



Universidade Federal Rural de Pernambuco

Unidade Acadêmica de Serra Talhada



Curso de Ciências Biológicas

Lisandra Celeste da Silva Pádua

Avaliação da germinação e do crescimento inicial de plântulas de *Lactuca sativa* L. expostas ao cloreto de alumínio em microambiente

Serra Talhada – PE
2019

Lisandra Celeste da Silva Pádua

Avaliação da germinação e do crescimento inicial de plântulas de *Lactuca sativa* L. expostas ao cloreto de alumínio em microambiente

Monografia apresentada ao Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, da Unidade Acadêmica de Serra Talhada, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito obrigatório à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Rogério de Aquino Saraiva.

Serra Talhada - PE
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- P125a Pádua, Lisandra Celeste da Silva
Avaliação da germinação e do crescimento inicial de plântulas de *Lactuca sativa* L. expostas ao cloreto de alumínio em microambiente / Lisandra Celeste da Silva Pádua. - 2019.
45 f. : il.
- Orientador: Rogério de Aquino Saraiva.
Inclui referências.
- Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Bacharelado em Ciências Biológicas, Serra Talhada, 2019.
1. Fitotoxicidade. 2. Alumínio. 3. Alface. I. Saraiva, Rogério de Aquino, orient. II. Título

CDD 574

Lisandra Celeste da Silva Pádua

Avaliação da germinação e do crescimento inicial de plântulas de *Lactuca sativa L.* expostas ao cloreto de alumínio em microambiente

Monografia apresentada ao Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, da Unidade Acadêmica de Serra Talhada, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito obrigatório à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas, obtendo a nota

Aprovada em ____/____/____

Banca examinadora

Orientador: Prof. Dr. Rogério de Aquino Saraiva
UFRPE/UAST

Prof. Dr. Diego de Souza Buarque
UFRPE/UAST

Prof. Dr. Airton Torres Carvalho
UFRPE/UAST

*Dedico este trabalho aos meus
pais, Maria Jacileide e Cláudio
e a minha filha, Catarina.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me conceder o dom da vida e por não me deixar desistir de lutar pelos meus sonhos!

A Universidade Federal Rural de Pernambuco/Unidade Acadêmica de Serra talhada, pela oportunidade de vivencia acadêmica e aos programas PAD, PIBIC e Monitoria, pela concessão das bolsas as quais foram de fundamental importância para minha permanência na graduação.

Aos professores do Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas por todo o conhecimento e experiências compartilhadas.

Agradeço a meu orientador, Rogério de Aquino Saraiva, pelos ensinamentos, compreensão e por despertar o meu gosto pela bioquímica. Obrigada pela dedicação e incentivo, para concretizar esta pesquisa, que passou por tantos obstáculos.

Aos meus familiares, em especial aos meus pais e minha irmã, por sempre me apoiarem e fazerem de tudo para que eu continuasse a concretizar meu sonho. Aos meus tios e primos que de certa forma também contribuíram para minha formação. E a meu marido, pelo apoio e incentivo durante essa jornada.

Aos meus amigos do Grupo de Estudos em Bioquímica e Ecotoxicologia molecular (GEBETox), pelas contribuições e trocas de experiências, especialmente Janaina, Patrícia e Yuri, pelo auxilio na realização desta pesquisa.

Aos amigos da graduação pelo companheirismo e pelos momentos descontraídos que tornaram a jornada mais leve (Cinara, Joana, Jeff, Erika, Lyzandra, Victoria, Maiara, Rani, Joyce e Palloma). Em especial as minhas amigas Cinara, Patrícia e Victória, pelo incentivo a continuar na graduação, mesmo depois de me tornar mãe.

A todos que contribuíram para realização desse sonho.

Muito obrigada!

Pádua, Lisandra Celeste da Silva. Avaliação da germinação e do crescimento inicial de plântulas de *Lactuca sativa* L. expostas ao cloreto de alumínio em microambiente. 2019, 45 p. Trabalho de conclusão de curso. (Monografia) - Unidade acadêmica de Serra Talhada, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Serra Talhada, 2019.

RESUMO

O alumínio quando em baixas concentrações no solo pode promover o crescimento ou até mesmo outros benefícios às plantas. Porem, em solos ácidos ($\text{pH}<5$) este metal pode causar efeitos fitotóxicos para as plantas, tornando-se um dos fatores limitantes ao seu crescimento. O presente estudo teve como objetivo avaliar a fitotoxicidade do cloreto de alumínio (AlCl_3) sobre a germinação e desenvolvimento inicial de *Lactuca sativa* L. Para isso preparou-se soluções aquosa de AlCl_3 nas concentrações de 0 mg.L^{-1} , 5 mg.L^{-1} , 10 mg.L^{-1} , 50 mg.L^{-1} e 100 mg.L^{-1} . Seguido da aplicação de 3 mL de cada solução em placas de Petri contendo 25 sementes de alface cada, germinadas em câmara B.O.D (Biochemical Oxigen Demand) com duração de sete dias. Os parâmetros utilizados para avaliação da fitotoxicidade do Al foram: comprimento da radícula, hipocótilo e total, diâmetro radicular, NSG/dia, IVG, vigor, IT teores de clorofilas e carotenoides e parâmetros físico-químicos. Constatando-se os efeitos fitotóxicos do alumínio demonstrados pela redução no tamanho da radícula, do hipocótilo, do comprimento total e aumento do diâmetro radicular das plântulas que receberam os tratamentos com o alumínio, as plântulas que receberam o tratamento com a concentração mais alta demonstraram ser menos tolerantes ao alumínio, no entanto a germinação, o IVG, vigor e os teores de clorofilas e carotenoides não foram afetados negativamente pelo alumínio. Com isso conclui-se que o alumínio apesar de ter causado danos nas raízes não foi suficiente para inibir o desenvolvimento inicial das plântulas de alface.

Palavras-Chave: fitotoxicidade, alumínio, alface.

Pádua, Lisandra Celeste da Silva. Avaliação da germinação e do crescimento inicial de plântulas de *Lactuca sativa* L. expostas ao cloreto de alumínio em microambiente. 2019, 45 p. Trabalho de conclusão de curso. (Monografia) - Unidade acadêmica de Serra Talhada, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Serra Talhada, 2019.

ABSTRACT

Aluminum when in low soil concentrations can promote growth or even other benefits to plants. However, in acidic soils ($\text{pH} < 5$) this metal can cause phytotoxic effects on plants, becoming one of the limiting factors for their growth. The present study aimed to evaluate the phytotoxicity of aluminum chloride (AlCl_3) on the germination and initial development of *Lactuca sativa* L. For this purpose, aqueous solutions of AlCl_3 were prepared at concentrations of 0 mg.L^{-1} , 5 mg.L^{-1} , 10 mg.L^{-1} , 50 mg.L^{-1} and 100 mg.L^{-1} . Followed by the application of 3 mL of each solution in Petri dishes containing 25 lettuce seeds each, germinated in a B.O.D (Biochemical Oxigen Demand) chamber lasting seven days. The parameters used to evaluate Al phytotoxicity were: root length, hypocotyl and total, root diameter, NSG / day, IVG, vigor, IT chlorophyll and carotenoid contents and physicochemical parameters. Considering the phytotoxic effects of aluminum demonstrated by the reduction in root size, hypocotyl, total length and increase of root diameter of the seedlings that received the aluminum treatments, the seedlings that received the treatment with the highest concentration showed to be less tolerant to aluminum, however germination, IVG, vigor and chlorophyll and carotenoid contents were not negatively affected by aluminum. Thus it can be concluded that aluminum, despite causing root damage, was not sufficient to inhibit the initial development of lettuce seedlings.

Keywords: phytotoxicity, aluminum, lettuce.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Minério gibbsita e rocha bauxita.....	16
Figura 2: Alumina.....	19
Figura 3: Esquema do Processo Bayer.....	20
Figura 4: Processo de eletrolise do alumínio (Processo Hall-Héroult).....	21
Figura 5: Respostas integradas das plantas aos efeitos adversos do estresse por alumínio....	22
Figura 6: M \pm EPM do comportamento na germinação de sementes de <i>L. sativa</i> quando expostas a diferentes concentrações de AlCl ₃ durante sete dias.....	31
Figura 7: M \pm EPM do comprimento da radícula (A), hipocótilo (B), diâmetro da radícula (C) e comprimento total (D), das plântulas de <i>L. sativa</i> quando expostas a diferentes concentrações de AlCl ₃	33
Figura 8: Plântulas de <i>L. sativa</i> ao fim do sétimo dia de germinação na presença de diferentes concentrações de AlCl ₃ evidenciando sua influencia sobre os parâmetros comprimento do hipocótilo, radícula, diâmetro radicular e comprimento total. Tratamento 0 mg.L-1(A), 5 mg.L-1 (B), 10 mg.L-1 (C), 50 mg.L-1 (D) e 100 mg.L-1 (E).....	34
Figura 9: M \pm EPM teores de clorofilas a, b e totais e carotenoides em plântulas de <i>L. sativa</i> L. submetidas a diferentes concentrações de AlCl ₃	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Parametros avaliados na germinação e desenvolvimento das plântulas de <i>L. sativa</i> L. sob influência de diferentes concentrações de AlCl ₃ após sete dias.....	34
Tabela 2: Características físico-químicas da solução de AlCl ₃	35

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AlCl₃- Cloreto de alumínio

BOD- Biochemical Oxygen Demand

°C- Celsius

cm- centímetros

CE- Comprimento esperado

CO- Comprimento observado

Ct- Comprimento total

IT- Índice de tolerância

IVG- Índice de velocidade de germinação

mg- miligramma

NaOH- Hidróxido de sódio

NSG- Número de sementes germinadas

pH- Potencial hidrogênionico

µg- Micrograma

Ψ_s- Potencial osmótico

CH- Comprimento do Hipocótilo

DR- Diâmetro da radícula

CR- Comprimento Radícula

mg.L⁻¹ - Miligramas por Litro

dS/m- decisiemens por metro

MPa- Mega Pascal

UV- Ultra Violeta

mL- Mililitro

SUMÁRIO

RESUMO.....	vi
ABSTRACT	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	x
1. INTRODUÇÃO	13
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
2.1 FITOTOXICIDADE.....	15
2.2 ALUMÍNIO: GENERALIDADES, ASPECTOS MINERALÓGICOS E IMPORTÂNCIA ECONÔMICA.	15
2.3 ASPECTOS FITOTÓXICOS E IMPORTÂNCIA DO ALUMÍNIO PARA A PLANTA	20
2.4 <i>Lactuca sativa</i> L. (ALFACE) COMO MODELO PARA ESTUDOS DE FITOTOXICIDADE.....	24
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	25
3.1 AQUISIÇÃO DAS SEMENTES DE <i>Lactuca sativa</i> L (ALFACE).	25
3.2 PREPARO E DILUIÇÃO DA SOLUÇÃO AQUOSA DE CLORETO DE ALUMÍNIO (AlCl_3).....	25
3.3 ENSAIO DE GERMINAÇÃO DE <i>Lactuca sativa</i> L. NA PRESENÇA DE AlCl_3 (Aq).	26
3.4 PARÂMETROS AVALIADOS	26
3.4.1 Número de sementes germinadas (NSG/dia)	26
3.4.2 Comprimento das plântulas	26
3.4.3 Vigor	27
3.4.4 Índice de Tolerância ao AlCl_3	27
3.4.5 Parâmetros físico-químicos	27

3.4.6 Teor de clorofilas e carotenoides	28
3.4.7 Análise Estatística.....	29
4. RESULTADOS	30
4.1 NÚMERO DE SEMENTES GERMINADAS (NSG/DIA)	30
4.3 VIGOR E ÍNDICE DE TOLERÂNCIA (IT)	32
4.4 POTENCIAL OSMÓTICO (Ψ_s).....	33
4.5 TEORES DE CLOROFILAS E CAROTENOIDES	34
5. DISCUSSÃO	36
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	39
7. REFERENCIAS	40

1. INTRODUÇÃO

Anualmente são descartados no ambiente cerca de 2,5 bilhões de toneladas de substâncias químicas tóxicas, provenientes de atividades humanas, sejam elas legais ou acidentais. Esses contaminantes podem ser orgânicos, inorgânicos ou gasosos, alguns são biodegradáveis, de lenta degradação ou não degradáveis (MALAJOVICH, 2004). Dentre os contaminantes os metais pesados se destacam, pois são mais tóxicos e persistem por mais tempo no ambiente (GABOS, 2009; BRANDÃO, 2016).

Os metais ocorrem naturalmente no solo, sendo alguns nutrientes essenciais para diversos processos fisiológicos dos seres vivos (ROUT et al., 2001; BIONDI, 2016), mas atividades antrópicas tais como: indústrias de extração de minérios, exaustão de partículas de gases de motores, centrais de produção de energia, agricultura intensiva, esgoto e resíduos municipais, entre outras, geram um aumento da concentração de metais no solo, vindo a torná-los tóxicos aos seres vivos, seja ele essencial ou não (ALVARENGA et al., 1998). Os principais contaminantes denominados como metais pesados são: alumínio, antimônio, arsênio, cádmio, chumbo, cobre, cobalto, cromo, ferro, manganês, mercúrio, molibdênio, níquel, selênio e zinco (TSUTIYA, 2001).

O alumínio (Al) é o metal mais abundante da crosta terrestre, correspondendo aproximadamente a 7,5% de seu peso (ECHART; CAVALLI-MOLINA, 2001) e está presente na maioria dos minerais primários e secundários (PITRO et al., 1996). Em condições ácidas, a solubilidade do alumínio aumenta e este se torna tóxico para espécies terrestres e aquáticas, tornando-se um dos fatores limitantes ao crescimento das plantas quando em solos ácidos (YANG et al., 2001; KABATA-PENDIAS, 2011).

A toxicidade do Al vem sendo uma preocupação para a produção agrícola em solos ácidos, pois representam 50% das terras potencialmente aráveis no mundo (SILVA; MATOS, 2016). Cerca de 60% das regiões com solos ácidos apresentam problemas de contaminação por Al e localizam-se em países em desenvolvimento na América do Sul, África Central e Sudeste Asiático, onde a produção de alimentos é crítica (SANTOS et al., 2014).

Portanto, melhorar o entendimento quanto aos efeitos fitotóxicos do Al em plantas é essencial para que se possa, além de compreender os mecanismos fisiológicos e moleculares dessa toxicidade sobre a homeostase desses organismos, também contribuir com informações

essenciais para orientar ações de prevenção à contaminação ambiental por este metal bem como nortear boas práticas agrícolas, contribuindo com a qualidade desses alimentos. Neste contexto o presente estudo objetivou avaliar a influência do AlCl₃ na germinação e desenvolvimento inicial de *L. sativa* L. (alface), evidenciando sua possível fitotoxicidade.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Fitotoxicidade

A fitotoxicidade é a capacidade de substâncias específicas em causar danos, duradouros ou temporários em plantas, como o atraso na germinação das sementes, inibição do crescimento ou qualquer outro efeito adverso (BARRAL; PARADELO, 2011), bem como injurias ocasionadas por insetos, como a remoção dos tecidos vegetais por meio da alimentação de besouros, lagartas e gafanhotos, por exemplo. Outro tipo é a fitotoxemia (reação das plantas a um tipo de toxina química introduzida pela alimentação de insetos picador-sugadores da ordem *Hemiptera*), por exemplo, pulgões, cigarrinhas e psilídeos (PURCELL, 2009).

Os sintomas causados pela fitotoxicidade podem ser visíveis ou não e podem afetar a planta toda ou parte dela (raízes, brotos, folhas, flores ou frutos) (BLACKMAN, 1952; PAZ et al., 2018). Os principais sintomas são: modificação no ciclo de desenvolvimento (atraso ou inibição na emergência ou no crescimento da planta), desbaste (perda da planta inteira ou partes dela), necrose, modificação na cor (amarelamento, escurecimento ou vermelhidão) e deformações (ondulações, rolagem, nanismo etc.) (BLACKMAN; BRUCE; HOLLY, 1958; PAZ et al. 2018). O efeito da toxicidade irá depender da toxina e da planta em questão (BLACKMAN, 1952).

Os parâmetros mais usuais para avaliação da fitotoxicidade são: a taxa de germinação da semente e o alongamento radicular, porque são as primeiras estruturas das plantas a terem contato com o estressor (BARRAL; PARADELO, 2011).

2.2 Alumínio: Generalidades, Aspectos Mineralógicos e Importância Econômica.

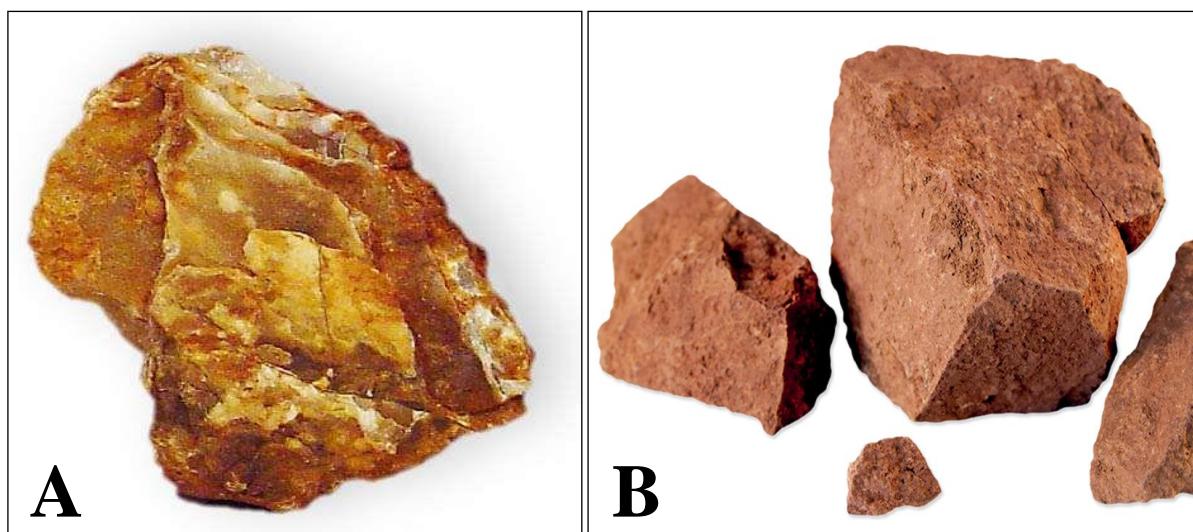
A existência do alumínio foi proposta inicialmente por Lavoisier em 1789 e posteriormente foi nomeado pelo cientista inglês Humphry Davy em 1808 sendo isolado pela

primeira vez em 1825 pelo físico Hans Christian (VITORELLO et al., 2005; DAS; YIN, 2007). O alumínio é um elemento não magnético, corrosivo, não inflamável, e não tóxico a pH neutro no solo (SINGH et al., 2017).

O alumínio é o terceiro elemento mais abundante da crosta terrestre, em primeiro está o oxigênio e em segundo o silício (DELHAIZE; RYAN, 1995; KABATA-PENDIAS, 2011; SANTOS et al., 2014), é membro do grupo boro (bloco P) e pertence ao grupo XIII da tabela periódica, com número atômico 13 e configuração eletrônica de estado fundamental $[Ne] 3s^2, 3p^1$. É um metal branco-prateado, leve e macio (PANDA et al., 2009; SINGH et al., 2017).

É o principal componente dos minerais argilosos principalmente todos os silicatos. As formas de Al encontradas naturalmente são estáveis e em sua grande maioria encontram-se incorporadas aos minerais, principalmente na forma de aluminossilicatos ou precipitados como gibbsita (Figura 1A), apenas uma pequena quantidade fica disponível para que os organismos realizem seus processos biológicos (DELHAIZE; RYAN, 1995; RIBEIRO et al., 2011; SILVA, 2012; GUPTA et al., 2013; IMADI et al., 2016; SINGH et al., 2017).

Figura 1: Minério de gibbsita e rocha bauxita.



Fontes: Encyclopaedia Britannica (A). Centro Cultural do Alumínio (CCAl) (B).

A fração mineral do solo pode ser definida como sendo aluminossilicato metálico, sendo os solos das regiões tropicais os que apresentam maior proporção de alumínio expresso como Al_2O_3 em relação aos solos das regiões temperadas (MALAVOLTA, 2006). Os minerais compostos apenas por alumínio são: boemita (γ -Al OOH), diáspero (α -Al OOH), corindo (Al_2O_3) e gibbsita (γ -Al (OH)₃) sendo este último o principal componente das rochas

de bauxita (Figura B), já os minerais que hospedam o alumínio são: feldspatos, micas e todos os silicatos (KABATA-PENDIAS, 2011).

No entanto a acidificação dos solos ($\text{pH} < 5$) inicia a solubilização do Al liberando suas formas tóxicas tornando-as disponíveis para a solução do solo e consequentemente para as plantas, essa biodisponibilidade está restrita a ambientes ácidos. Em tais condições os minerais argilosos, os aluminossilicatos e os hidróxidos de alumínio se dissolvem e liberam os cátions alumino-hidroxi, formando as espécies mononucleares Al(OH)^{2+} , Al(OH)^{3+} , $\text{Al(H}_2\text{O)}^{3+}$, Al^{3+} e Al_{13} (espécie raramente encontrada), sendo essas duas últimas formas consideradas as mais tóxicas. O Al e o manganês (Mn) são frequentemente associados à baixa fertilidade dos solos ácidos, pois causam deficiência dos nutrientes como fósforo (P), cálcio (Ca), magnésio (Mg) o molibdênio (Mo) (MALAVOLTA, 2006; PANDA et al, 2009; RIBEIRO et al, 2011; KABATA – PENDIAS, 2011; SILVA, 2012; GUPTA et al, 2013; SANTOS et al, 2014).

O íon Al^{3+} é o de ocorrência mais frequente, possuindo afinidade com ligantes portadores de oxigênio e em solos ácidos tem a mobilidade aumentada competindo ativamente com outros cátions para locais de troca. É anfotérico, reage com ácidos e álcalis fortes e exibe alta afinidade por íons carregados negativamente e grupos iônicos, como fluoreto (F^-) e o grupo hidroxila (OH^-) respectivamente. Outros grupos que possuem alta afinidade com o Al^{3+} para formação de ligações complexas são: carboxil, carbonil e fosfato (VITORELLO et al, 2005; KABATA-PENDIAS, 2011; IMADI et al, 2016).

O alumínio é extraído das rochas bauxitas, depósitos dessas rochas são geralmente encontrados nas regiões tropicais e subtropicais, a bauxita geralmente é extraída a partir de estratos, entre 4 e 6 metros de espessura sob cobertura rasa e solo superficial. O refinamento da bauxita em alumina (figura 2) é feito através do processo Bayer (Figura 3), este é o meio mais econômico para obtenção da alumina, tal processo foi descoberto por Karl Josef Bayer em 1888 (HIND et al. 1999; DAS; YIN, 2007).

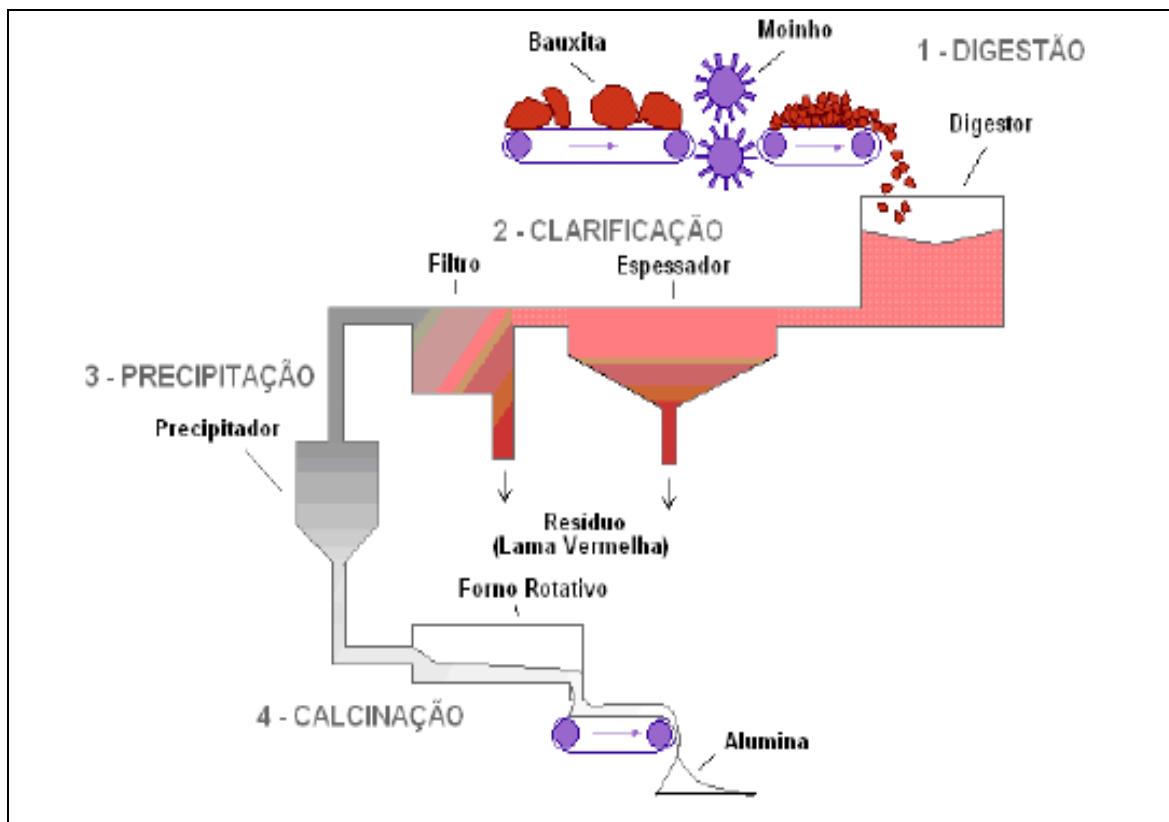
Figura 2: Alumina.



Fonte: Al Circle

O processo de Bayer consiste de quatro etapas, na etapa um a bauxita é moída e em seguida acontece a digestão propriamente dita com uma solução cáustica de hidróxido de sódio (NaOH) a temperatura (entre 200 e 240 °C) e pressão (em torno de 30 atm) constantes. Na clarificação (etapa dois), ocorre à separação entre as fases sólida (resíduo insolúvel) e líquida (licor) as técnicas empregadas nessa fase são: espessamento, onde acontece a decantação dos resíduos provenientes da digestão, o objetivo dessa fase é adensar o resíduo aumentando o teor de sólidos para recuperar a maior quantidade de NaOH possível, e filtragem. Nesta fase é comum a adição de polímeros (como hidroxamatos e poliacrilamida) para indução da flocação das partículas. A precipitação (etapa três) se dá quando há o esfriamento do licor verde para que haja a adição de uma pequena quantidade de cristais de alumina (semeadura) para estimulo da precipitação, a alumina cristalizada é encaminhada para a calcinação (etapa quatro) nesta etapa a alumina é lavada e seca para remoção de resíduos do licor verde, depois ela vai ser calcinada a 1000 °C para desidratar os cristais e formar os cristais puros, de aspecto arenoso e branco (HIND et al, 1999; WAO, 2003; ABAL, 2005, IOM3, 2005; SILVA-FILHO et al, 2007).

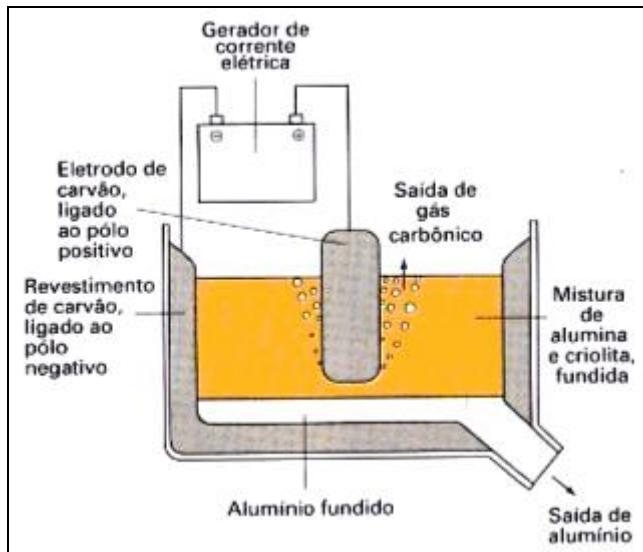
Figura 3: Esquema do Processo Bayer.



Fonte: Silva-Filho et al, 2007.

Para obtenção de alumínio fundido a alumina passa por outro processo, denominado de Hall-Héroult (Figura 4), criado simultaneamente pelos cientistas Paul Louis Toussaint Héroult (Paris-França) e Charlis Martin Hall (Ohio) em 1886. Tal processo consiste em dissolver a alumina em um banho eletrolítico de criolita fundida, dentro de um recipiente de aço revestido de carbono ou grafite (célula eletrolítica). Uma corrente elétrica passa através do eletrólito em baixa tensão, porém com correntes altas (180.000 amperes). A corrente flui do ânodo (positivo) feito de coque de petróleo e piche e um cátodo (negativo) feito de carbono ou grafite que reveste o recipiente, o espaço entre o ânodo e cátodo é preenchido pela criolita e por outros sais de fluoreto estáveis. A mistura é aquecida até aproximadamente 965 °C, temperatura que derrete a alumina, para ser adicionada a alumina refinada, que se dissolve no eletrólito fundido, o alumínio deposita-se no fundo do recipiente (DAS; YIN, 2007).

Figura 4: Processo de eletrolise do alumínio (Processo Hall-Héroult).



Fonte: Canto, 1996.

Por causa de suas propriedades versáteis o alumínio é utilizado em diversos setores industriais, como: metalúrgica, embalagem, transporte construção, produção elétrica e química. Seus compostos são utilizados na fabricação de papel, purificação de água, refinação de açúcar, curtimento de couro, preservação de madeira, impermeabilização têxteis, inibidor de corrosão, acelerador de cimento entre outros (DAS; YIN, 2007; KABATA-PENDIAS, 2011). Movimentando a economia global e a economia individual de muitos países.

O Brasil ocupa a decima primeira posição como país produtor de alumínio primário. Está em quarta posição como produtor de bauxita e terceira como produtor de alumina. Em 2017 a indústria Brasileira de alumínio empregou mais de quatrocentos e quatorze mil pessoas e teve um faturamento de R\$ 65,4 bilhões. Produziram 802 mil toneladas de alumínio primário, 38.465,2 toneladas de bauxita e 11.014,4 toneladas de alumina. Neste mesmo ano a participação do Al nas exportações Brasileiras foi de 1,8%. Em 2016 a relação entre a sucata recuperada e o consumo doméstico de Al foi de 51,6% deixando o Brasil na segunda posição, em primeiro ficou o Reino Unido com 27,1%, já para o índice de reciclagem de latas no ano de 2017 o Brasil ficou em primeiro lugar com 97,3% deixando para trás o Japão (92,5%), Média Europa (73,6%) e Estados Unidos (63,9%) (ABAL, 2019).

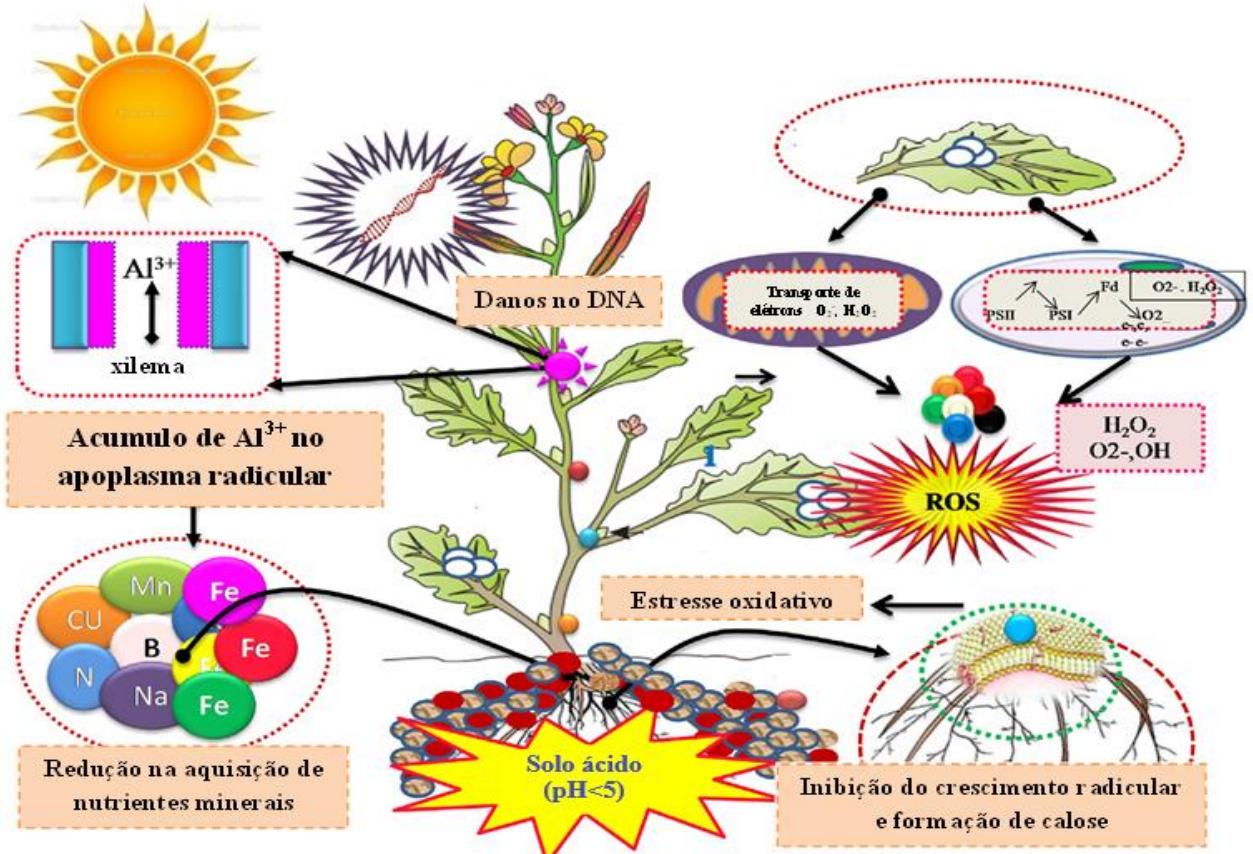
2.3 Aspectos Fitotóxicos e Importância do Alumínio para a Planta

Apesar de não ser considerado um nutriente essencial às plantas, o alumínio quando em baixas concentrações é considerado benéfico ou estimulante, às vezes pode promover o seu crescimento ou outros efeitos desejáveis (ROUT et al., 2001; MALAVOLTA, 2006). No entanto quando há o aumento da concentração de Al no solo, ele se torna um fator limitante para o crescimento das plantas (MALAVOLTA, 2006).

Nas plantas a região mais facilmente afetada pela fitotoxicidade do alumínio é a radicular, pois ele inibe o seu crescimento e alongamento, resultando em raízes atrofiadas e quebradiças, com ápices inchados e danificados. Essas lesões levam a má captação de água e nutrientes. Nas raízes as regiões mais sensíveis ao alumínio são: o ápice, o meristema radicular e a zona de alongamento, tais regiões acumulam o alumínio com muita facilidade. Por tanto este é um dos parâmetros mais aceitos para avaliação do estresse causado pelo alumínio. A fitotoxicidade do alumínio também reduz a altura e o rendimento de peso fresco e seco das plantas, sendo esses efeitos uma condição posterior aos danos radiculares (OLIVEIRA E MALAVOLTA, 1981; DELHAIZE; RYAN, 1995; ECHART; MOLINA, 2001; ROUT et al, 2001; PANDA et al, 2009; SILVA, 2012; SANTOS et al, 2014).

Quando dentro da célula existem muitos locais para o Al se ligar, por exemplo: a parede celular, a superfície da membrana plasmática, o citoesqueleto e o núcleo, estes são alguns dos alvos das lesões do Al. Ocasionando respostas das plantas estressadas pelo metal (Figura 5) (PANDA et al, 2009; SILVA, 2012; SANTOS et al, 2014; SINGH et al, 2017).

Figura 5: Respostas integradas das plantas aos efeitos adversos do estresse por alumínio.



Fonte: Adaptado de SINGH et al., 2017.

O alumínio liga-se fortemente a parede celular das células corticais e epidérmicas da raiz, dependendo das cargas negativas ali presentes, determinando assim a capacidade de troca catiônica (CTC) da raiz. Acumula-se rapidamente no apoplasmato da parede celular do ápice radicular e no simplasma da membrana plasmática afetando os processos de crescimento radicular (PANDA et al, 2009; GUPTA, et al, 2013; SANTOS et al, 2014; IMADI et al, 2016).

Os fosfolipídeos das membranas representam alvos sensíveis à toxicidade do alumínio, pois a interação lipídica com o Al causa a peroxidação dos fosfolipídeos principalmente os da membrana interna, resultando no aumento dos radicais livres de oxigênio reativos altamente tóxicos. O alumínio pode ainda causar mudanças no potencial da membrana e causar a sua despolarização (GUO et al, 2004; HOSSAIN et al, 2005; PANDA et al, 2013; IMADI et al 2016.)

Sendo o cálcio citoplasmático um regulador importante de muitos processos no crescimento e metabolismo celular a interferência do alumínio na absorção desse nutriente, causa a interrupção na homeostase citoplasmática do Ca^{2+} , que pode estar direta ou indiretamente envolvida na inibição da divisão celular ou alongamento radicular (FOY et al, 1978; BARCELÓ et al, 1996; JONES et al, 1998; PANDA et al, 2009).

A fitotoxicidade do alumínio interrompe a estruturação do citoesqueleto através da alteração na estabilidade, organização e polimerização dos microtubulos e microfilamentos de actina e miosina, causando danos aos processos de diferenciação e divisão celular (LI et al, 2008; MALEKZADEH et al, 2015).

O alumínio também induz a diminuição do teor de clorofila e da taxa fotossintética, causando impactos indiretos na fotossíntese, pois as estruturas dos cloroplastos podem sofrer distúrbios por causa da redução do transporte de elétrons no fotossistema II (PSII). Ele inibe o efluxo de H^+ , diminuindo as atividades dos íons K^+ , Mg^+ , e ATPases da membrana plasmática, aumentando as bombas de H^+ dependentes de ATP e PPi da membrana tonoplástica (YANG et al, 2005; PANDA et al, 2009; SANTOS et al, 2014).

No núcleo o alumínio liga-se ao DNA ou a cromatina, causando a condensação das moléculas de DNA, prejudicando a replicação e inibindo a divisão celular induzindo aberrações cromossômicas. O alumínio pode ainda reprimir a atividade mitocondrial, causando a inibição da respiração celular depleção de ATP e produção de espécies reativas de oxigênio, atuando como catalizador na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO's), induzindo os danos oxidativo das plantas (MATSUMOTO, 1998; PANDA et al, 2013; DAI et al, 2014).

Contudo muitas espécies de plantas se adaptaram e desenvolveram sistemas de tolerância ao alumínio. Tais plantas são divididas em três grupos: 1) O teor de alumínio nas folhas das plantas tolerante é igual ou não difere significativamente do da planta suscetível, porém suas raízes apresentam teores menores; 2) Apresentam baixo teor do elemento na parte aérea e alto teor nas raízes e 3) Tem maior concentração de alumínio na parte aérea e menor nas raízes (FOY et al 1978; MIGUEL et al, 2010).

Existem dois tipos de mecanismos de tolerância ao alumínio: (1) mecanismo de exclusão, onde o alumínio é impedido de chegar ao sítios de toxicidade nas plantas, por meio da liberação de ácidos orgânicos pelas raízes, como, malato, citrato e oxalato que realizam a quelação do alumínio, impedindo que o mesmo seja absorvido evitando-se a sua interação

com os componentes celulares ou sua penetração no simplasto. Outro forma é (2) o aumento do pH na rizosfera que reduz a solubilidade e assimilação do Al (ABICHEQUER et al, 2003; MARIANO et al, 2005; RAMPIM; LANA, 2013).

O outro mecanismo é conhecido como mecanismo interno ou de reparo, neutraliza o alumínio através da ação de enzimas ou isola-o no interior do vacúolo, impedindo sua ação fitotóxica. Além destes ainda existem outros tipos de mecanismos que consistem no armazenamento de Al nas folhas em formas não tóxicas (BARCELÓ et al, 1996; RAMPIM; LANA, 2013).

2.4 *Lactuca sativa* L. (Alface) como modelo para estudos de fitotoxicidade

A alface é amplamente utilizada como modelo para estudos fitotoxicos, pois possui germinação e crescimento rápidos, germina em até 72 horas, e são muito sensíveis a vários aleloquímicos (FERREIRA; AQUILA, 2000), não requerem tratamentos especiais antes da semeadura como, por exemplo, quebra de dormência, e geralmente apresentam taxas de germinação consistentes e confiáveis (PALLET et al, 2007; WHITE et al, 2008; BOLUDA et al, 2011). Segundo Liu et al (2014) o alface como bioindicador para contaminação de metais é uma espécie chave, pois pode hiperacumular metais como Zn e Cd. Esses metais acumulados pelo alface podem causar danos a saúde humana, tais como doenças neurodegenerativas, através da cadeia alimentar (GARETE et al, 1993).

Além de ser a hortaliça folhosa mais consumida no Brasil, ocupa o primeiro lugar no ranking das mais consumidas, a alface é fonte de sais minerais principalmente vitamina A e cálcio (SALA; COSTA, 2005). Tem seu centro de origem nas regiões da Ásia ocidental e sul da Europa, é uma planta herbácea de caule pequeno e folhas grandes que crescem em roseta ao redor do caule, estas podem variar sua cor entre verde e roxo sendo lisas ou crespas, dependendo de qual seja podem ou não formar cabeça, seu sistema radicular é amplo e superficial chegando a atingir 25 cm de profundidade, é anual e de climas temperados (FILGUEIRA, 2003), mas consegue desenvolver-se em temperaturas entre 20 e 30 °C, sendo a luz um fator limitante para a germinação (MENEZES et. al., 2000), recomenda-se um fotoperíodo de 12 horas (SIMÕES et. al., 2013).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido na Universidade Federal Rural de Pernambuco-Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UFRPE-UAST), no laboratório de pesquisa Grupo de Instrumentação em Análises Química (GIAQ) e nos laboratórios do programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal.

3.1 Aquisição das Sementes de *Lactuca sativa* L. (Alface).

As sementes de alface foram adquiridas comercialmente na cidade de Serra Talhada PE, da empresa FELTRIN sementes[®] cultivar Mônica SF 31 (2016). As mesmas passaram por processo de desinfecção superficial visando evitar o crescimento de fungos. Este procedimento consiste na imersão das sementes em solução de hipoclorito de sódio a 5% durante cinco minutos, seguido de enxague com água destilada autoclavada.

3.2 Preparo e Diluição da Solução Aquosa de Cloreto de Alumínio (AlCl_3)

Para o preparo da solução estoque de cloreto de alumínio pesou-se em uma balança analítica 3 mg de AlCl_3 , em seguida foi diluído em 30 mL de água destilada autoclavada (ADA), com concentração final de 100 mg.L^{-1} . Para obtenção das concentrações desejadas a solução passou pelo processo de diluição seriada, demonstrado a seguir:

- 100 mg.L^{-1} : 15 mL da solução estoque (SE)
- 50 mg.L^{-1} : 15 mL da SE + 15 mL de ADA
- 10 mg.L^{-1} : 3 mL da solução [50] + 12 mL de ADA
- 5 mg.L^{-1} : 2 mL da solução [50] + 18 mL de ADA
- 0 mg.L^{-1} : 15 mL de ADA

3.3 Ensaio de Germinação de *Lactuca sativa* L. na Presença de AlCl₃ (Aq).

Os materiais foram previamente esterilizados, pelo método de calor úmido utilizando-se autoclave vertical (modelo CS 75) à 121° C por 15 minutos e pelo método de calor seco, realizado em estufa de circulação forçada de ar à 60° C até que estivessem totalmente secos. O material foi organizado em capela de fluxo laminado, previamente esterilizada com álcool a 70%, seguido de exposição à luz UV durante cinco minutos. Local onde ocorreu a semeadura para evitarem-se possíveis contaminações. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e quatro repetições cada.

O cultivo foi realizado em placas de Petri com 9 cm de diâmetro contendo papel filtro, cada placa recebeu 25 sementes de *L. sativa* e 3 mL da solução de AlCl₃ nas concentrações mencionadas no tópico 3.2. As placas foram isoladas com plástico filme e colocadas em câmara B.O.D (modelo MA-1402/546), com fotoperíodo controlado de 12 horas e temperatura de 25° ± 2° C, durante sete dias. A germinação foi monitorada e computada diariamente.

3.4 Parâmetros Avaliados

3.4.1 Número de sementes germinadas (NSG/dia) e Índice de velocidade de Germinação (IVG).

A toxicidade do alumínio foi avaliada de acordo com a capacidade de inibir ou retardar a germinação das plântulas de *L. sativa*, sendo consideradas sementes germinadas aquelas cuja radícula apresentava comprimento ≥ 1 mm estabelecendo-se a relação entre o número de sementes germinadas por dia observado (0 a 7).

3.4.2 Comprimento das plântulas

Ao fim do experimento no sétimo dia, foram selecionados aleatoriamente seis indivíduos de cada tratamento para realização da morfometria, onde foi mensurado o comprimento total da plântula, da radícula, hipocótilo e diâmetro radicular com auxilio do software Image- Pro Plus[®] (versão 4.5.0.29).

3.4.3 Vigor

O vigor das plântulas foi determinado de acordo com o proposto por Abdul-Baki e Anderson (1973) pela seguinte fórmula:

$$\text{Vigor} = \text{Ct} \times \text{ng}$$

Onde, **Ct** = comprimento total e **ng** = número de sementes germinadas.

3.4.4 Índice de Tolerância ao AlCl₃

O índice de tolerância ao AlCl₃ foi calculado a partir dos comprimentos radiculares das plântulas de *L. sativa*, por meio da fórmula a seguir proposta por Cox e Hutchinson (1979):

$$IT = 1 + \log \frac{\text{Ce}}{\text{Co}}$$

Onde, **Ce** = Comprimento esperado (grupo [Al] = 0 mg/L) e **Co** = Comprimento observado (grupos com os tratamentos), **IT** = Índice de tolerância

3.4.5 Parâmetros físico-químicos

Para avaliação desse parâmetro inicialmente determinou-se o pH e a Condutividade Elétrica (CE) da solução aquosa de AlCl₃, por meio de pHmetro e condutivímetro respectivamente. A partir dos valores obtidos da CE, dados em $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ que em seguida foram transformados para $\text{dS} \cdot \text{m}^{-1}$, foi calculada a pressão osmótica (Π) da solução, de acordo com a fórmula proposta por Ayres & Westcot (1999) com adaptações para expressar os resultados em megapascal (MPa):

$$\Psi_s = -0,36 \times (CE/1000) \times 0,01$$

3.4.6 Teor de clorofitas e carotenoides

Para determinar os níveis dos pigmentos fotossintéticos foram alocadas 20 plântulas, escolhidas aleatoriamente de cada tratamento, em tubos de ensaio previamente limpos, identificados e envolvidos com papel alumínio, em seguida adicionou-se 4 mL de acetona 80% (VETEC, Brasil) em cada um dos tubos. Os tubos foram acondicionados em refrigerador durante sete dias.

Ao fim dos sete dias de extração, foram-se retiradas alíquotas de cada um dos extratos obtidos, a fim de se realizar as leituras em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 470, 663,2 e 646,8 nm. Em seguida calcularam-se as concentrações de clorofitas e carotenoides (expressos em $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de plântula) utilizando-se as fórmulas a seguir de acordo com Lichtenthaler (1987):

$$\text{Chl}_a = 12,25A_{663,2} - 2,79A_{646,8}$$

$$\text{Chl}_b = 21,50A_{646,8} - 5,10A_{663,2}$$

$$\text{Chl}_{(a+b)} = 7,15A_{663,2} + 18,71A_{646,8}$$

$$\text{Car} = 1000A_{470} - 1,82\text{Chl}_a - 85,02\text{Chl}_b/198$$

Onde, **Chl_a** = Clorofila a; **Chl_b** = Clorofila b; **Chl_(a+b)** = Clorofitas totais e **Car** = Carotenoides (xantofitas + carotenos).

3.4.7 Análise Estatística

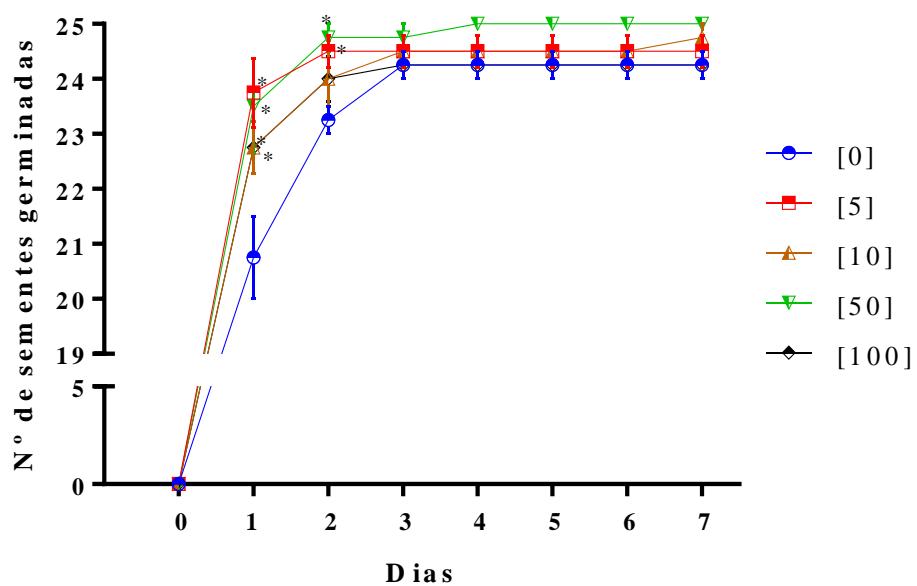
Os dados foram analisados e expressos em média \pm erro padrão da média (E.P.M.). Todos os dados de morfometria foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de duas vias seguido do teste de Tukey e os teores de clorofilas e carotenoides foram submetidos ao teste *t* de Student para amostras não-pareadas com correção de Welch. As análises foram executadas com auxílio do software GraphPad Prism[®] (versão 6.01). A diferença entre as médias foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1 Número de Sementes Germinadas (NSG/Dia).

De acordo com os dados de NSG/dia verificou-se que o alumínio não interferiu na germinação das sementes, pois todos os tratamentos obtiveram sementes emergidas no primeiro dia após a semeadura. No entanto no primeiro dia, o número de sementes germinadas dos tratamentos foi superior ao do controle, apresentando diferença significativa ($p < 0,0001$) com aumentos de 14,46%, 9,64%, 13,25%, e 9,64% para os tratamentos de 5, 10, 50 e 100 mg.L⁻¹ respectivamente. Para o segundo dia apenas os tratamentos de 5 e 50 mg.L⁻¹ apresentaram diferença significativa com aumentos de 5,38% e 6,45% respectivamente. Ao terceiro dia o número de sementes germinadas para todos os tratamentos foi igual e assim permaneceu até o sétimo dia (Figura 6).

Figura 6: Comportamento na germinação de sementes de *L. sativa* quando expostas a diferentes concentrações de AlCl₃ durante sete dias.

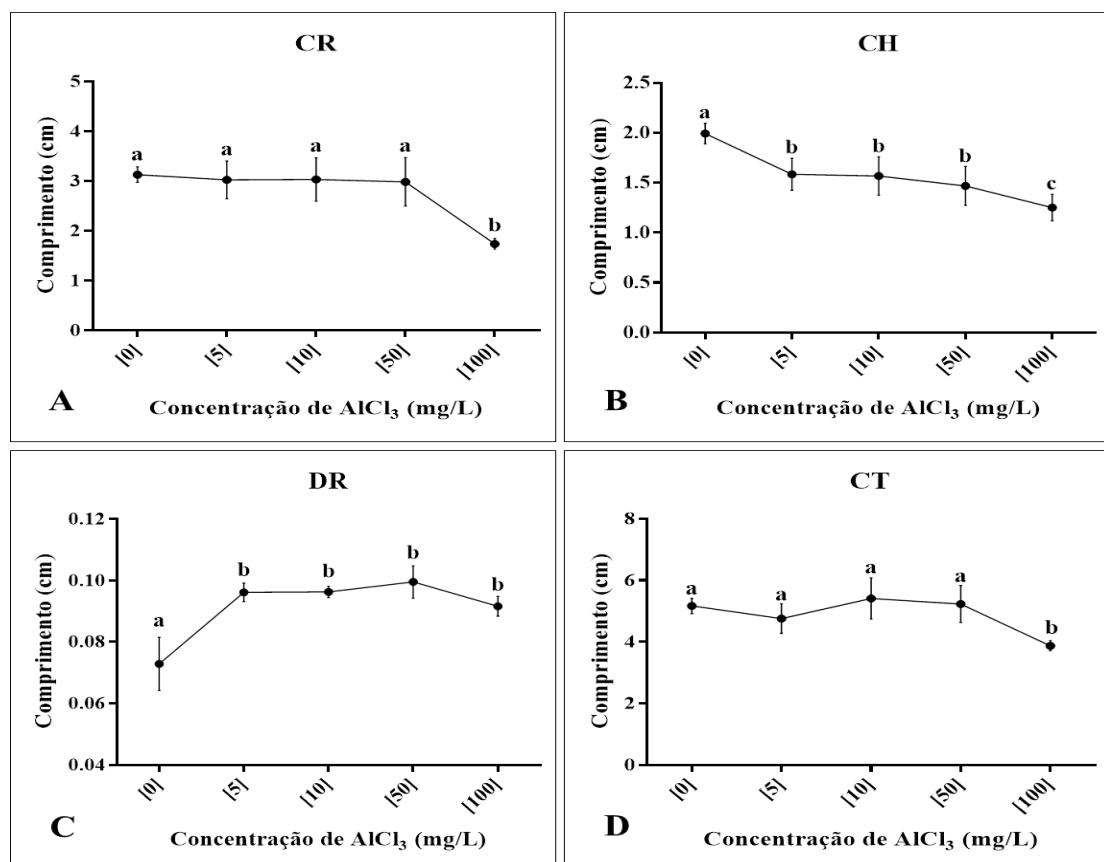


Valores expressos em M±EPM. Dados obtidos a partir da relação entre o número de sementes germinadas por dia observado. O * significa que as médias diferem entre si significativamente quando comparadas ao controle para $p < 0,05$ (ANOVA de duas vias seguidos do teste de Tukey). É possível observar que nos primeiros dias (1 e 2) o número de sementes germinadas dos tratamentos com alumínio é superior ao controle, contudo a partir do terceiro dia os números de sementes germinadas se igualam e a germinabilidade final não é afetada. Fonte: Autora.

4.2 Comprimento das Plântulas

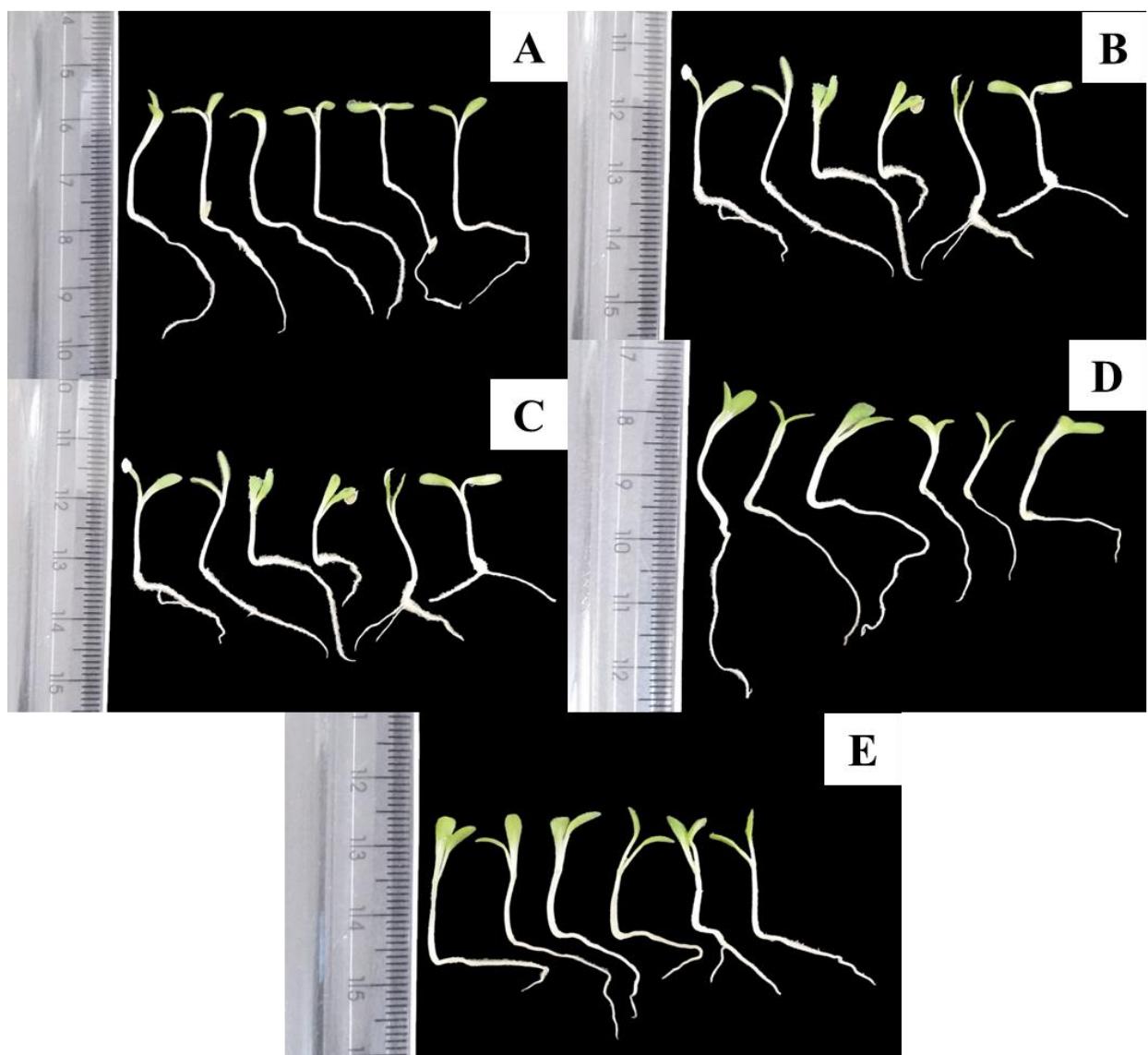
As plântulas de *L. sativa* apresentaram crescimento irregular, principalmente as que foram submetidas ao tratamento de 100 mg.L^{-1} (Figura 8). Para os dados de comprimento radicular apenas o tratamento de 100 mg.L^{-1} , apresentou diferença significativa em comparação ao controle, havendo redução de 42,99% no tamanho da radícula (Figura 7A), evidenciando que esse encurtamento foi devido a exposição ao Al. Já para o comprimento do hipocôtilo todos os tratamentos apresentaram diferenças significativas quando comparados ao controle apresentando reduções de 20,51% (5 mg.L^{-1}), 21,37% (10 mg.L^{-1}), 26,35% (50 mg.L^{-1}) e 37,28% (100 mg.L^{-1}) em seus tamanhos que foram proporcionais ao aumento das concentrações (Figura 7B), tal fato também pode estar relacionado ao estresse ocasionado pelo Al. O diâmetro radicular de todos os tratamentos apresentaram significância evidenciando que houve um engrossamento nas radículas de 31,82% (5 mg.L^{-1}), 31,96% (10 mg.L^{-1}), 36,49% (50 mg.L^{-1}) e 25,65% (100 mg.L^{-1}) (Figura 7C), quando expostas ao Al. Para os dados de comprimento total apenas o tratamento de 100 mg.L^{-1} apresentou diferença significativa, com redução de 25,09% no tamanho das plântulas (Figura 7D), que pode estar relacionado a redução no tamanho da radícula.

Figura 7: Comprimento da radícula (A), hipocôtilo (B), diâmetro da radícula (C) e comprimento total (D), das plântulas de *L. sativa* quando expostas a diferentes concentrações de AlCl_3 .



Valores expressos em M \pm EPM. Dados obtidos a partir das medições de seis plântulas, escolhidas aleatoriamente, de cada um dos tratamentos ($n=6$). Valores seguidos de letras diferentes representam médias que diferem entre si significativamente para $p < 0,05$ (ANOVA de duas vias seguida do teste de Tukey). Observa-se que o tratamento de 100 mg.L $^{-1}$ apresentou reduções em seu crescimento total, hipocôtilo e radícula e também apresentou aumento no diâmetro das radículas. Já os demais tratamentos apenas apresentaram reduções no tamanho do hipocôtilo e aumento do diâmetro radicular. Mais uma vez evidenciando a fitotoxicidade do alumínio. CR: Comprimento radicular; CH: Comprimento do hipocôtilo; DR: Diâmetro radicular; CT: Comprimento total. Fonte: Autora.

Figura 8: Plântulas de *L. sativa* ao fim do sétimo dia de germinação na presença de diferentes concentrações de AlCl₃. Tratamento 0 mg.L $^{-1}$ (A), 5 mg.L $^{-1}$ (B), 10 mg.L $^{-1}$ (C), 50 mg.L $^{-1}$ (D) e 100 mg.L $^{-1}$ (E).



A influencia sobre os parâmetros comprimento do hipocôtilo, radícula, diâmetro radicular e comprimento total foram mais fortes no tratamento 100 mg.L $^{-1}$ (E). Os demais tratamentos 5 (B), 10 (C) e 50 mg.L $^{-1}$ (D), apresentaram reduções no tamanho do hipocôtilo e aumento do diâmetro radicular. Evidenciando a fitotoxicidade do alumínio, principalmente na maior concentração (100 mg.L $^{-1}$). Fonte: Autora.

4.3 Vigor e Índice de Tolerância (IT)

De acordo com as análises de IT apenas as plântulas do tratamento 100 mg.L^{-1} não foram tolerantes ao alumínio, quando em comparação ao controle (Tabela 1), podendo tal fato estar relacionado com as reduções no tamanho das raízes, demonstrando a capacidade fitotóxica do alumínio. Quando analisados os dados de vigor, não se obteve diferenças significativas entre os tratamentos indicando que o alumínio não afetou o vigor das plântulas de alface (Tabela 1).

Tabela 1: Parâmetros avaliados na germinação e desenvolvimento das plântulas de *L. sativa* sob influência de diferentes concentrações de AlCl_3 após sete dias.

Concentrações (mg.L^{-1})	Vigor	IT
0 mg.L^{-1}	$125,3 \pm 6,06$ (a)	$1,005 \pm 0,027$ (a)
5 mg.L^{-1}	$116,8 \pm 12,78$ (a)	$1,025 \pm 0,054$ (a)
10 mg.L^{-1}	$134,0 \pm 16,96$ (a)	$1,023 \pm 0,067$ (a)
50 mg.L^{-1}	$130,7 \pm 15,00$ (a)	$1,039 \pm 0,081$ (a)
100 mg.L^{-1}	$93,93 \pm 4,49$ (a)	$1,039 \pm 0,047$ (b)

Valores expressos em $M \pm EPM$. Valores seguidos de letras iguais em cada coluna significa que as médias não diferiram entre si significativamente para $p < 0,05$ (ANOVA de duas vias, seguida de teste de Tukey). O vigor indica que as plântulas estão saudáveis e o índice de tolerância indica se a planta tolera ou não o alumínio, quanto mais próximo de dois for o valor menos tolerante será a plântula. IT: Índice de tolerância ao AlCl_3 .

4.4 Potencial Osmótico (Ψ_s)

Quando analisados os dados de Ψ_s todos os tratamentos apresentaram diferenças significativas quando comparados ao controle e quando comparados entre si, sendo o tratamento de 100 mg.L^{-1} o que apresentou menor valor, porém esses valores não causam interferências para a germinação e o desenvolvimento inicial das plântulas, pois somente potenciais mais negativos causam tais efeitos. Para CE e pH também aconteceu o mesmo (Tabela 2).

Tabela 2: Características físico-químicas da solução de AlCl_3 .

Tratamento	Ψ_s (MPa)	CE (dS/m)	pH
0 mg.L^{-1}	-0,0000015 (a)	0,0000405 (a)	5,82 (a)
5 mg.L^{-1}	-0,0000059 (b)	0,0001629 (b)	4,93 (b)
10 mg.L^{-1}	-0,0000102 (c)	0,0002832 (c)	4,72 (c)
50 mg.L^{-1}	-0,0000413 (d)	0,0011460 (d)	4,38 (d)
100 mg.L^{-1}	-0,0000727 (e)	0,0020183 (e)	4,21 (e)

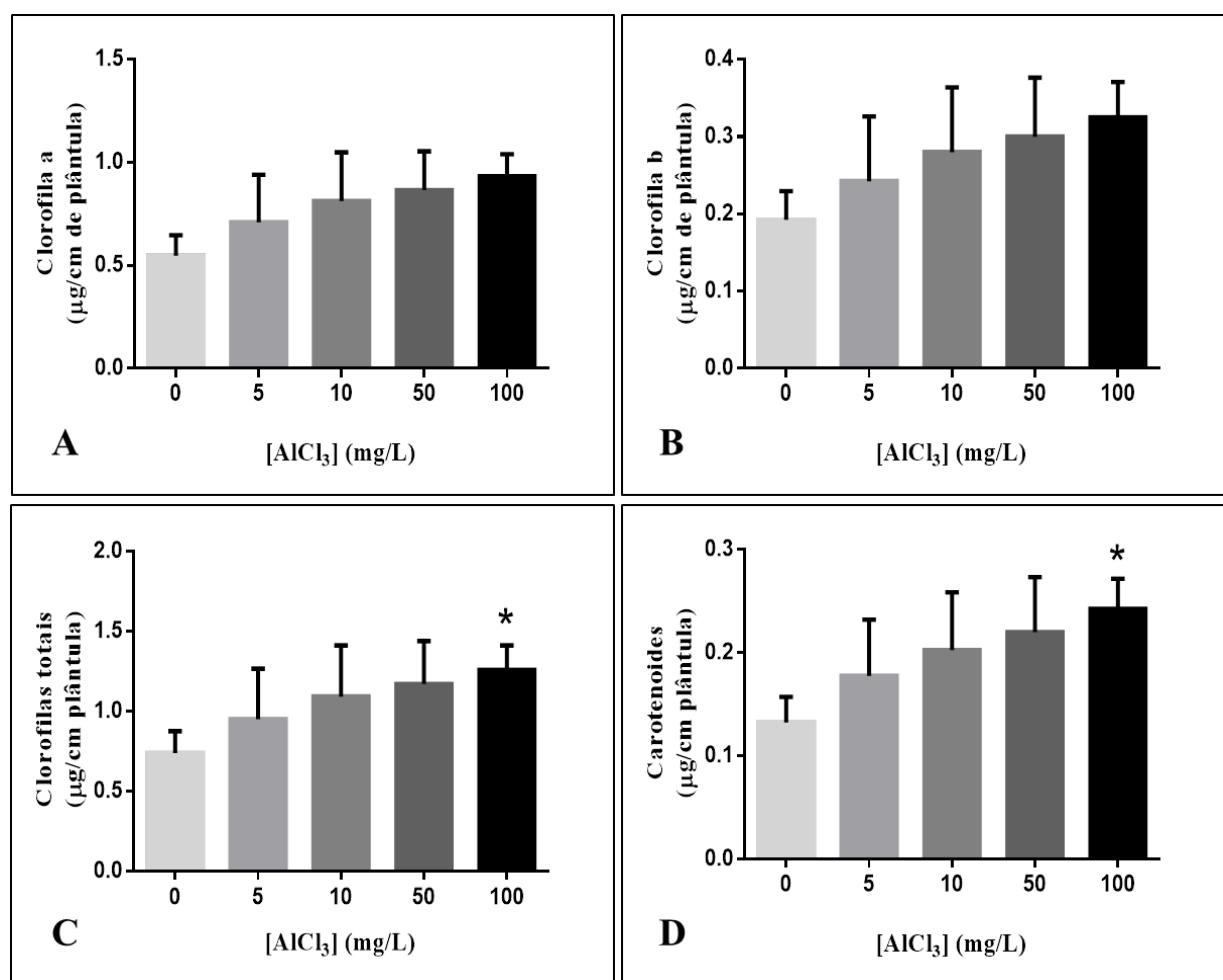
Valores expressos em $M \pm DS$. Dados obtidos a partir de três leituras para cada parâmetro analisado ($n=3$). Valores seguidos de letras diferentes em cada coluna representam médias que diferem entre si significativamente para $p < 0,05$ (ANOVA de duas vias seguida do teste de Tukey). Apesar das diferenças encontradas entre os

tratamentos e o controle isso apenas indica que os solutos estão mais solúveis nos tratamentos em relação ao controle, não indicando interferências na germinação e desenvolvimento inicial das plântulas de *L. sativa*. CE: condutividade elétrica; Ψ_s : potencial osmótico.

4.5 Teores de Clorofilas e Carotenoides

Os dados de clorofilas totais apresentaram significância apenas quando comparados o tratamento de 100 mg.L^{-1} e o controle, indicando um aumento de 5,22% nos teores de clorofilas totais no tratamento de 100 mg.L^{-1} . Para as clorofilas *a* e *b* não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos e o controle. Já para os dados de carotenoides quando comparados os tratamentos 100 mg.L^{-1} e o controle, foram encontradas diferenças significativas indicando um aumento nos teores de carotenoides de 12,62% (Figura 9).

Figura 9: Teores de clorofilas *a*, *b* e totais e carotenoides em plântulas de *L. sativa* submetidas a diferentes concentrações de AlCl_3 .



Valores expressos em M \pm EPM. O * representa que as médias diferiram significativamente entre si para $p < 0,05$ (teste t de Student). Observa-se que houve aumento nas concentrações de clorofilas totais e carotenoides, no tratamento de 100 mg.L $^{-1}$. Fonte: Dados da autora.

5. DISCUSSÃO

No presente estudo, a germinação das sementes de *L. sativa* não foi afetada negativamente pelo Al, indicando um possível efeito benéfico do metal, visto que as sementes tratadas com o Al apresentaram maior número de sementes germinadas no primeiro e segundo dias, segundo os autores Nosko et al. (1988) e Rout et al. (2001) tal fato pode ter ocorrido devido o Al não afetar a germinação, e sim promover o desenvolvimento de novas raízes e o estabelecimento das mudas podendo tal inibição ser detectada após o 2º ou 4º dia depois da germinação, ou ainda as sementes usaram suas reservas iniciais para germinar (CATE; SUKhai, 1964; DESSUREAUX 1969; NOSKO et al., 1988).

Todos os seres vivos, inclusive as plantas, requerem adição continua de energia livre para manutenção e reparação de suas estruturas altamente organizadas, assim como para seu crescimento e reprodução. O Ψ_s representa o efeito dos solutos dissolvidos no potencial hídrico (Ψ_w) e os solutos diminuem a energia livre da água, pois a mistura de ambos aumenta a desordem do sistema, causando um efeito de entropia. Os solutos dissolvidos diminuem o Ψ_w em relação ao estado de referência da água pura, sendo um bom indicador da saúde da planta (TAIZ; ZEIGER, 2009). De acordo com Marin et al (2004) e Koszo et al (2007) o potencial osmótico só causa danos a germinação e ao desenvolvimento inicial das plântulas, expostas ao Al e em condições de acidez, quando apresentam valores entre -0,5 e -1,5 MPa, o que não foi o caso do presente estudo, pois os valores permaneceram entre 0 e -0,1 MPa. Porem, após a emergência das radículas os efeitos do alumínio tornou-se aparente.

A redução no tamanho radicular das plântulas do tratamento de 100 mg.L⁻¹, pode está relacionado ao fato da raiz ser a região da planta que é mais facilmente afetada pela toxicidade do alumínio (PANDA et al., 2009; SILVA, 2012; SANTOS et al., 2014), que causa principalmente inibição no crescimento e alongamento radicular, tornando as raízes fracas, quebradiças, espessas, enroladas e com ápices inchados e danificados. As zonas meristemáticas e de alongamento e o ápice radicular são mais sensíveis a toxidez do Al, por haver maior acumulo do mesmo nessas regiões (PANDA et al., 2009; IMADI, et al., 2016).

O alumínio também induz a inibição da divisão celular, pois causa reduções nas fases mitóticas e na interfase, na região meristemática e na zona de alongamento radiculares

culminando em uma redução significativa no crescimento radicular (ROY et al., 1988; SILVA, 2012; IMADI et al, 2016). As interações do Al com o citoesqueleto também causam distúrbios na divisão celular, pois a exposição dos microtubulos e microfilamentos de actina e miosina ao alumínio causam alterações na estabilidade, organização e polimerização dos mesmos, uma vez que a organização do citoesqueleto é de extrema importância, pois fornece um modelo para a divisão celular (BLANCAFLOR et al., 1998 ; HORST et al., 1999; SILVA et al, 2012; SINGH et al, 2017).

O aumento no diâmetro radicular também está relacionado com as alterações que o Al causa no citoesqueleto. Estas alterações atrapalham a dinâmica geral do citoesqueleto. O Al altera a cascata de sinalização do Ca^{2+} citosólico que está envolvida na estabilização citoesquelética. Ao atrapalhar a organização dos microtubulos e microfilamentos nas células radiculares o Al induz o inchaço das células e também inibe o seu crescimento longitudinal. Ao induzir a interrupção na reorganização dos microtubulos das células corticais, o Al promove distúrbios à expansão celular normal (BLANCAFLOR et al., 1998 ; HORST et al., 1999; SINGH, et al, 2017).

A parede celular além de regular o crescimento e o desenvolvimento das plantas exerce um papel importante na percepção e expressão da toxicidade do alumínio. Cerca de 30-90% do total de Al absorvido pelas plantas se acumulam no apoplasto radicular e o Al total adquirido pelas células periféricas das raízes é gradualmente translocado para outros tecidos centrais (SILVA, 2012; SINGH et al, 2017).

Sendo assim a interação do Al com a parede celular também está relacionada com a redução do crescimento e alongamento radicular, pois o Al liga-se principalmente a matriz pectíca da parede celular, com os grupos carboxílicos carregados negativamente, e a hemicelulose, também pode inibir as enzimas de afrouxamento da parede celular consequentemente reduzindo ou inibindo a extensibilidade das células no ápice e na zona de alongamento (regiões mais sensíveis ao Al) das raízes. O alumínio também se liga ao apoplasma dessas regiões mais sensíveis a toxidez do Al, promovendo assim disfunções tanto no apoplasma quanto no simplasma das células radiculares (SILVA, 2012; GUPTA et al., 2013; SANTOS et al., 2014; SINGH et al, 2017). Todos esses danos nas raízes culminam na restrição na capacidade de absorção de água e nutrientes do sistema radicular das plantas, por isso é um dos parâmetros mais utilizados para medir a fitotoxicidade do Al (ROUT et al., 2001).

O encurtamento do hipocótilo e consequente redução no seu comprimento total das plântulas do tratamento 100 mg.L^{-1} são efeitos secundários da fitotoxicidade do alumínio, podendo ser consequência dos danos causados na radícula (MACLEOD; JACKSON, 1965; FOY et al., 1967; MATSUMOTO et al., 1976; RYAN et al., 1993; JONES; KOCHIAN, 1995). Porem as plântulas que receberam os tratamentos de 5, 10 e 50 mg.L^{-1} não apresentaram reduções de tamanho nas radículas mas sim nos hipocótilos que pode ter sido em consequência de uma estratégia trade-off, para aumentar a captação de água (COLASTINI; HUNT, 1997; AERTS; CHAPIN, 1999).

A intolerância ao Al na concentração de 100 mg.L^{-1} , pode estar relacionada com os danos causados na radícula, visto que o sistema radicular é o mais afetado pela toxicidade do Al, tornando-se incapaz de absorver água e nutrientes, porém o vigor das plântulas não foi afetado isso pode ser explicado pelo fato das sementes possuírem reservas nutricionais que supriram as plântulas, durante o experimento, que teve uma duração relativamente curta (NOSKO et al., 1988).

O aumento no teor das clorofilas totais e carotenoides pode ter sido uma tentativa das plântulas em manter a taxa fotossintética, visto que o Al diminui o teor das clorofilas e consequentemente a fotossíntese, pois o mesmo causa distúrbios na estrutura dos cloroplastos e diminui o transporte de elétrons no fotossistema II (PSII) através da inibição do efluxo de H^+ , podendo aumentar o pH e causar a desnaturação das proteínas responsáveis pelo transporte dos elétrons entre o PSII e o PSI, e da diminuição das atividades de K^+ , Mg^+ e ATPases da membrana plasmática dos cloroplastos, aumentando as bombas de H^+ dependentes de ATP e PPi da membrana tonoplástica (PANDA et al., 2009). Esse comportamento é muito comum em plantas que sofrem estresse por alumínio e conseguiram se adaptar. Muitas espécies de plantas podem absorver e acumular o Al, que pode ser armazenado nos cloroplastos das folhas, sem causar prejuízos (ANDRADE et al., 2011; FREITAS et al., 2017).

A exposição ao Al também promove a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO's), nas mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos, que causam danos oxidativos aos vários componentes celulares, que podem resultar em morte celular (apoptose). As células vegetais possuem mecanismos para desintoxicação das ERO's, por meio de um complexo de antioxidantes, ao qual os carotenoides fazem parte, podendo o aumento dos teores dos carotenoides do presente estudo estarem relacionados a esse processo de desintoxicação celular (SILVA et al., 2000; SINGH et al., 2017).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente estudo o alumínio apresentou fitotoxicidade apenas nas plântulas que receberam o tratamento de 100 mg.L^{-1} , no entanto essa toxidez não foi capaz de inibir a germinação e o desenvolvimento inicial das plântulas de *L. sativa*. As plântulas que receberam os tratamentos de 5, 10 e 50 mg.L^{-1} , demonstraram-se tolerantes a fitotoxicidade do Al e também não tiveram a germinação e o desenvolvimento inicial afetados pelo mesmo.

Os dados apresentados são de grande relevância, pois demonstram as possíveis estratégias das plantas para tolerar a fitotoxicidade causada pelo alumínio, além do mais uma melhor compreensão desses mecanismos de tolerância são de grande importância para orientar futuros estudos relacionados à fitotoxicidade do alumínio.

7. REFERENCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DO ALUMÍNIO (ABAL)- Estatísticas Nacionais, 2019.

ABICHEQUER, A. D.; BOHNEN, H.; ANGHINONI, I. Absorção, translocação e utilização de fósforo por variedades de trigo submetidas à toxidez de alumínio. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa, v. 27, n. 2, p. 373-378, 2003.

ABDUL BAKI, A.A; ANDERSON, J. D. Vigor determination in soybean seed by 390 multiple criteria. **Crop Sci.** 13:630-633, 1973.

ALVARENGA, P; ARAÚJO, M. F; SILVA, J. A. L, As Plantas, os Solos, os Metais e a Vida Jogos Múltiplos. **Química**, Lisboa, v. 71, p. 10-19, 1998.

ANDRADE, L. R. M. et al. Al-hyperaccumulator Vochysiaceae from the Brazilian Cerrado store aluminum in their chloroplasts without apparent damage. **Environmental and Experimental Botany**, v. 70, n. 1, p. 37-42, 2011.

AYERS, R. S.; WESTCOT, D. W. Water quality for agriculture. Roma: FAO 395 (Irrigation and Drainage Paper, 29), p.97, 1999.

BARCELÓ, J. et al. **Aluminium phytotoxicity**. Fertilizer research, v. 43, n. 1-3, p. 217-223, 1995.

BIONDI, C.M. **Teores naturais de metais pesados nos solos de referência do estado de Pernambuco**. 2010. 47 f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) -Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

BLACKMAN, G. E.; BRUCE, R. S.; HOLLY, K. Studies in the Principles of Phytotoxicity: V. INTERRELATIONSHIPS BETWEEN SPECIFIC DIFFERENCES IN SPRAY RETENTION AND SELECTIVE TOXICITY. **Journal of Experimental Botany**, v. 9, n. 2, p. 175-205, 1958.

BLACKMAN, G. E. Studies in the Principles of Phytotoxicity: I. THE ASSESSMENT OF RELATIVE TOXICITY. **Journal of Experimental Botany**, v. 3, n. 1, p. 1-27, 1952.

BLANCAFLOR, E. B.; JONES, D. L.; GILROY, S. Alterations in the cytoskeleton accompany aluminum-induced growth inhibition and morphological changes in primary roots of maize. **Plant physiology**, v. 118, n. 1, p. 159-172, 1998.

BOLUDA, R.; ROCA-PÉREZ, L.; MARIMÓN, L. Soil plate bioassay: an effective method to determine ecotoxicological risks. **Chemosphere**, v. 84, n. 1, p. 1-8, 2011.

BRANDÃO, Y.K.F.S. **Tolerância e Potencial Fitorremediador De *Lippia gracilis* Schauer Em Substrato Contaminado Com Chumbo**. 2016. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Naturais) – Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, Mossoró.

- BARRAL, M. T. et al. A review on the use of phytotoxicity as a compost quality indicator. **Dyn Soil Dyn Plant**, v. 5, p. 36-44, 2011.
- CATE JR, R. B.; SUKHAI, A. P. A study of aluminum in rice soils. **Soil Science**, v. 98, n. 2, p. 85-93, 1964.
- COLASANTI, R. L.; HUNT, R. Resource dynamics and plant growth: a self-assembling model for individuals, populations and communities. **Functional Ecology**, v. 11, n. 2, p. 133-145, 1997.
- COX, R. M.; HUTCHINSON, T. C. Metal co-tolerances in the grass *Deschampsia cespitosa*. **Nature**, v. 279, n. 5710, p. 231, 1979.
- DAI, H. et al. Differences in physiological features associated with aluminum tolerance in Tibetan wild and cultivated barleys. **Plant physiology and biochemistry**, v. 75, p. 36-44, 2014.
- DELHAIZE, E.; RYAN, P. R. Aluminum toxicity and tolerance in plants. **Plant physiology**, v. 107, n. 2, p. 315, 1995.
- DESSUREAUX, L. Effect of aluminium on alfalfa seedlings. **Plant and soil**, v. 30, n. 1, p. 93-98, 1969.
- DAS, S. K.; YIN, W. The worldwide aluminum economy: The current state of the industry. **Jom**, v. 59, n. 11, p. 57-63, 2007.
- ECHART, C. L.; CAVALLI-MOLINA, S. Fitotoxicidade do alumínio: efeitos, mecanismo de tolerância e seu controle genético. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 3, p. 531-541, 2001.
- FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia uma área emergente da Ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**. 12. ed. p.175-209, 2000.
- FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrocnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: UFV, 2000. 402p.
- FOY, C. D.; CHANEY, R.L.; WHITE, M.C. The physiology of metal toxicity in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Washington, v. 29, p. 511-566, 1978.
- FOY, C. D. et al. Characterization of Differential Aluminum Tolerance among Varieties of Wheat and Barley 1. **Soil Science Society of America Journal**, v. 31, n. 4, p. 513-521, 1967.
- FREITAS, K. et al. Adaptação de Tibouchina granulosa Submetida à Aplicação de Alumínio. **Floresta e Ambiente**, v. 24, 2017.
- GABOS, M. B.; ABREU, C. A.; COSCIONE, A. R. Lixiviação e absorção de Pb pelo feijão-de-porco assistido pela aplicação de EDTA no solo. **Scientia Agricola**, v. 66, n. 4, p. 506-514, 2009.
- GARATE, A. et al. Cadmium uptake and distribution in three cultivars of *Lactuca* sp. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 50, n. 5, p. 709-716, 1993.

- GUO, T. et al. Effects of aluminum and cadmium toxicity on growth and antioxidant enzyme activities of two barley genotypes with different Al resistance. **Plant and Soil**, v. 258, n. 1, p. 241-248, 2004.
- GUPTA, N.; GAURAV, S. S.; KUMAR, A. Molecular basis of aluminium toxicity in plants: a review. **American Journal of Plant Sciences**, v. 4, n. 12, p. 21, 2013.
- HIND, A. R.; BHARGAVA, S. K.; GROCOTT, S. C. The surface chemistry of Bayer process solids: a review. **Colloids and surfaces A: Physicochemical and engineering aspects**, v. 146, n. 1-3, p. 359-374, 1999.
- HORST, W. J. et al. Does aluminium affect root growth of maize through interaction with the cell wall–plasma membrane–cytoskeleton continuum?. **Plant and Soil**, v. 215, n. 2, p. 163-174, 1999.
- HOSSAIN, M. A. et al. Aluminum-induced lipid peroxidation and lignin deposition are associated with an increase in H₂O₂ generation in wheat seedlings. **Soil Science & Plant Nutrition**, v. 51, n. 2, p. 223-230, 2005.
- IMADI, S. R. et al. Aluminum toxicity in plants: an overview. In: **Plant Metal Interaction**. Elsevier, 2016. p. 1-20.
- JONES, D. L.; KOCHIAN, L. V. Aluminum inhibition of the inositol 1, 4, 5-trisphosphate signal transduction pathway in wheat roots: a role in aluminum toxicity?. **The Plant Cell**, v. 7, n. 11, p. 1913-1922, 1995.
- JONES, D. L. et al. Effect of aluminum on cytoplasmic Ca 2+ homeostasis in root hairs of *Arabidopsis thaliana* (L.). **Planta**, v. 206, n. 3, p. 378-387, 1998.
- KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants**. CRC press, 2011.
- KOSZO, C. R. R.; RINALDI, M. C. S.; BARBEDO, C. J. Germinação de sementes de *Erythrina speciosa* Andr., *Eugenia brasiliensis* Lam. e *Cucumis sativus* L. em meio ácido. **Hoehnea**, v. 34, n. 3, p. 271-282, 2007.
- LI, Y. et al. Aluminium sensitivity and tolerance in model and elite wheat varieties. **Cereal research communications**, v. 36, n. 2, p. 257-267, 2008.
- LICHTENTHALER, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: **PACKER, L., DOUCE, R. (Eds.) Meth Enzimol.** 148, 350-382.
- LIU, J.; PIÑEROS, M. A.; KOCHIAN, L. V. The role of aluminum sensing and signaling in plant aluminum resistance. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 56, n. 3, p. 221-230, 2014.
- MACLEOD, L. B.; JACKSON, L. P. Aluminum Tolerance of Two Barley Varieties in Nutrient Solution, Peat, and Soil Culture 1. **Agronomy Journal**, v. 59, n. 4, p. 359-363, 1967.
- MALAJOVICH, M.A. **Biotecnologia**. Rio de Janeiro: Axcel Books, 2004. 44 p.
- MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. 638p.

MARIANO, E. D.; JORGE, R. A.; KELTJENS, W. G.; MENOSSI, M. Metabolism and root exudation of organic acid anions under aluminium stress, **Brazilian Journal Plant Physiology**, Campinas, v. 17, n. 1, p. 157-172, 2005.

MARIN, A. et al. Germinação de sementes de guandu sob efeito da disponibilidade hídrica e de doses subletais de alumínio. **Bragantia**, p. 13-24, 2004.

MATSUMOTO, H. Inhibition of proton transport activity of microsomal membrane vesicles of barley roots by aluminium. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 34, n. 4, p. 499-506, 1988.

MATSUMOTO, H. et al. Localization of aluminium in tea leaves. **Plant and Cell Physiology**, v. 17, n. 3, p. 627-631, 1976.

MENEZES, N. et al. Qualidade fisiológica de sementes de alface submetidas a diferentes temperaturas na presença e ausência de luz. **Ci. Rural**, 2000.

MIGUEL, P. S. B. et al. Efeitos tóxicos do alumínio no crescimento das plantas: mecanismos de tolerância, sintomas, efeitos fisiológicos, bioquímicos e controles genéticos. **CES Revista**, v. 24, n. 1, p. 13-29, 2010.

NOSKO, P. et al. The effect of aluminum on seed germination and early seedling establishment, growth, and respiration of white spruce (*Picea glauca*). **Canadian journal of botany**, v. 66, n. 11, p. 2305-2310, 1988.

OLIVEIRA, I. P.; MALAVOLTA, E. Influencia do alumínio no desenvolvimento e composição mineral do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris L.*). **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, v. 38, n. 1, p. 327-344, 1981.

PALLETT, K. et al. Performance of potential non-crop or wild species under OECD 208 testing guideline study conditions for terrestrial non-target plants. **Pest Management Science: formerly Pesticide Science**, v. 63, n. 2, p. 134-140, 2007.

PANDA, S. K.; BALUŠKA, F.; MATSUMOTO, H. Aluminum stress signaling in plants. **Plant signaling & behavior**, v. 4, n. 7, p. 592-597, 2009.

PANDA, S. K. et al. Overexpression of alternative oxidase gene confers aluminum tolerance by altering the respiratory capacity and the response to oxidative stress in tobacco cells. **Molecular biotechnology**, v. 54, n. 2, p. 551-563, 2013.

PAZ, L. et al. Phytotoxic Effects of African Mahogany Seedlings to Herbicides. **Floresta e Ambiente**, v. 25, n. 4, 2018.

PINTRO, J.; BARLOY, J.; FALLAVIER, Paul. Aluminum effects on the growth and mineral composition of corn plants cultivated in nutrient solution at low aluminum activity. **Journal of plant nutrition**, v. 19, n. 5, p. 729-741, 1996.

PURCELL, A. H. Phytotoxicity: Phytotoxemia. In: **Encyclopedia of Insects**. Academic Press, 2009. p. 800-802.

RAMPIM, L.; LANA, M.. MECANISMO DE TOLERÂNCIA INTERNA DAS PLANTAS AO ALUMÍNIO. In: **Colloquium Agrariae**. 2013.

- RIBEIRO, M. A. Q. et al. Aluminum effects on growth, photosynthesis, and mineral nutrition of cacao genotypes. **Journal of plant nutrition**, v. 36, n. 8, p. 1161-1179, 2013.
- ROY, A. K.; SHARMA, A.; TALUKDER, G. Some aspects of aluminum toxicity in plants. **The Botanical Review**, v. 54, n. 2, p. 145-178, 1988.
- ROUT, G.; SAMANTARAY, S[†]; DAS, P. Aluminium toxicity in plants: a review. 2001.
- RYAN, P. R.; KOCHIAN, L. V. Interaction between aluminum toxicity and calcium uptake at the root apex in near-isogenic lines of wheat (*Triticum aestivum* L.) differing in aluminum tolerance. **Plant Physiology**, v. 102, n. 3, p. 975-982, 1993.
- SALA, F. C.; COSTA, C. P. 'PiraRoxa': cultivar de alface crespa de cor vermelha intensa. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 1, p. 158-159, 2005.
- SANTOS, C.; SILVA, S.; PINTO-CARNIDE, O. Aluminum Phytotoxicity: Physiological Approaches and Tolerance. In: **Advances in Molecular Toxicology**. Elsevier, 2014. p. 203-236.
- SILVA, S. Aluminium toxicity targets in plants. **Journal of Botany**, v. 2012, 2012.
- SILVA FILHO, E. B.; ALVES, M. C. M.; DA MOTTA, M. Lama vermelha da indústria de beneficiamento de alumina: produção, características, disposição e aplicações alternativas. **Revista Matéria**, v. 12, n. 2, p. 322-338, 2007.
- SILVA, I. R. et al. Aluminum accumulation at nuclei of cells in the root tip. Fluorescence detection using lumogallion and confocal laser scanning microscopy. **Plant Physiology**, v. 123, n. 2, p. 543-552, 2000.
- SILVA, P.; MATOS, M. Assessment of the impact of Aluminum on germination, early growth and free proline content in *Lactuca sativa* L. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 131, p. 151-156, 2016.
- SIMÕES, M. S. et al. Padronização de bioensaios para detecção de compostos alelopáticos e toxicantes ambientais utilizando alface. **Biotemas**, v. 26, n. 3, p. 29-36, 2013.
- SINGH, S. et al. Toxicity of aluminium on various levels of plant cells and organism: a review. **Environmental and Experimental Botany**, v. 137, p. 177-193, 2017.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.
- TSUTIYA, M. T. Metais pesados: o principal fator limitante para o uso agrícola de biossólidos das estações de tratamento de esgotos. In: **Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**. 1999. p. 753-761.
- VITORELLO, V. Al.; CAPALDI, F. R.; STEFANUTO, V. A. Recent advances in aluminum toxicity and resistance in higher plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 17, n. 1, p. 129-143, 2005.
- WHITE, A. L. et al. Germination requirements for 29 terrestrial and wetland wild plant species appropriate for phytotoxicity testing. **Pest Management Science: formerly Pesticide Science**, v. 65, n. 1, p. 19-26, 2009.

YANG, J. L. et al. Genotypic differences among plant species in response to aluminum stress. **Journal of Plant Nutrition**, v. 28, n. 6, p. 949-961, 2005.

YANG, Y. H.; CHEN, S. M.; ABDULLAHI, B. A. Alleviation effect of different ratios of Al to Ca on Al toxicity for morphological growth of mungbean seedling. **Journal of plant nutrition**, v. 24, n. 3, p. 573-583, 2001.