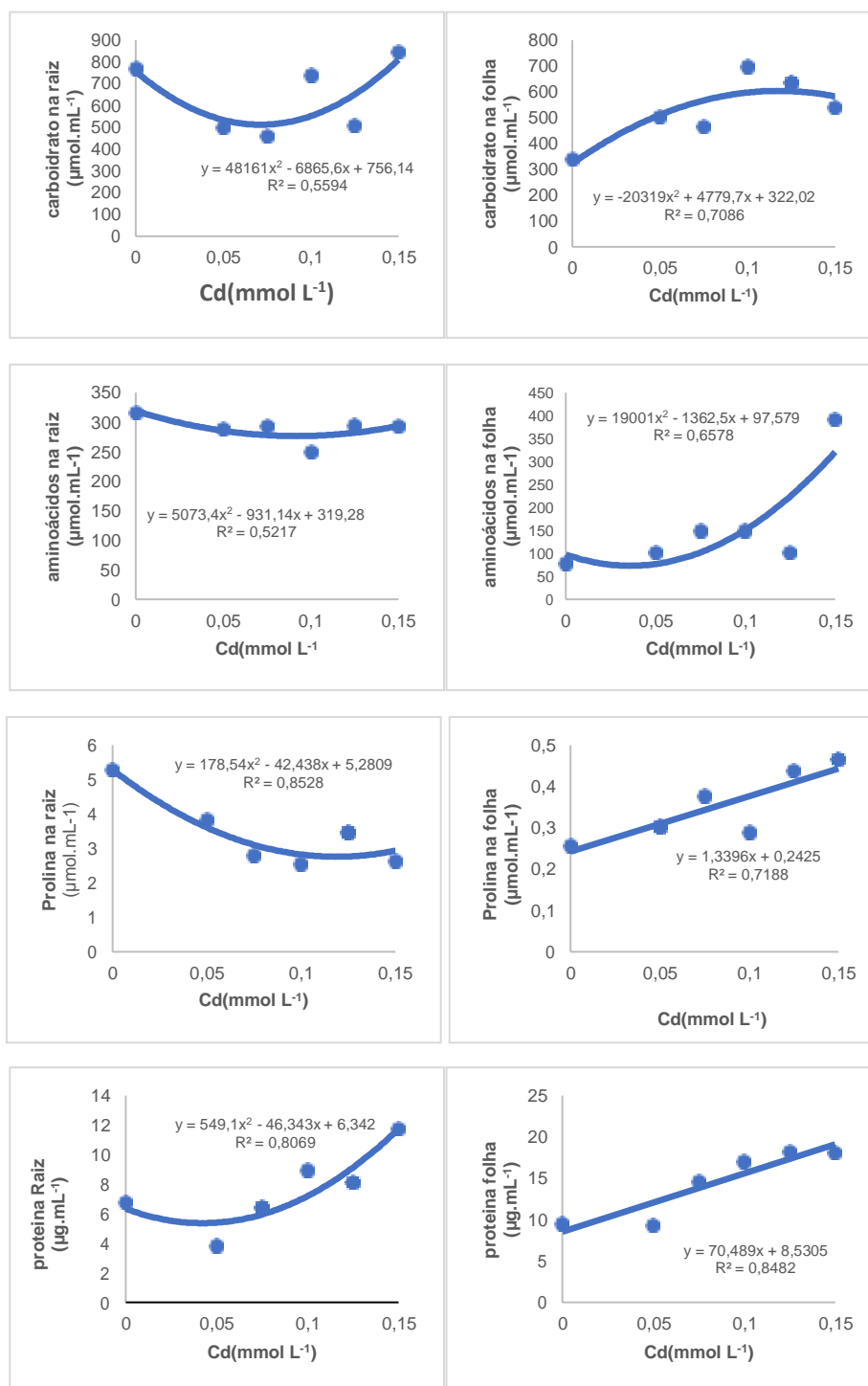


Figura 3, carboidrato, aminoácidos, prolina e proteína das plantas de pimenta do genótipo (Boyra Habanero Vermelha) cultivadas por 21 dias em casa de vegetação, expostas a níveis de cádmio na solução nutritiva.

No teor de carboidrato, essa alteração foi mais evidenciada na folha, apresentando um aumento de 46% na concentração $0,1\mu\text{mol L}^{-1}$ (figura 3), o que corresponde a um valor máximo ($697,6\pm 198,68\text{ mg}^{-1}\text{g}$) (figura 4), já nas raízes

não foi evidenciado resultados significativos. Nos aminoácidos não foram valores significativos.

Na prolina e na proteína foram constatados os maiores valores nas folhas na concentração $0,2\mu\text{mol L}^{-1}$, que apresentou aumento de 91,40% e 166% (figura 3) apresentando assim um valor máximo de $(0,5 \pm 0,05 \text{ mg}^{-1}\text{g})$ e $(20,8 \pm 9,06 \text{ mg}^{-1}\text{g})$ (figura 4), Na raiz esse aumento só foi evidenciado na proteína que foi de 273% o que corresponde a um valor máximo de $(10,3 \pm 1,11 \text{ mg}^{-1}\text{g})$, já a prolina na raiz teve uma redução 110%, resultados que pode está relacionado devido a raiz esta em maior contato com o contaminante.

Tabela 1: Concentração de Aminoácidos, Carboidrato, Proteína e Prolina encontrados nas folhas e raízes de pimenta do genótipo (Boyra Habanero Vermelha) cultivadas por 21 dias em casa de vegetação, expostas a níveis de cádmio na solução nutritiva.

Amostr as	Doses Cd (mmol L ⁻¹)	Aminoácido(μm ol.ml ⁻¹)	Carboidrato(μmol.m l ⁻¹)	Proteína (μmol.ml ⁻¹)	Prolina(μmol.m l ⁻¹)
E1F	0,00	80,2±7,78	339,0±194,71	9,1±0,41	0,3±0,05
E2F	0,05	104,6±8,30	483,8±42,13	10,8±7,21	0,3±0,05
E3F	0,075	154,8±13,80	498,0±57,77	15,8±3,49	0,4±0,04
E4F	0,1	149,6±10,41	697,6±198,68	16,9±11,47	0,3±0,06
E5F	0,125	102,6±1,41	635,9±66,95	18,2±2,95	0,4±0,18
E6F	0,15	418,4±48,68	581,2±122,50	20,8±9,06	0,5±0,05
E1R	0,00	316,8±6,15	768,5±118,76	6,8±2,39	5,3±0,16
E2R	0,05	279,5±40,98	521,3±61,62	3,4±1,31	3,3±0,83
E3R	0,075	293,0±49,18	458,4±123,57	6,4±0,52	2,8±1,36
E4R	0,1	230,6±6,65	737,6±119,05	9,5±1,26	2,3±0,75
E5R	0,125	294,4±95,88	505,1±34,26	8,1±0,33	3,5±0,16
E6R	0,15	305,6±16,31	845,3±106,93	10,3±1,11	3,0±1,83

"E1= Tratamento 1 (0,00 mmol L⁻¹); E2= Tratamento 2 (0,05 mmol L⁻¹); E3= Tratamento 3 (0,075 mmol L⁻¹); E4= Tratamento 4 (0,1 mmol L⁻¹); E5= Tratamento 5 (0,125 mmol L⁻¹); E6= Tratamento 6 (0,15 mmol L⁻¹).

Como um osmólito, a prolina tem um importante papel sob estresse hídrico, também seu acúmulo pode aumentar sob estresse de metais, podendo servir como um metal quelante, coletor de elétrons, bem como um antioxidante (MONGKHONSIN et al., 2019). prolina tem sido citada na literatura como uma molécula multifuncional que tem um papel captador de radicais e osmoprotetor (KAVIKISHOR & SREENIVASULU, 2013). Que tende melhorar o crescimento da planta e alterar a atividade enzimáticas.

CONCLUSÃO

A adição do Cd na solução nutritiva reduziu a Alt, NF, CR e biomassa, assim como nos pigmentos (Cla, Clb e Car).

Os solutos orgânicos apresentaram redução na prolina nas raízes e aumento nas proteínas e prolina na folhas.

AGRADECIMENTOS

À CAPES e UFRB pela concessão de bolsa e apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, E. N; OLIVEIRA, A. P; CAVALCANTE, L. L. F; PEREIRA, W. E; BRITO, N. M; NEVES, C M. DE L; SILVA, É. É. Produção de pimentão adubado com esterco bovino e biofertilizantes. **Rev. Bras. De Engenharia Agrícola e Ambiental**. Campina Grande, v.11, 466-470, 2007.
- ASHRAF, M; FOOLAD, M.C. R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. **Environmental and Experimental Botany**, v.59, 206-216, 2007.
- BORA, M. S; GOGOI, N; SARMA, K. P. Tolerance mechanism of cadmium in *Ceratopteris pteridoides*: Translocation and subcellular distribution. **Ecotoxicol. Environ. Safe**, v.197, 110599, 2020
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, 248-254, 1976.
- CHAVES, L. H. G; SOUZA, R. S. Crescimento, distribuição e acumulação de cádmio em plantas de *Jatropha curcas*, **Rev. de Ciências Agrárias** [online]., v.37, 286 -291, 2014.
- DOURADO, M. N; SOUZA, L. A; MARTINS, P. F; PETERS, L. P; PIOTTO, F. A; AZEVEDO, R. A. *Burkholderia* sp. SCMS54 triggers a global stress defense in tomato enhancing cadmium tolerance. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 225, 1–16, 2014.
- FERREIRA, D.F. **SISVAR 4.6 sistema de análises estatísticas**. Lavras: UFLA, 2011.
- GAJEWSKA, E; SKLODOWSKA M; SLABA, M; MAZUR, J. Effect of nickel on antioxidative enzyme activities, proline and chlorophyll contents in wheat shoots, **Biologia Plantarum**, v. 50, 653–659, 2006.
- GALLEGO, S. M; PENA, L. B; BARCIA, R. A; AZPILICUETA, C.E; LANNONE, M.F; ROSALES, E.P.; ZAWOZNIK, M.S; GROPPA, M.D. BENAVIDES, M.P; Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: insight into regulatory mechanisms. **Environ Exp Bot** v. 83, 33–46, 2012.
- GAUTAM, S; ANJANI, K; SRIVASTAVA, N. In vitro evaluation of excess copper affecting seedlings and their biochemical characteristics in *Carthamus tinctorius*

L. (variety PBNS-12). **Physiology and Molecular Biology of Plants** v. 22, 121–129, 2016.

GRATÃO, P. L; PRASAD, M. N. V; CARDOSO, P. F; LEA, P. J; AZEVEDO, R. A. Phytoremediation: green technology for the clean up of toxic metals in the environment. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 17, 53–64. (2005).

HAO, F; WANG, X; CHEN, J Involvement of plasma-membrane NADPH oxidase in nickel-induced oxidative stress in roots of wheat seedlings. **Plant Science**. v.170, 151-158, 2006.

HOAGLAND, D. R; ARNON, D. I. The water-cultured method for growing plants without soil. **California Agricultural Experiment Station bull**, v.347, p.1-32, 1950.

HOSEINI, S. M; ZARGARI, F. Cadmium in Plants: A Review. *International Journal of Farming and Allied Sciences*, Peshawar, v. 2, 579-581, 2013.

KAVIKISHOR, P. B; SREENIVASULU N. O acúmulo de prolina per se está correlacionado com a tolerância ao estresse ou a homeostase da prolina é uma questão mais crítica? **Plant Cell Environ**. v.37, 300–311, 2013.

LICHTENTHALER, H. K; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, 4.3.1-4.3.8, 2001.

LUX, A; MARTINKA, M; VACULÍK, M; WHITE, P.J. Root responses to cadmium in the rhizosphere: **a review. J. Exp. Bot**, v.62 1-17, 2010.

MONGKHONSIN, B; NAKBANPOTE, W; HOKURA, A; NUENGCHAMNON, N; MANEECHAI, S. Phenolic compounds responding to zinc and/or cadmium treatments in *Gynura pseudochina* (L.) DC. Extracts and biomass. – **Plant Physiol. Biochem**, v.109, 549-560, 2016.

MONGKHONSIN, B; NAKBANPOTE, W; MEESUNGNOEN, O; NARASIMHA, M; PRASAD, V. Adaptive and Tolerance Mechanisms in Herbaceous Plants Exposed to Cadmium. In: Hasanuzzaman, M; Narasimha, M; Prasad, V; Fujita, Ma. Cadmium Toxicity and Tolerance in Plants. **Academic Press**, 73-109. 2019,

MOREIRA, G. R; CALIMAN, F. R. B; SILVA, D. J. H; RIBEIRO, C. C, Espécies e variedades de pimenta. **Informe Agropecuário**, v. 27, 16-29, 2006.

MUNNS. R; HUSAIN, S; RIVELLI, A. R. Avenidas para aumentar a tolerância das safras ao sal e o papel das características de seleção com base fisiológica, **Plant and Soil** v. 247, 93–105, 2002.

NOGUEIROL, R. C; MONTEIRO, F.A; GRATÃO, P.L; BORGIO, L; AZEVEDO, R. A, Tropical soils with high aluminum concentrations cause oxidative stress in two tomato genotypes. **Environ Monit Assess**, v. 187, 73, 2015.

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

PARMAR, P; KUMARI, M; SHARMA, V. Structural and functional alterations in photosynthetic apparatus of plants under cadmium stress. **Botanical Studies**, v. 54, 45- 50, 2013.

PIZZAIA, D. **Genotoxicidade do cádmio em tomateiro (Solanum lycopersicum L.)**. Resource document. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Ph.D. Thesis (in Portuguese) (2013).

Rizwan, M; Ali, S; Rehman, M. Z; Maqbool, A. A critical review on the effects of zinc at toxic levels of cadmium in plants. **Environ. Sci. Pollut. Res.** v. 26, 6279–6289, 2019.

ROMERO-PUERTAS, M. C; CORPAS, F. J; RODRÍGUEZ-SERRANO, M; GÓMEZ, M; DEL RÍO L, A; SANDALIO, L. M. Expressão diferencial e regulação de enzimas antioxidantes por cádmio em plantas de ervilha. **J. Plant Physiol**, v.164,1346-1357, 2007.

ROMERO-PUERTAS, M.C; CORPAS, F.J; RODRIGUEZ-SERRANO, M; GOMEZ, M; DEL RÍO, L.A; SANDALIO, L. M. Differential expression and regulation of antioxidative enzymes by Cd in pea plants. **Journal of Plant Physiology**, v.164, 1346-1357, 2007.

SANITA DI TOPPI, L; MARABOTTINIB, A, R; VATTUONEA, Z; MUSET, R. Cell wall immobilisation and antioxidant status of Xanthoria parietina thalli exposed to cádmium, **Functional Plant Biology**, v. 32, 611–618, 2005.

SILVA, A, A. **Identificação De Espécies Hiperacumuladoras E Prospecção De Genes Relacionados À Tolerância De Plantas A Cádmio**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul Faculdade de Agronomia. 2010.

SOUZA, L. A; ANDRADE, S. A. L; SOUZA, C. R. S; SCHIAVINATO, M. A. Tolerância e potencial fitorremediador de Stizolobium aterrimum associada ao fungo micorrízico arbuscular Glomus etunicatum em solo contaminado por chumbo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, 1441-1451, 2011.

TAIZ, L; ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. 5. ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 954 p. 2013.

TAVARES, A. D. **Determinação de cádmio e chumbo em alimentos e bebidas industrializados por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica**. Tese de doutorado, Universidade federal da paraíba centro de ciências exatas e da natureza. 2010.

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

VERBRUGGEN, N; HERMANS, C; SCHAT, H. Mechanisms to cope with arsenic or cadmium excess in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v.12, 364–372. 2009.

YAN, Z. Z; KE, L; TAM, N.F.Y. Lead stress in seedlings of *Avicennia marina*, a common mangrove species in South China, with and without cotyledons. **Aquatic Botany**. v.92, 112-118, 2010.

YEMM, E. W; COCKING, E. C. The determination of amino-acids with ninhydrin. **Analytical Chemistry**, v. 80, 209-213, 1955.

YUSUF, M. FARIDUDDIN, Q; HAYAT, S; HASAN, S.A; AHMAD, A. Protective responses of 28 homobrassinolide in cultivars of *Triticum aestivum* with different levels of nickel. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v.60, 68-76, 2010.

ZENG, P; GUO, Z; XIAO, X; CAO, X; PENG, C. Response to cadmium and phytostabilization potential of *Platycladus orientalis* in contaminated soil. **Int. J. Phytoremediation**, v. 20, 1337–1345. 2018.