



MARINA MARIÁ PEREIRA

**AÇÃO DO *PRIMING* EM SEMENTES DE ARROZ FRENTE À
CONTAMINAÇÃO DO SOLO COM CÁDMIO**

**LAVRAS-MG
2021**

MARINA MARIÁ PEREIRA

**AÇÃO DO *PRIMING* EM SEMENTES DE ARROZ FRENTE À
CONTAMINAÇÃO DO SOLO COM CÁDMIO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal, área de concentração em Comportamento Fisiológico Vegetal sob Estresses Ambientais, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Eduardo Gusmão Pereira
Orientador
Prof^a Dr^a Elisa Monteze Bicalho
Coorientadora

**LAVRAS-MG
2021**

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

Pereira, Marina Mariá.

Ação do *priming* em sementes de arroz frente à contaminação do solo com cádmio / Marina Mariá Pereira. - 2021.

55 p. : il.

Orientador(a): Eduardo Gusmão Pereira.

Coorientador(a): Elisa Monteze Bicalho.

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

Bibliografia.

1. *nanopriming*. 2. nanopartículas de óxido de ferro. 3. *Oryza sativa* L. I. Pereira, Eduardo Gusmão. II. Bicalho, Elisa Monteze. III. Título.

MARINA MARIÁ PEREIRA

**AÇÃO DO *PRIMING* EM SEMENTES DE ARROZ FRENTE À CONTAMINAÇÃO
DO SOLO COM CÁDMIO**

**PRIMING ACTION IN RICE SEEDS AGAINST SOIL CONTAMINATION WITH
CADMIUM**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal, área de concentração em Comportamento Fisiológico Vegetal sob Estresses Ambientais, para a obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 29 de abril de 2021.
Dr^a Talita Oliveira de Araújo UFV
Prof. Dr. Vitor de Laia Nascimento UFLA

Prof. Dr. Eduardo Gusmão Pereira – Orientador
Universidade Federal de Viçosa – UFV

Prof^a Dr^a Elisa Monteze Bicalho – Coorientadora
Universidade Federal de Lavras – UFLA

**LAVRAS-MG
2021**

À minha mãe Sandra pelo amor e apoio
incondicionais.
Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelas bênçãos diárias, pela fé que me fortalece e permite que eu me levante todas as vezes que eu caio.

Agradeço aos meus pais pela vida. Agradeço minha mãe por estar comigo em todos os momentos.

Agradeço à minha família, vocês tornam as conquistas mais alegres. À minha irmã e sobrinha, quero agradecer pelo carinho e amor.

Agradeço aos meus amigos de jornada, sem vocês esse trabalho não seria. Saibam Aline, Daniela, Dawyson, Hélio, Larissa, Letícia, Ludmila, Luziene, Marcos, Mateus, Moisés, Rafael, Thaís e Victor que as horas de trabalho foram importantíssimas, mas as de descontração essenciais.

Aos amigos Alex, Ana Maria, Geovane, Isadora e Josyellem pelas gargalhadas, lágrimas, dramas e sobretudo pelo amor, agradeço.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Crescimento e Desenvolvimento de Plantas (LCDP), Laboratório de Fisiologia do Estresse Abiótico (LASP), Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Molecular de Plantas (LBFMP) e Laboratório de Solos da UFV/CAF.

Agradeço a todos os professores e profissionais que contribuíram com o trabalho, a participação de vocês nas bancas de qualificação e defesa são muito importantes.

Agradeço à minha coorientadora, Professora Elisa Bicalho, por ser a mulher forte, inteligente e perspicaz que me inspira a todo momento.

Agradeço ao meu orientador, Professor Eduardo Gusmão, por ser o melhor orientador do planeta! A forma como se dispõe a ensinar e guiar, toca e motiva todos à sua volta.

Agradeço à Universidade Federal de Viçosa / *Campus* Florestal e Universidade Federal de Lavras, em especial aos profissionais do Programa de Pós-graduação em Agronomia / Fisiologia Vegetal.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG).

RESUMO

A contaminação de áreas agricultáveis pelo cádmio (Cd), além de causar desequilíbrio ecológico, afeta a produção. A toxicidade do Cd pode interferir na fotossíntese e na atividade do sistema antioxidante das plantas, além de competir na assimilação de nutrientes como o ferro (Fe). O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos cereais mais cultivados no mundo, fazendo parte da alimentação da população mundial e é uma das culturas agrícolas afetadas pelas contaminações dos solos com Cd. Recentemente, novas tecnologias envolvendo o uso de nanopartículas obtiveram resultados eficazes na descontaminação dos sistemas agrários. Dessa forma, empregá-las em técnicas de *priming* de sementes pode oferecer um aprimoramento do processo germinativo em solos contaminados. A hipótese do trabalho é que o *priming* de sementes com água (*hidropriming*) e com FeNPs (Fe_2O_3) (*nanopriming*) pode incrementar a germinação e o beneficiar o crescimento e desenvolvimento de plantas de arroz cultivadas em substrato contaminado por Cd. Sementes de duas cultivares de arroz, IRGA424 e IRGA417, não condicionadas e submetidas ao *nanopriming* (0 e 100 mg L⁻¹ FeNP) foram cultivadas em solo contaminado por Cd (0 e 5 mg L⁻¹ de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$), avaliadas quanto ao crescimento através da massa seca total (MST), área foliar (AF), comprimento radicular (CR) e produtividade, além da quantificação dos teores de Cd e Fe nas folhas e análises de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* durante a diferenciação da panícula (R₁). Os resultados indicam que o *nanopriming* impactou na redução da MST e CR nos estádios iniciais e em maior AF durante o florescimento para a cultivar IRGA417. Já as plantas cultivadas em solo contaminado por Cd apresentaram maior acúmulo de MST nas fases iniciais e uma queda no período de maturação fisiológica das sementes para cultivar IRGA424 e na colheita em IRGA417. Os teores de Fe foram maiores em plantas advindas de sementes não condicionadas e cultivadas em solo não contaminado da cultivar IRGA417. Somente foi detectado Cd nas folhas da cultivar IRGA424, porém sem diferenças significativas em nenhuma das condições de *priming*. Não houve quaisquer alterações nas variáveis de fluorescência da clorofila *a* e trocas gasosas, com exceção para os maiores valores de fotossíntese líquida (*A*) na cultivar IRGA417 exposta ao *nanopriming*, independente da contaminação do solo. A massa de grãos por planta foi menor nas plantas cultivadas em solo contaminado e submetidas ao *hidropriming* e *nanopriming* da cultivar IRGA424. Quando em condições de solo não contaminado, o *hidropriming* pode representar ganhos em produtividade, já que é uma técnica de fácil aplicação e baixo custo para os produtores.

Palavras-chave: *nanopriming*. nanopartículas de óxido de ferro. *Oryza sativa* L..

ABSTRACT

Contamination of agricultural areas by cadmium (Cd), leading to ecological imbalance and affects the field. Cd toxicity can interfere in photosynthesis and in the activity of the antioxidant system of plants, competing in the assimilation of nutrients such as iron (Fe). Rice (*Oryza sativa* L.) is one of the most cultivated cereals in the world, part of the feeding of the world population and is one of the agricultural crops affected by soil contamination. Recently, new technologies involving the use of nanoparticles have obtained effective results in the decontamination of agricultural systems. Thus, using them in seed priming techniques can offer an improvement in the germination process in contaminated soils. The hypothesis of the study is that the priming of seeds with water (hydropriming) and with FeNPs (Fe₂O₃) (nanopriming) can increase germination and benefit the growth and development of rice plants growing in a substrate contaminated by Cd. Seeds of two rice cultivars, IRGA424 and IRGA417, unconditioned and subjected to nanopriming (0 and 100 mg L⁻¹ FeNP) were grown in soil contaminated by Cd (0 and 5 mg L⁻¹ of Cd (NO₃)₂), evaluated for growth through total dry mass (TDM), leaf area (LA), root length (RL) and field, and to quantifying the levels of Cd and Fe in the leaves and analysis of gas exchange and chlorophyll *a* fluorescence during panicle differentiation (R₁). The results indicate that nanopriming impacted the reduction of TDM and RL in the initial stages and in greater AF during flowering for the cultivar IRGA417. Plants grown in soil contaminated by Cd, on the other hand, showed a greater accumulation of MST in the initial stages and a decrease in the period of physiological maturation of the seeds to cultivate IRGA424 and in the harvest in IRGA417. Fe contents were higher in plants from unconditioned seeds and cultivated in uncontaminated soil of the IRGA417 cultivar. Only Cd was detected in the leaves of the cultivar IRGA424, but without significant differences in any of the priming conditions. There were no changes in the fluorescence variables of chlorophyll *a* and gas exchange, except for the highest values of liquid photosynthesis (*A*) in the cultivar IRGA417 exposed to nanopriming, regardless of soil contamination. The mass of grains per plant was lower in plants grown in contaminated soil and subjected to the hydropriming and nanopriming of the cultivar IRGA424. When in conditions of uncontaminated soil, hydropriming can represent gains in productivity, since it is a technique of easy application and affordable for farmers.

Keywords: nanopriming. iron oxide nanoparticles. *Oryza sativa* L..

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 — Sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) nos estádios de desenvolvimento da plântula. 14
- Figura 2 — Plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) em três estádios de desenvolvimento vegetativo. 15
- Figura 3 — Plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) em quatro estádios de desenvolvimento reprodutivo. 16
- Figura 4 — Estratégias de absorção de ferro em angiospermas. 20
- Figura 5 — Porcentagem de germinação (A e B), índice de velocidade de germinação (IVG) (C e D), comprimento radicular (E e F) e massa seca total de plântulas (G e H) das cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) IRGA424 e IRGA417 condicionadas ou não ao *hidropriming* (HP e UP, respectivamente) e semeadas em vermiculita sob diferentes concentrações de cádmio. 32
- Figura 6 — Índice de velocidade de germinação (IVG) (A), rendimento quântico máximo do PSII (F_v/F_m) (B), comprimento radicular (C), massa seca total (D), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (E) e peroxidação lipídica da membrana (MDA) (F) de plântulas das cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) IRGA424 e IRGA417 submetidas a *nanopriming* em diferentes concentrações de nanopartículas de óxido de ferro (FeNP) na presença de substrato contaminado por 5 ppm de Cd. 34
- Figura 7 — Teores de ferro (A e B) e cádmio (C e D) nas folhas das cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) IRGA424 (A e C) e IRGA417 (B e D) em estágio reprodutivo R_1 , obtidas após condicionamento das sementes em hidropriming (HP), nanopriming (NP) e sem condicionamento (UP) e cultivadas em solo sem contaminação por Cd (Controle) e contaminado por 5 ppm de Cd (Cd). 39
- Figura 8 — Fotossíntese líquida A (A e B), condutância estomática g_s (C e D), transpiração foliar E (E e F) e razão CO_2 interno/ambiente (C_i/C_a) (G e H) nas folhas das cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) IRGA424 (A e C) e IRGA417 (B e D) em estágio reprodutivo R_1 , obtidas após condicionamento das sementes em hidropriming (HP), nanopriming (NP) e sem condicionamento (UP) e cultivadas em solo sem contaminação por Cd (Controle) e contaminado por 5 ppm de Cd. 40
- Figura 9 — Índice de clorofila total (A e B) e rendimento quântico máximo do PSII (F_v/F_m) (C e D) nas folhas das cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) IRGA424 (A e C) e IRGA417 (B e D) em estágio reprodutivo R_1 , obtidas após condicionamento das sementes em hidropriming (HP), nanopriming (NP) e sem condicionamento (UP) e cultivadas em solo sem contaminação por Cd (Controle) e contaminado por 5 ppm de Cd. 41
- Figura 10 — Rendimento quântico efetivo do PSII ($\Phi PSII$) (A e B), taxa de transporte de elétrons (ETR) (C e D) e *quenching* não-fotoquímico (NPQ) (E e F) nas folhas das cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) IRGA424 (A e C) e IRGA417 (B e D) em estágio reprodutivo R_1 , obtidas após condicionamento das sementes em hidropriming (HP), nanopriming (NP) e sem

condicionamento (UP) e cultivadas em solo sem contaminação por Cd (Controle) e contaminado por 5 ppm de Cd..... 42

Figura 11 — Número de panículas por planta (A e B) e massa de grãos por planta (C e D) das cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) IRGA424 (A e C) e IRGA417 (B e D), obtidas após condicionamento das sementes em *hidropriming* (HP), *nanopriming* (NP) e sem condicionamento (UP) e cultivadas em solo sem contaminação por Cd (Controle) e contaminado por 5 ppm de Cd..... 43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 — Descrição do arranjo fatorial e tratamentos aplicados em cada uma das cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.). Sementes não submetidas ao *priming* – *unpriming*; sementes submetidas ao *hidropriming*; sementes submetidas ao *nanopriming* (100 mg L⁻¹ FeNPs). 27

Tabela 2 — Massa seca total (MST), área foliar (AF) e comprimento radicular (CR) das cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) IRGA424 e IRGA417 em diferentes estádios fenológicos. 37

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1	Arroz	12
2.2	Elementos traço.....	16
2.3	Nanopartículas	20
2.4	<i>Priming</i> de sementes	21
3	MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1	Material vegetal e caracterização inicial das sementes	22
3.2	Aplicação do <i>priming</i> em sementes de arroz e germinação em substrato contaminado por Cd	24
3.3	Aplicação do <i>nanopriming</i> em sementes de arroz, germinação em substrato contaminado por Cd, fluorescência da clorofila <i>a</i> e análises bioquímicas de marcadores de estresse oxidativo.....	25
3.4	Resistência à toxicidade de Cd induzida por <i>hidro</i> e <i>nanopriming</i> em plantas de arroz ..	26
3.5	Análise estatística.....	30
4	RESULTADOS	30
4.1	Condicionamento de sementes (<i>priming</i>) e efeitos do Cd e nanopartículas de óxido de Fe (FeNP) na germinação e no crescimento inicial de arroz.....	30
4.2	Crescimento das plantas de arroz em substrato contaminado com Cd	35
4.3	Teores de ferro e cádmio em plantas de arroz	38
4.4	Alterações fotossintéticas em plantas de arroz em substrato contaminado com Cd.....	39
4.5	Produtividade de cultivares de arroz oriundos de tratamentos com <i>priming</i> e cultivados em solo contaminado com Cd	43
5	DISCUSSÃO	44
6	CONCLUSÃO	48
	REFERÊNCIAS	49

1 INTRODUÇÃO

A contaminação de áreas agricultáveis com elementos traço, além de afetar a produção de diferentes culturas, interfere no equilíbrio ecológico devido à sua transferência na cadeia trófica e a toxicidade para os seres vivos (MURTAZA *et al.*, 2017). As fertirrigações de inadvertidas fontes e uso de adubos fostatados, cuja rocha de origem pode ser rica em elementos traço, provocam o aumento das concentrações de cádmio (Cd) no solo (GUILHERME *et al.*, 2019; NACKE *et al.*, 2013). Esse elemento traço pode ser absorvido pelas plantas e afetar diferentes processos celulares, metabólicos e fisiológicos (LIU *et al.*, 2017). Além de afetar a fotossíntese, a transpiração e a atividade do sistema antioxidante, o Cd também compete com o ferro (Fe) pelos sítios ativos de absorção na membrana, o que acarreta decréscimo no crescimento e rendimento das plantas (BARI *et al.*, 2019; HUSSAIN *et al.*, 2019). O arroz (*Oryza sativa* L.) é uma das culturas agrícolas afetadas por essa contaminação, em que seus grãos ao serem consumidos podem contaminar os seres humanos (BASHIR *et al.*, 2018). Esse acúmulo de Cd nos grãos depende do ambiente, dos mecanismos de resistência, do manejo adequado, das estratégias de cultivo e das interações entre esses fatores (BARI *et al.*, 2019).

Recentemente, novas tecnologias envolvendo o uso de nanopartículas (NPs) resultaram em métodos eficazes na descontaminação dos sistemas agrários. Sabe-se que, em diferentes culturas, as NPs podem mitigar diversos estresses abióticos, incluindo a salinidade, a seca e a presença de elementos traço tóxicos (ADREES *et al.*, 2020; BHATERIA & SINGH, 2019; DASGUPTA *et al.*, 2015). Diversas evidências comprovam que as NPs de óxido de Fe (FeNPs) afetam de forma positiva o crescimento e a produção de trigo, além de reduzir as concentrações de Cd nos tecidos da planta (HUSSAIN *et al.*, 2019; SUNDARIA *et al.*, 2019). Os ensaios com arroz são comumente conduzidos com a incorporação no solo ou pulverização foliar de NPs nos estádios iniciais de crescimento, em níveis de concentração que variam entre 0 e 100 ppm, e tamanhos de NPs de 10 a 140 nm, implicando em aumento nos conteúdos de clorofila, trocas gasosas e ganho de massa, além de reduzirem o teor de Cd na parte aérea das plantas (AHMED *et al.*, 2021; MA *et al.*, 2020; RIZWAN *et al.*, 2019). Alguns fatores influenciam diretamente nas reações, como é o caso do tamanho das NPs, visto que um aumento significativo em sua área superficial potencializa sua interação com o meio (SIDDIQUI *et al.*, 2015). Além disso, as concentrações ideais das NPs são essenciais para um desempenho favorável. Em concentrações de 0 a 500 mg L⁻¹ de FeNP as sementes de sorgo sob estresse salino apresentaram incrementos

na velocidade da germinação, estabelecimento homogêneo das plântulas, aumento da fotossíntese líquida, conteúdo de clorofila e queda da peroxidação lipídica (MASWADA; DJANAGUIRAMAN; PRASAD, 2018). Porém, concentrações elevadas podem resultar em estresse oxidativo, como observado nos efeitos negativos das NPs de Fe zero valente no crescimento inicial de plantas de arroz em condições ambientais favoráveis ao estabelecimento (GUHA *et al.*, 2018).

O período entre a sementeira e a emergência das plântulas é um dos mais críticos durante o ciclo das plantas, já que as condições ambientais muitas vezes não são consideradas ideais para o rápido estabelecimento e crescimento inicial. Logo, técnicas que beneficiem esse momento são essenciais para a redução da exposição das sementes às condições deletérias. Portanto, o conhecimento do processo germinativo é fundamental para o estabelecimento do *priming*, que é uma ferramenta de condicionamento de sementes, com resultados positivos na porcentagem de germinação e estabelecimento de plântulas em diversas condições de plantio (FAROOQ *et al.*, 2009). Podem ser usados diferentes agentes durante o *priming*, como a água ou solução com nanomateriais (*nanopriming*) (LUTTS *et al.*, 2016). O *nanopriming* pode ser uma técnica viável para uso na aplicação das FeNPs, facilitando o manejo para implementação em campo e reduzindo os custos de utilização das NPs.

Sabendo disso, a hipótese do trabalho é que o *priming* de sementes com água (*hidropriming*) e com FeNPs (Fe_2O_3) (*nanopriming*) pode incrementar a germinação e beneficiar o crescimento e desenvolvimento de plantas de arroz cultivadas em substrato contaminado por Cd. Assim, o estudo teve por objetivos estudar os efeitos do *hidro* e *nanopriming* com FeNPs na germinação de sementes e crescimento inicial em plantas de arroz e a manutenção destes efeitos na redução da toxicidade do Cd no crescimento e produtividade da cultura.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Arroz

O arroz é uma planta anual da família das poáceas, com sistema fotossintético C3 e adaptada a ambientes alagados. A presença de aerênquimas no colmo e nas raízes da planta, permite a difusão de oxigênio da atmosfera para a planta (COUNCE *et al.*, 2000; FAROOQ *et*

al., 2009; YOSHIDA, 1981). O estágio vegetativo do arroz é caracterizado pelo perfilhamento, crescimento em altura, e lançamento de folhas. Enquanto o estágio reprodutivo inicia-se com o alongação dos internódios, decréscimo no perfilhamento, emergência da folha-bandeira e panícula, com posterior florescimento (COUNCE *et al.*, 2000; YOSHIDA, 1981). Apesar de ser cultivada em diferentes latitudes, plantas de arroz possuem melhor desempenho em dias curtos, ou seja, com a presença de menor quantidade de horas de luz solar durante o dia. Contudo pode ter seu ciclo influenciado por fotoperíodos curtos, 10 horas de luz, antecipando o florescimento. As temperaturas ótimas variam de acordo com o período de desenvolvimento, para germinação estão entre 20 e 35 °C, florescimento varia de 30 a 33 °C e maturação entre 20 e 25 °C (COUNCE *et al.*, 2000; YOSHIDA, 1981).

A semente não embebida é identificada como estágio fenológico S_0 , após a embebição ocorre a protusão do eixo embrionário (S_1), seguida pela emergência da radícula ou coleóptilo (S_2), por fim ocorre o surgimento do perfilho a partir do coleóptilo (S_3) (Figura 1). Durante o processo de germinação, tanto o coleóptilo quanto a radícula podem protundir primeiro. Em situações de solo com umidade adequada, a radícula é a primeira a emergir. Porém, quando as sementes estão sob alagamento durante a pré-germinação, o coleóptilo emerge antes da radícula. Logo em seguida, a primeira folha, com distinção entre lâmina e bainha. Em condições de baixa disponibilidade de oxigênio (alagamento), a radícula pode emergir somente após a emissão completa da primeira folha (COUNCE *et al.*, 2000).

Figura 1 — Sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) nos estádios de desenvolvimento da plântula.



Estádios de desenvolvimento da plântula (S) de arroz (*Oryza sativa*) com os respectivos identificadores morfológicos, sendo S₀: semente não embebida, S₁: protusão do coleóptilo/radícula, S₂: emergência da radícula/coleóptilo e S₃: emergência do perfilo do coleóptilo (ponto de agulha). Fotos: T. F. S. de Freitas e D. Grohs. Fonte: SOSBAI, 2018.

Após a germinação os identificadores morfológicos recebem a indicação de estágio vegetativo (V) (Figura 2). Nesse período ocorre aparecimento das raízes seminais, responsáveis pela sustentação da plântula. Após o surgimento das raízes adventícias, provenientes dos nós do colmo subsuperficiais, há degeneração das raízes seminais. As raízes adventícias assumem a função de fixação, absorção de água e de nutrientes para a planta de arroz (COUNCE *et al.*, 2000; YOSHIDA, 1981). Ocorre também o desenvolvimento dos fitômeros, que são compostos pela lâmina e bainha foliar, nó e entrenó. A estrutura foliar inicia sua diferenciação, com a formação de uma folha por nó, de forma alternada no colmo. Depois da formação do colar da quarta folha (V₄), aproximadamente três semanas após a germinação, tem início a emissão de perfilhos. Surgindo em ordem alternada a partir dos nós do colmo (COUNCE *et al.*, 2000).

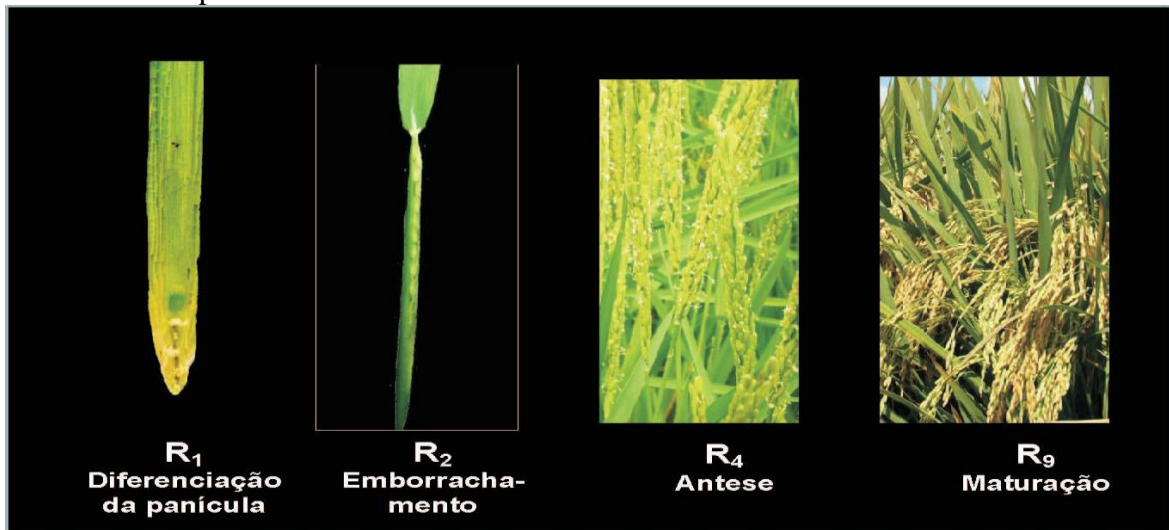
Figura 2 — Plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) em três estádios de desenvolvimento vegetativo.



Estádios de desenvolvimento vegetativo (V) da planta de arroz (*Oryza sativa*) com os respectivos identificadores morfológicos, sendo V₃: colar da bainha completamente formado na terceira folha do colmo principal – período de perfilhamento, V₄: colar da bainha completamente formado na quarta folha do colmo principal – período de perfilhamento, V₈: colar da bainha completamente formado na oitava folha do colmo principal – iniciação da panícula. Fotos: T. F. S. de Freitas e D. Grohs. Fonte: SOSBAI, 2018.

O início do estágio reprodutivo é marcado pela iniciação da panícula, pela transformação do meristema apical nessa estrutura (Figura 3). Logo após há diferenciação das flores masculinas e femininas, seguidos pela micro e megasporogênese, emergência da panícula, antese, desenvolvimento dos grãos até sua maturação fisiológica (COUNCE *et al.*, 2000).

Figura 3 — Plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) em quatro estádios de desenvolvimento reprodutivo.



Estádios de desenvolvimento reprodutivo (R) da planta de arroz (*Oryza sativa*) com os respectivos identificadores morfológicos, sendo R₁: diferenciação da panícula, R₂: formação do colar da bainha na folha bandeira, R₄: antese (uma ou mais espiguetas), R₉: maturidade fisiológica dos grãos. Fotos: T. F. S. de Freitas e D. Grohs. T. F. S. de Freitas, D. Grohs e S. I. G. Lopes. Fonte: SOSBAI, 2018.

O arroz irrigado é cultivado em áreas com topografia plana e difícil drenagem, com saturação do solo em períodos de maior precipitação. Essas condições favorecem o cultivo do arroz, permitindo a manutenção da lâmina de água sobre a superfície do solo, reduzindo a lixiviação de nutrientes (SOSBAI, 2018). Contudo, o uso de lodo de esgoto para fertilização dos solos, aplicação de adubação com fósforo, proveniente de rochas ricas em elementos traço, além dos resíduos de indústria e mineração, contribuem para a contaminação desses locais (MURTAZA *et al.*, 2017; SEBASTIAN; PRASAD, 2014).

2.2 Elementos traço

Os solos de agrossistemas apresentam naturalmente em sua constituição elementos traço, que também são componentes dos materiais de origem de fertilizantes utilizados nas adubações dessas áreas (GUILHERME *et al.*, 2019). Esses elementos traço são denominados metais pesados quando apresentam densidade maior que 5 g cm⁻³, cujas concentrações naturalmente encontradas são de poucas partes por milhão (BHATERIA; SINGH, 2019; KABATA-PENDIAS, 2010). Alguns desses metais são essenciais para as plantas, como ferro (Fe), cobre (Cu), zinco (Zn), manganês (Mn) e cobalto (Co). Contudo, em excesso são tão tóxicos quanto cádmio (Cd), mercúrio (Hg) e chumbo (Pb) (FOY *et al.*, 1978; KRUPA *et al.*,

2002). A sua absorção pelas plantas depende, além das características fisiológicas das espécies, da sua mobilidade e disponibilidade no solo (ARIF *et al.*, 2019). Os componentes ativos do solo ao interagirem com esses elementos desencadeiam uma série de reações físicas, químicas e biológicas, incluindo adsorção, complexação, precipitação e substituição (CHLOPECKA, 1996; YIN *et al.*, 2016).

Dentre os elementos traço, o Cd destaca-se por reduzir o crescimento e a taxa fotossintética das plantas, afetando o ciclo de Calvin-Benson, a formação dos grana e da clorofila, a abertura e fechamento dos estômatos, a cadeia transportadora de elétrons, as enzimas e o sistema antioxidante (ARIF *et al.*, 2019; BARI *et al.*, 2019; SIEDLECKA; KRUPA, 1999). No solo o Cd encontra-se na camada superficial, sob a forma Cd^{2+} e também associado à matéria orgânica, como quelatos de Cd. Sua disponibilidade é maior em solos ácidos devido à ação do pH, com sua solubilidade aumentada através dos exsudados radiculares (ADREES *et al.*, 2020; RIZWAN *et al.*, 2016). Uma concentração foliar de Cd acima de $100 \mu g g^{-1}$ de matéria seca (0,01%) é considerado como um valor limite para sua hiperacumulação. A contaminação dos solos por Cd é um dos fatores mais limitantes para a produção agrícola, seu excesso leva à formação e acúmulo de espécies reativas de oxigênio, que causam danos oxidativos e afetam negativamente o sistema de defesa das plantas (RIZWAN *et al.*, 2016).

O Cd pode ser absorvido tanto pelas folhas quanto pelas raízes, sendo as raízes a principal via de absorção. A absorção ocorre sob a forma de quelatos de Cd via proteínas YSL (*Yellow Stripe 1-Like*) e via transportadores ZIP (*Zinc Regulated Transport Iron Regulated Transport-like Protein*) ou por canais de cálcio (Ca) (DACC – *Depolarization-Activated Calcium Channels*, HACC – *Hyperpolarization Activated Calcium Channels*) e canais de cátions (VICC – *Voltage-Insensitive Cation Channels*), relativamente não seletivos (CURIE *et al.*, 2009; LUX *et al.*, 2011). O Cd então é transportado pelas rotas simplásticas e apoplásticas, sendo carregado para o simplasto via P_{1B} -ATPases e também pelas proteínas YSL. Em *Arabidopsis* o efluxo de Cd através da membrana plasmática na epiderme e pêlos radiculares ocorre via transportadores ABC (*ATP-binding cassette*) (KIM *et al.*, 2007).

Para arroz foi verificado que o transportador de auxina, OsAUX1, está envolvido com na tolerância ao Cd (YU *et al.*, 2015). A superexpressão de OsHMA3, aumentou o número de transportadores de zinco localizados na raiz do arroz, levando a uma diminuição do acúmulo de Cd no grão (SASAKI *et al.*, 2014). Alguns mecanismos apresentados pelas plantas são capazes de reduzir a concentração de Cd livre no citossol, entre elas a compartimentalização

em estruturas sub celulares, exclusão e/ou diminuição do transporte através da membrana, formação de fitoquelatinas que complexam o metal e aumento na atividade antioxidante, através da produção de superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione redutase (GR); além do desenvolvimento de barreiras físicas ao movimento extracelular de Cd. O Cd pode ser armazenado no vacúolo através de canais antiporte $\text{Cd}^{2+}/\text{H}^{+}$, por $\text{P}_{1\text{B}}$ -ATPases e sob a forma de quelatos via transportadores ABC (LUX *et al.*, 2011).

Grande parte dos íons de Cd ficam retidos nas células das raízes, já que é facilmente aderido às paredes celulares. Portanto somente uma pequena porção deste elemento traço é absorvido e transportado até a parte aérea via xilema, outra parte é complexada por aminoácidos, ácidos orgânicos e/ou fitoquelatinas (LUX *et al.*, 2011; RIZWAN, *et al.*, 2016). Ele também se encontra associado a substâncias contendo enxofre, como glutathione, metalotioneínas e fitoquelatinas. O aumento na síntese de fitoquelatinas está associada à exposição das plantas ao Cd, no qual os complexos Cd-fitoquelatinas são sequestrados para os vacúolos pelos transportadores NRAMP (Natural Resistance-Associated Macrophage Protein) (LUX *et al.*, 2011; RIZWAN, *et al.*, 2016).

O Cd compete com o Fe pelos sítios ativos de absorção na membrana, levando à clorose (SIEDLECKA; KRUPA, 1999). A imobilização dos elementos traço pelos óxidos de Fe não é permanente. Esses metais podem retornar ao meio pela redução dos óxidos, gerando um grande impacto aos solos (YIN *et al.*, 2016). O Fe é considerado elemento essencial para a realização do processo metabólico de todos os organismos vivos. Apesar de ser o quarto elemento mais abundante na litosfera, o Fe é encontrado em formas não disponíveis para as plantas na solução do solo (KOBAYASHI; NOZOYE; NISHIZAWA, 2019).

A proporção de Fe reduzido (Fe^{2+}) ou oxidado (Fe^{3+}) e sua biodisponibilidade para as plantas depende da reação e do potencial redox do solo (PRASAD *et al.*, 2006). É exatamente por causa de sua característica de oxidação-redução, que o Fe participa em diversos processos enzimáticos, como fotossíntese, respiração, fixação de N_2 atmosférico, biossíntese de clorofila e fitormônios ((KOBAYASHI; NISHIZAWA, 2012). Sua circulação na planta depende de transportadores específicos para sua forma complexada, possuindo grande afinidade com moléculas orgânicas. No xilema o Fe é, geralmente, complexado em Fe-citrato. No floema ele é quelatado a Fe-nicotinamina. Na semente o vacúolo pode acumular Fe (BRIAT *et al.*, 2007).

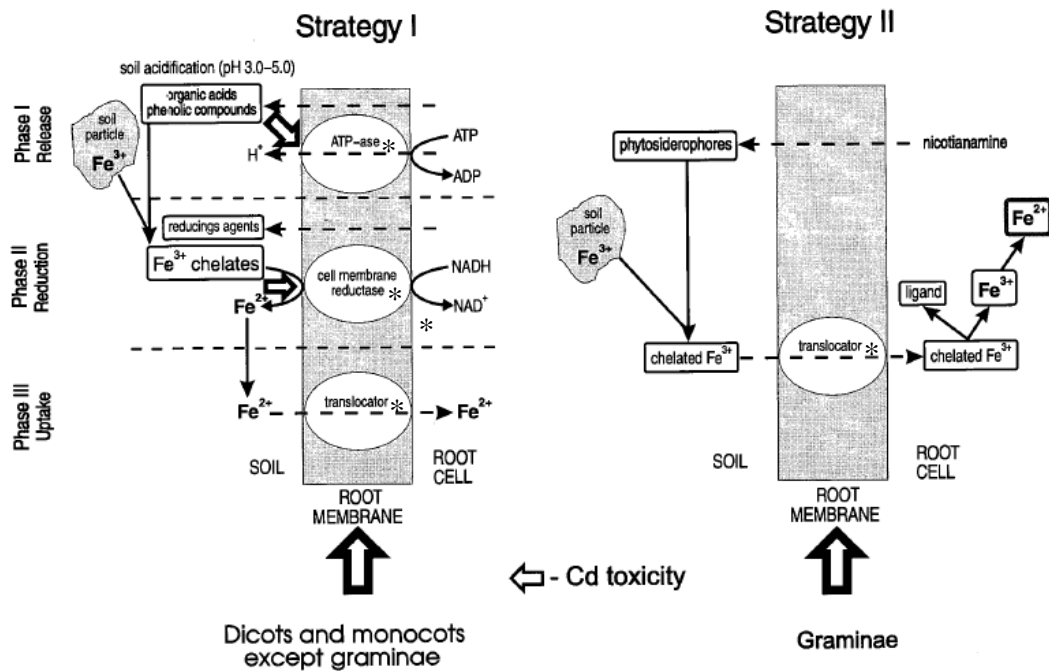
O alagamento do solo, durante a produção de arroz, promove a solubilização de Fe, podendo o acúmulo de Fe^{2+} na solução do solo atingir níveis tóxicos para o arroz. Influenciando

na geração excessiva de espécies reativas de oxigênio e posteriores danos ao metabolismo das plantas. A sintomatologia típica de toxicidade por Fe é caracterizada por bronzeamento foliar, escurecimento das raízes, redução no número de folhas, na altura da parte aérea, no comprimento da raiz principal, na produção de massa seca e nos teores de pigmentos cloroplastídicos (WU *et al.*, 2014). A absorção de Fe pelas plantas de arroz (ISHIMARU *et al.*, 2006) dá-se através de duas estratégias. Geralmente a *estratégia I* é comum nas dicotiledôneas e monocotiledôneas, com exceção das gramíneas, onde o processo de redução do Fe^{3+} ocorre na rizosfera. O Fe é quelatado por compostos fenólicos secretados pela raiz, tornando-o solúvel na solução do solo. No apoplasto das células epidérmicas da raiz o Fe^{3+} presente na solução do solo é reduzido a Fe^{2+} pela enzima Fe(III) redutase. A *estratégia II* é adotada pelas gramíneas em geral e consiste na produção de fitosideróforos responsáveis pela quelação do Fe^{3+} e seu transporte através da membrana celular, onde será reduzido pelas células das raízes (KOBAYASHI *et al.*, 2019; KOBAYASHI; NISHIZAWA, 2012; SIEDLECKA; KRUPA, 1999).

A baixa concentração de oxigênio (O_2) na solução do solo promove a acidificação da rizosfera, permitindo que o Mn, Fe, Co, Zn e Cd, por exemplo, tornem-se mais solúveis, além de afetar o Mo refletindo na sua menor disponibilidade no meio. Além disso, a atividade da Fe quelato redutase e do transportador IRT1 (*Iron Regulated Transporter*) são induzidas, aumentando assim a absorção de Mn, Co, Zn e Cd, uma vez que IRT1 possui menos especificidade por Fe em relação a outros transportadores (KIM; GUERINOT, 2007).

O Cd influencia a estratégia I de absorção de Fe nas plantas, levando a um decréscimo da atividade das redutases presentes nas membranas das células da raiz e resultando na indução de deficiência de Fe em plantas expostas ao Cd (Figura 4). A interação entre Fe e Cd afeta, também o transporte do Fe das raízes para as folhas (SIEDLECKA; KRUPA, 1999). Da mesma forma, o Fe afeta o transporte de Cd das raízes à parte aérea das plantas. Sob estresse provocado por Cd, as plantas desenvolvem maneiras de imobilizar esse metal nas raízes: formação de compostos quelatizados com aminoácidos, acúmulo no vacúolo e células da parede, precipitação na forma de sais insolúveis ou quelatados com ácido cítrico ou fitoquelatinas (SIEDLECKA; KRUPA, 1999).

Figura 4 — Estratégias de absorção de ferro em angiospermas.



* indicam as possibilidades de influência do cádmio. Fonte: SIEDLECKA; KRUPA (1999, adaptado).

2.3 Nanopartículas

Nos últimos anos a nanotecnologia vem sendo utilizada como ferramenta para a redução dos impactos negativos da contaminação do meio por elementos traço, reduzindo os efeitos deletérios no ambiente (BHATERIA; SINGH, 2019; GONG *et al.*, 2018). Nanomateriais são usualmente definidos como partículas com tamanho de 100 nm ou menos, em pelo menos uma dimensão (LIN *et al.*, 2014). Nanopartículas (NPs) magnéticas são sistemas formados por partículas da ordem de nanômetros (10^{-9} m) que, por encontrarem-se entre o estado molecular e atômico, possuem propriedades físicas e químicas bastante diferentes das observadas em materiais volumosos e/ou massivos. O tamanho dessas NPs é responsável direto pela sua interação com os materiais no meio, devido à sua grande área superficial (FRANCISQUINI *et al.*, 2014).

Os efeitos dos nanomateriais nas plantas, bem como a sua transferência na cadeia trófica foram alvo de maiores investigações nos últimos anos. A interação entre os nanomateriais e plantas, as respostas fisiológicas, moleculares, vias de absorção, toxicidade e compartimentalização celular começaram a ser melhor esclarecidas (PAGANO *et al.*, 2016;

SCHWAB et al., 2015; GARDEA-TORRESDEY et al., 2014). Contudo é difícil determinar um padrão de resposta, tendo em vista a grande variedade de materiais em relação ao material de origem, tamanho e tipo de nanomaterial.

Nanopartículas de óxido de Fe (FeNPs) possuem propriedades superparamagnéticas, alta capacidade catalítica, devido à área superficial e elevada reatividade, além de atividade antimicrobiana. As propriedades magnéticas das FeNPs se devem ao movimento dos elétrons ao redor do núcleo que formam uma magnetização permanente, denominada ferrimagnetismo (BHATERIA; SINGH, 2019). Os efeitos das FeNPs nas plantas variam desde inibição à promoção da germinação, alterações na eficiência fotossintética e sistema antioxidante, bem como nenhuma influência, sendo as respostas bastante relacionadas com o tipo de NP e a espécie vegetal (MAHAKHAM *et al.*, 2017; KIM *et al.*, 2015; PARIONA *et al.*, 2017; RIZWAN *et al.*, 2017; SUNDARIA *et al.*, 2019).

2.4 *Priming* de sementes

A germinação pode ser afetada pela exposição das sementes a diversas combinações de temperatura e ciclos de hidratação e desidratação. O *priming* de sementes pode reduzir o período entre a semeadura e o estabelecimento de plântulas, proporcionando um estande mais homogêneo, vigoroso e com melhores e maiores produtividades em algumas culturas (MONDO *et al.*, 2016; FAROOQ *et al.*, 2009).

A germinação é caracterizada por um padrão trifásico, onde a fase I é caracterizada pela rápida absorção de água pela semente e inicia-se os primeiros momentos de reativação do metabolismo, como o aumento da respiração, ativação enzimática, síntese de proteínas a partir de mRNA armazenados durante o fim da maturação fisiológica (BEWLEY *et al.*, 2013). A fase II é acompanhada pela estabilização da absorção de água e redução da respiração, sendo variáveis de acordo com cada espécie e condições ambientais (BASKIN; BASKIN, 2014). Nessa fase a semente continua com os processos bioquímicos necessários para a germinação, com a síntese de enzimas, DNA e mRNA iniciados na fase I (BEWLEY *et al.*, 2013). Na fase III o crescimento do embrião torna-se visível e tem fim com a protusão do eixo embrionário, assim completando a germinação (BEWLEY *et al.*, 2013).

O *priming* viabiliza a entrada de água nas sementes promovendo o início das atividades metabólicas nas fases iniciais da germinação, porém sem atingir a fase III. As sementes

submetidas ao *priming* são retiradas do tratamento antes de sua intolerância à dessecação tornar-se crítica. Sendo então submetidas a um processo de desidratação, retornando ao seu peso inicial, caracterizando assim o procedimento de *priming* de sementes (FAROOQ *et al.*, 2010).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material vegetal e caracterização inicial das sementes

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Crescimento e Desenvolvimento de Plantas (LCDP), pertencente ao Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Lavras (UFLA) e no Laboratório de Fisiologia do Estresse Abiótico (LASP), do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Viçosa – *Campus* Florestal (UFV/CAF), entre os meses de julho de 2019 a maio de 2020.

Foram utilizadas sementes de duas cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.), IRGA424 e IRGA417, classificadas como tolerante e suscetível à toxicidade por Fe, respectivamente, produzidas no ano agrícola de 2019 e cedidas pelo Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA). Essas sementes foram acondicionadas em embalagens de papel e armazenadas em refrigerador com temperatura de ± 4 °C, até o início dos experimentos. Em todos os testes e ensaios as sementes foram desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio (NaClO) 10,0%, com adição de uma gota de detergente líquido para quebra da tensão superficial, por 10 minutos e em seguida submetidas à tríplex lavagem em água deionizada.

Para a caracterização inicial do processo germinativo nas cultivares IRGA424 e IRGA417, foi determinado o teor de água das sementes (7,78 e 8,42 %, respectivamente) e porcentagem de germinação (98,0 e 83,0 %, respectivamente). O teor de água das sementes foi determinado pelo método da estufa a 105 °C (± 3 °C), durante 24 horas, utilizando-se quatro repetições de 25 sementes, totalizando 100 sementes por cultivar (BRASIL, 2009).

Os testes de germinação foram realizados com 4 repetições de 25 sementes por cultivar, dispostas em placas de Petri 90 x 15 mm, em papel umedecido com água deionizada em quantidade equivalente a 2,5 vezes em relação ao seu peso seco e repostas com pipetas de Pasteur à medida que o papel apresentasse brilho opaco. As placas de Petri foram mantidas em câmaras de germinação, com temperatura constante de 25 °C (± 3 °C) e fotoperíodo de 12/12h fornecido por luz 40 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (BRASIL, 2009) e dispostas em delineamento inteiramente

casualizado (DIC). Foram consideradas germinadas as sementes que tiveram a protusão de, pelo menos, 2 mm do eixo embrionário. As contagens de germinação foram realizadas a cada 12 horas, sendo considerada estável após quatro avaliações consecutivas, obtendo-se a média das repetições em porcentagem.

O índice de velocidade de germinação (IVG) foi determinado durante o teste de germinação e calculado segundo Maguire (1962), $\sum (n_i/t_i)$, onde n_i é o número de sementes germinadas e t_i o número de dias do ensaio a cada contagem.

As sementes não germinadas remanescentes foram cortadas longitudinalmente com auxílio de pinça e bisturi e submetidas as teste de tetrazólio, com solução de 0,5% de cloreto 2-3-5 trifenil tetrazólio, em frascos escuros e mantidos em câmara de germinação com temperatura de 30 °C (± 3 °C), por 2 horas (BRASIL, 2009), para verificação da viabilidade.

Para determinar a curva de embebição e o período de aplicação do *priming*, as sementes foram dispostas em DIC, sob temperatura ambiente e fotoperíodo natural, com quatro repetições de 25 sementes para cada cultivar. As sementes de cada repetição, previamente pesadas (peso inicial), foram colocadas em placas de Petri sobre substrato papel umedecido com água deionizada em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco e posteriormente fechadas, para reduzir as perdas de água por evaporação. Para monitorar a absorção de água pelas sementes foram realizadas avaliações a cada 1 hora, durante um período de 35 horas até a protusão do eixo embrionário. Ao final de cada intervalo de avaliação, as sementes foram retiradas dos recipientes, superficialmente secas e pesadas, em balança analítica (precisão de 0,001g).

A quantidade de água absorvida foi calculada a partir da seguinte fórmula $TA = ((P_f - P_i) / P_i) \times 100$, onde TA é a quantidade de água absorvida (%), P_i o peso inicial das sementes (g) e P_f o peso final das sementes em cada intervalo de tempo (g). As fases da embebição foram determinadas de acordo com o tempo necessário para a estabilização da massa. O percentual de absorção de água nas primeiras horas de embebição marcaram a fase I do padrão trifásico de germinação e a partir da sexta hora de embebição até 26 horas do início do teste, quando as primeiras sementes começaram a germinar, foi demarcado o final da fase II e início da fase III. Esse incremento discreto no teor de água durante a fase II e fase III refletiu na massa fresca das sementes, que permaneceu estável mesmo após a germinação da maioria das sementes, com 33 horas de embebição para ambas cultivares. O percentual máximo de teor de água das sementes,

de ambas as cultivares, sem que houvesse a protusão da radícula, foi atingido 25 horas após o início da embebição, sendo então demarcado para 10 horas o período de *priming* das sementes.

3.2 Aplicação do *priming* em sementes de arroz e germinação em substrato contaminado por Cd

Para aplicação do *priming* com água deionizada (*hidropriming*), 25 sementes de arroz, com o peso inicial aferido em balança de precisão 0,001g, foram colocadas em tubos Falcon (15 mL), contendo 5 mL de água deionizada, protegidas da luminosidade e levadas à mesa agitadora, com velocidade de agitação de 150 rpm, por um período de 10 horas. Logo após, as sementes foram secas em estufa a 35 °C por um período de 24 horas, quando atingiram o conteúdo de água similar ao inicial, antes do *hidropriming*.

Em um primeiro ensaio, sementes de arroz não submetidas (*unprimed*) e submetidas ao *hidropriming* foram dispostas em caixas gerbox de poliestireno transparente, dimensões de 11,0 x 11,0 x 3,5 cm, com 100 g de substrato vermiculita, contaminado por Cd na forma de nitrato de cádmio ($\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$), em concentrações de 0,0; 2,5; 5,0; 10,0; 20,0; 50,0 e 100,0 mg L⁻¹. As caixas gerbox foram dispostas em câmaras de germinação, com temperatura constante de 25 °C (± 3 °C) e fotoperíodo de 12/12h fornecido por luz 40 μmol fótons m⁻² s⁻¹, por um período de cinco dias. O ensaio foi realizado em DIC, com esquema fatorial 2 x 7 e cinco repetições com 25 sementes cada. Os testes de germinação e índice de velocidade de germinação (IVG), foram realizados conforme descrito anteriormente.

Após o período de cinco dias, cinco plântulas de arroz por repetição foram selecionadas aleatoriamente para a avaliação das seguintes variáveis morfológicas: comprimento e massa seca da parte aérea, raízes e total. Cada repetição representou a média dos valores das cinco plântulas avaliadas. As plântulas foram seccionadas, com o auxílio de estilete, em parte aérea e radicular. O comprimento das plântulas foi aferido com régua graduada e os resultados expressos em centímetros (cm).

Essas plântulas foram acondicionadas em sacos de papel kraft e levadas a estufa de secagem, com circulação de ar, a 70 °C até atingirem peso constante. A massa seca da parte aérea e radicular das plântulas foi verificada com a pesagem em balança analítica (precisão de 0,001g) e a massa total obtida pelo somatório das partes. Os valores foram expressos em gramas (g).

3.3 Aplicação do *nanopriming* em sementes de arroz, germinação em substrato contaminado por Cd, fluorescência da clorofila *a* e análises bioquímicas de marcadores de estresse oxidativo

Foi utilizada solução de nanopartículas (NPs) magnéticas de óxido de Fe (Fe_2O_3), de 5 nm de tamanho, massa molar de $231,53 \text{ g mol}^{-1}$, densidade de $1,0 \text{ g ml}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$, concentração de 5 mg ml^{-1} em H_2O , adquiridas comercialmente (SIGMA-ALDRICH). A solução estoque foi preparada em concentração de 500 mg L^{-1} de NPs de óxido de Fe (FeNP), com o auxílio de ultra-sonografia, 100 W e 30 KHz (processador ultra-sônico UP100H, Hielscher Ultrasound Technology, Alemanha), aplicada por 15 min, para quebra da agregação das NPs em solução aquosa.

Em seguida, 25 sementes de cada uma das cultivares, IRGA424 e IRGA417, com massa média de 1,124 e 1,087 g, respectivamente, foram colocadas em tubos Falcon (15,0 mL) com 5,0 mL da solução de FeNPs em concentrações de 0,0 (apenas *hidropriming*); 12,5; 25,0; 50,0; 100,0; 200,0 e 500 mg L^{-1} de FeNP, por um período de 10 horas, que corresponde à metade da fase II, determinada em ensaio anterior. Após esse período as sementes foram lavadas em água deionizada e secas em estufa a 35°C por um período de 24 horas, quando atingiram o conteúdo de água similar ao inicial, antes do *nanopriming*.

Sementes submetidas ao *hidropriming* e *nanopriming* foram dispostas em caixas gerbox de poliestireno transparente, dimensões de $11,0 \times 11,0 \times 3,5 \text{ cm}$, com 0,100 g de substrato vermiculita, contaminado por Cd em concentração de $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$, determinada com base nos ensaios anteriores. As caixas gerbox foram dispostas em câmaras de germinação, com temperatura constante de $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ($\pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$) e fotoperíodo de 12/12h fornecido por luz $40 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, por um período de 21 dias. O experimento seguiu DIC, em esquema fatorial 2×7 e cinco repetições com 25 sementes cada. Durante os cinco primeiros dias foi verificada a germinação e o IVG, conforme descrito anteriormente. As sementes não germinadas remanescentes foram cortadas longitudinalmente com auxílio de pinça e bisturi e submetidas as teste de tetraz\u00f3lio conforme descrito anteriormente.

Aos 21 dias de ensaio, foram coletadas aleatoriamente 12 pl\u00e2ntulas em cada repeti\u00e7\u00e3o para avalia\u00e7\u00e3o das vari\u00e1veis morfol\u00f3gicas: comprimento e massa seca da parte a\u00e9rea, ra\u00edzes e total, conforme descrito previamente. O restante das pl\u00e2ntulas foi coletado, envolvidas em papel

alumínio e acondicionadas em sacos plásticos, imediatamente congeladas em nitrogênio líquido (N_2 liq) e armazenadas em ultra freezer à $-80\text{ }^\circ\text{C}$ para análises do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e da peroxidação lipídica pela produção de malondialdeído (MDA).

Os níveis de H_2O_2 foram quantificados pelo método de (VELIKOVA *et al.*, 2000), em que cada repetição foi composta de 0,1 g das plântulas inteiras coletadas, maceradas em N_2 liq e homogeneizadas com 1 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 0,1%. As amostras foram centrifugadas por 15 min a 12.000 g a $4\text{ }^\circ\text{C}$, sendo a reação realizada com tampão fosfato de potássio (KH_2PO_4) 10mM, pH 7,0 e iodeto de potássio (KI) a 1M. As amostras foram analisadas em espectrofotômetro com leitura da absorbância à 390 nm e os níveis de H_2O_2 foram quantificados por meio de curva padrão.

A quantificação de MDA foi determinada conforme descrito por Du & Bramlage (1992), cada repetição constituída por 0,100 g das plântulas inteiras, maceradas em N_2 líquido e homogeneizadas com 1 mL de etanol 80%, em tríplex extração. A reação foi realizada com 1 mL de TCA 20%, 0,65% de ácido tiobarbitúrico (TBA) e 0,01% de betahidroxitolueno (BHT). A estimativa da peroxidação lipídica foi medida a partir da leitura espectrofotômetro a 600, 440 e 532 nm para contabilização de interferentes.

Duas plântulas de cada repetição foram utilizadas para avaliação da fluorescência da clorofila *a*, que foi medida na última folha totalmente expandida, alocando-as juntas para preenchimento da área da pinça do fluorômetro modulado Mini-PAM (Heinz Walz, Effeltrich, Germany). Após aclimação no escuro por no mínimo 30 minutos, foi determinada a fluorescência inicial (F_0) e a fluorescência máxima (F_m), utilizando-se a luz de medição menor que $1,0\text{ }\mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ e pulso de luz saturante de $12000\text{ }\mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ por 0,8 segundos, respectivamente. A partir desses dados foi determinada a eficiência quântica máxima do PSII ($F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$) (GENTY; BAKER; BRIANTAIS, 1989).

3.4 Resistência à toxicidade de Cd induzida por *hidro* e *nanopriming* em plantas de arroz

Após os ensaios iniciais para determinação da concentração de Cd para contaminação do solo e concentração de FeNPs para o *nanopriming*, foi conduzido um experimento em casa de vegetação no *Campus* Florestal (UFV/CAF), em Florestal - MG, localizada à latitude $19^\circ 53' 22''$ sul, longitude de $44^\circ 25' 57''$ oeste, altitude 776 m, no período de setembro de 2020 a janeiro de 2021. De acordo com Köppen, a classificação do clima é Aw, cujo verão tem mais

pluviosidade que o inverno, com temperatura média de 21,5 °C e pluviosidade média de 1434 mm anual. Durante o período experimental a temperatura máxima, média e mínima dentro da casa de vegetação foi de 45,7; 36,5 e 15,8 ° C, respectivamente.

As cultivares IRGA 424 e IRGA417 foram submetidas a experimentos em arranjo fatorial 2 x 3 e 5 repetições, com duas condições de solo (contaminado com Cd e controle) e três condicionamentos de sementes (Tabela 1). O experimento foi distribuído em delineamento em blocos casualizados (DBC) com cada unidade experimental compostas por duas plantas, contabilizando 60 unidades experimentais (vasos).

Tabela 1 — Descrição do arranjo fatorial e tratamentos aplicados em cada uma das cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.). Sementes não submetidas ao *priming* – *unpriming*; sementes submetidas ao *hidropriming*; sementes submetidas ao *nanopriming* (100 mg L⁻¹ FeNPs).

Condição do Solo	Condicionamento da semente
Não contaminado	<i>Unpriming</i>
	<i>Hidropriming</i>
	<i>Nanopriming</i>
Contaminado 5,0 mg L ⁻¹ Cd(NO ₃) ₂	<i>Unpriming</i>
	<i>Hidropriming</i>
	<i>Nanopriming</i>

O solo utilizado foi coletado em área de várzea da Universidade Federal de Viçosa – *Campus* Florestal (UFV/CAF). A análise química foi feita a partir de uma amostra composta, de acordo com RIBEIRO; GUIMARÃES; ALVAREZ (1999). As propriedades químicas do solo foram então determinadas: pH = 6,27 (pH em água, KCl e CaCl – Relação 1:2,5), P = 29,2 mg dm⁻³, K = 262,0 mg dm⁻³ (P e K - extrator Mehlich-1), Ca²⁺ = 8,52 cmol_c dm⁻³, Mg²⁺ = 1,28 cmol_c dm⁻³, Al³⁺ = 0,0 cmol_c dm⁻³ (Ca²⁺, Mg²⁺ e Al³⁺ - extrator KCl 1 mol L⁻¹), H+Al = 2,1 cmol_c dm⁻³ (extrator de Acetato de Cálcio 0,5 mol L⁻¹ – pH 7,0), SB = 10,47 cmol_c dm⁻³ (soma de bases trocáveis), t = 10,47 cmol_c dm⁻³ (capacidade de troca catiônica efetiva), T = 12,57 cmol_c dm⁻³ (capacidade de troca catiônica a pH 7,0), V (índice de saturação por bases) = 83,3 %, m = 0,0 % e P-rem = 23,0 mg L⁻¹ (fósforo remanescente).

Para contaminação do substrato foi preparada uma solução estoque com Cd(NO₃)₂, na concentração de 5,0 mg L⁻¹, e aplicada no solo até a sua completa saturação, quando uma lâmina de solução de cerca de 2 mm formou-se na superfície dos vasos, dias antes da semeadura. Também foi determinada a capacidade de campo do solo (VEIHMEYER; HENDRICKSON,

1931) e então as sementes de arroz foram semeadas. A cobertura com lâmina de água entre 2,0 e 4,0 cm foi iniciada após o desbaste das plantas, ocorrido em V₃ e mantida durante todo o ciclo da planta, exceto durante a colheita dos grãos, quando 15 dias antes foi cortado o fornecimento de água nos vasos. A adubação foi feita de acordo com os resultados da análise de solo e necessidades da cultura, no momento da semeadura. A aplicação de nitrogênio foi feita na forma de ureia (NH⁴⁺), na semeadura e em cobertura, quando as plantas estavam em estágio V₆ (iniciação da panícula), conforme recomendação da Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado (SOSBAI, 2018).

Não houve necessidade de qualquer controle de insetos ao longo do experimento e o controle de plantas daninhas foi realizado por arranquio e posteriormente pelo controle da inundação dos vasos.

Foram semeadas dez sementes de arroz em vasos de 5,0; 10,0 e 20,0 litros utilizados para as coletas destrutivas à medida do desenvolvimento das plantas. Foi realizado o desbaste em V₃, permanecendo duas plantas por vaso. Em cada um dos seguintes estádios fenológicos: V₃ (início do perfilhamento), V₆ (após a adubação de cobertura), R₁ (diferenciação da panícula), R₄ (antese), R₇ (maturação fisiológica) e R₉ (colheita), as plantas foram avaliadas em relação ao crescimento. Foram avaliadas as variáveis: comprimento radicular, com régua graduada milimetrada, com resultados expressos em cm; área foliar, onde as lâminas foliares foram capturadas por câmera no dispositivo CamScan e logo em seguida medidas em software de imagens Image J, com resultados expressos em cm²; a massa seca da parte aérea (panículas e grãos), raiz e total, após, secagem das plantas em estufa com circulação de ar, a 70 °C. As plantas coletadas nos estádios R₇ e R₉ tiveram contabilizados também o número de panículas por planta e a massa de grãos por planta (12% de umidade/grãos).

As avaliações dos teores relativos de clorofila (clorofila total) foram feitas com auxílio do medidor portátil de clorofila ClorofiLOG (Falker, Brasil). A avaliação foi realizada na folha bandeira, no estágio reprodutivo R₁, através da média de três medidas realizadas na porção central folha.

As análises de trocas gasosas: assimilação líquida de CO₂ (*A*); condutância estomática (*g_s*), transpiração (*E*) e razão entre a concentração interna e externa de CO₂ (*C_i/C_a*) foram realizadas no estágio fenológico R₁ (antese), no terço médio da folha bandeira, para cada indivíduo, durante o período da manhã, entre 7 e 11:30 horas, com auxílio de um analisador de gases no infravermelho, modelo LI-6400xt (Li-Cor Inc., Lincoln, Nebraska, EUA). A luz foi

fornecida em uma densidade de fluxo de fótons fotossintéticos (DFFF) de $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, com área foliar (cm^2) corrigida de acordo com o tamanho das folhas. As avaliações foram realizadas com auxílio de sistema de controle de CO_2 (modelo 6400-01, Li-Cor Inc.), com concentração de $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$, taxa de fluxo de 500mmol s^{-1} e temperatura do bloco de 28°C .

Nas mesmas folhas em que foram feitas as medições de trocas gasosas, foram efetuadas medições das variáveis de fluorescência da clorofila *a*, com o auxílio de um fluorômetro de pulso modulado Mini-PAM (Heinz Walz, Effeltrich, Germany). Após aclimatação do tecido vegetal ao escuro por pelo menos 30 minutos, foram feitas medições da fluorescência inicial (F_0) e fluorescência máxima (F_m). Os valores obtidos foram utilizados para a determinação da eficiência quântica máxima do fotossistema II (PSII), (F_v/F_m) (GENTY; BAKER; BRIANTAIS, 1989), conforme descrito anteriormente. Após a determinação de F_v/F_m , o tecido vegetal foi exposto por 30 segundos à densidade de fluxo de fótons fotossintéticos (DFFF) de $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Após o período de iluminação foi aplicado um pulso de luz saturante, para a determinação das variáveis: F – fluorescência em *steadystate*, antes do pulso de luz saturante; F_m' – fluorescência máxima do tecido vegetal iluminado. Também foram calculadas as variáveis: $\phi\text{PSII} = (F_m' - F) / F_m'$ – rendimento quântico efetivo do PSII (GENTY; BAKER; BRIANTAIS, 1989); e $\text{NPQ} = F_m - F_m' / F_m'$ - coeficiente de dissipação não-fotoquímico (BILGER; BJÖRKMAN, 1990); $\text{ETR} = 0,5 \times \text{IA} \times \phi\text{PSII} \times \text{DFFF}$ – taxa de transporte de elétrons, em que 0,5 é a proporção de fótons destinado aos dois fotossistemas (MELIS *et al.*, 1987) e IA é a absorvância foliar.

Amostras de 0,100 g de folhas reduzidas a partículas menores que 1mm, com auxílio de moinho de facas de aço inox, para a determinação dos teores de Fe e Cd, através de digestão nitroperclórica. Ao material vegetal moído e pesado foram adicionados 10 mL da mistura de ácido nítrico (HNO_3) + ácido perclórico (HClO_4) na proporção 4:1 dentro de capela de exaustão. Inicialmente foi realizada a pré-digestão do material com a adição do HNO_3 em pernoite por 12 horas. O material pré-digerido foi levado em bloco digestor e quando atingiu a temperatura de 95°C foi acrescido o HClO_4 , logo em seguida a temperatura elevada gradativamente até atingir 165°C . Quando o extrato atingiu uma coloração cristalina suavemente amarelada, a solução foi retirada do bloco digestor para esfriar e posteriormente o volume foi completado com água deionizada para 25 mL (SARRUGE; HAAG, 1974). Os teores de Fe e Cd foram quantificados por espectrofotometria de absorção atômica (MALAVOLTA *et al.*, 1989).

3.5 Análise estatística

Todos os experimentos de caracterização da germinação e crescimento inicial foram conduzidos em DIC. Os níveis do fator quantitativo foram testados pela análise de regressão, verificando a significância do maior grau do polinômio e os níveis qualitativos foram avaliados por teste F, ANOVA, utilizando o software R (R CORE TEAM, 2021), pacote ExpDes.pt (FERREIRA; CAVALCANTI; NOGUEIRA, 2021). O experimento em casa de vegetação foi conduzido em DBC, em esquema fatorial 2 x 3 para cada cultivar, sendo duas condições de solo e três condições de *priming*, com 5 repetições. Para as variáveis morfológicas, os seis estádios fenológicos avaliados foram inseridos em sub-parcelas. Os testes estatísticos foram feitos por teste F (ANOVA) e quando significantes realizados os testes de média via teste Tukey a 5% de significância, utilizando-se o software de análises estatísticas R (R CORE TEAM, 2021), pacote ExpDes.pt (FERREIRA; CAVALCANTI; NOGUEIRA, 2021) para análise de todos os dados. Os gráficos foram construídos a partir do software Sigma Plot, versão 14.0 (SYSTAT SOFTWARE INC, 2017).

4 RESULTADOS

4.1 Condicionamento de sementes (*priming*) e efeitos do Cd e nanopartículas de óxido de Fe (FeNP) na germinação e no crescimento inicial de arroz

As sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) das cultivares IRGA424 e IRGA417, apresentaram germinação de 96,13 e 96,02 %, respectivamente, em substrato não contaminado por Cd (Figura 5 A e B). As sementes das cultivares IRGA424 e IRGA417 que não foram submetidas a condicionamento (*unprimed*, UP), demonstraram redução da porcentagem final de germinação à medida que a concentração de Cd aumentou, com valores de 43 e 41%, respectivamente, na concentração de 100 ppm (Figura 5 A e B). As sementes de ambas as cultivares quando submetidas ao condicionamento por *hidropriming* (HP) não apresentaram diferença significativa na porcentagem de germinação em todas as condições de contaminação do substrato (Figura 5 A e B).

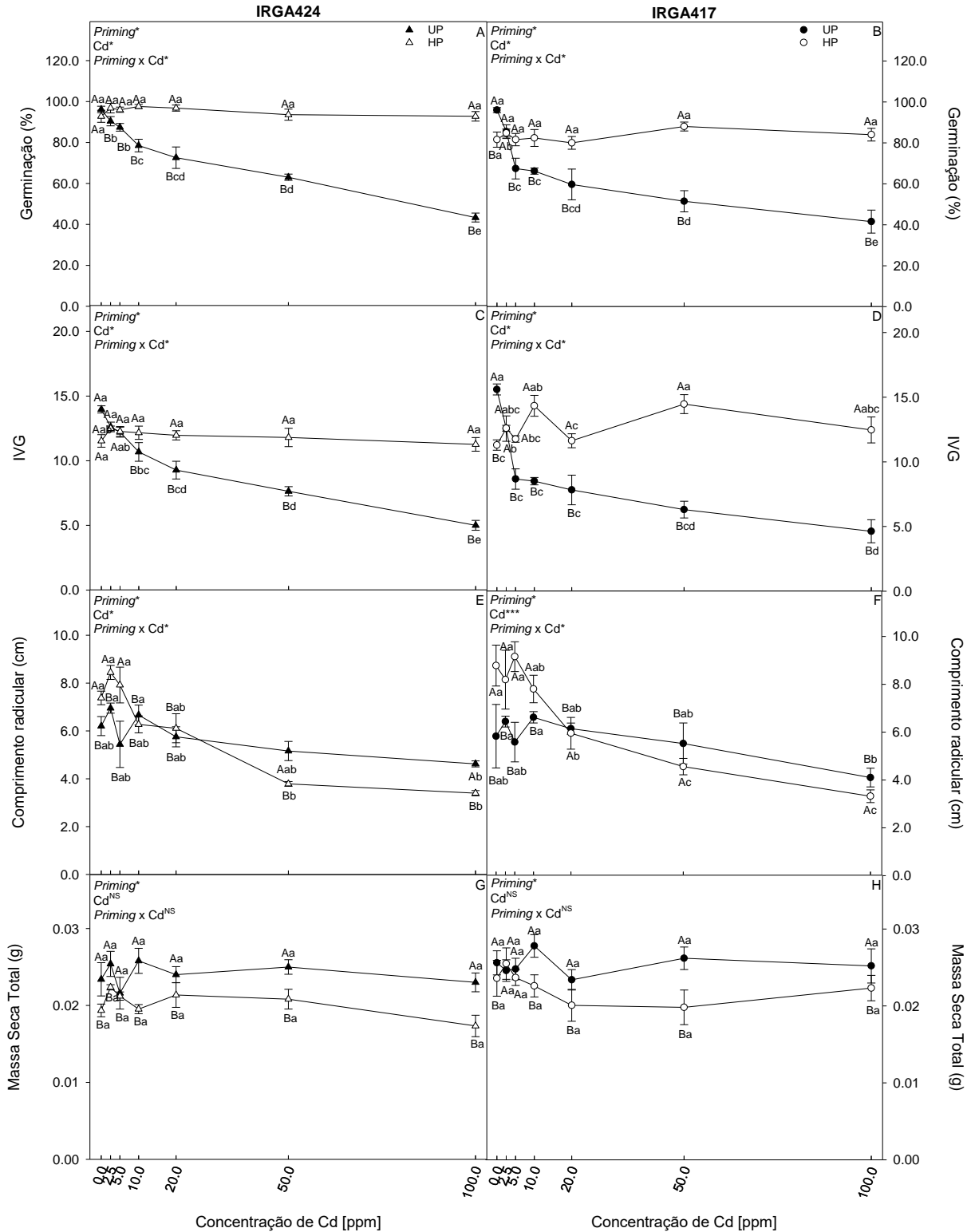
Ocorreu redução significativa do IVG das sementes UP em ambas as cultivares, à medida que as concentrações de Cd aumentaram (Figura 5 C e D). Para a cultivar IRGA424 não houve diferença para o IVG nas diferentes concentrações de Cd quando as sementes condicionadas ao HP (Figura 5 C). Já a cultivar IRGA417 apresentou variação no IVG nas sementes expostas ao HP, de acordo com o aumento nas concentrações de Cd, com o maior valor de IVG em 50,0 ppm de Cd no substrato (Figura 5 D).

As plântulas de ambas as cultivares oriundas de sementes HP, apresentaram os maiores valores de comprimento radicular nas concentrações de 0, 2,5 e 5,0 ppm de Cd em relação ao tratamento com UP. Entretanto, as plântulas advindas de sementes UP apresentaram os maiores comprimentos radiculares nas doses de 50,0 e 100,0 ppm de Cd, em relação ao tratamento HP (Figura 5 E e F).

As sementes expostas ao HP de ambas cultivares resultaram em plântulas com menor massa seca total (Figura 5 G e H) quando comparadas às das sementes UP. Porém, somente a cultivar IRGA417 nas condições de contaminação de vermiculita com 2,5 e 5,0 ppm de Cd apresentam valores iguais para massa seca total das plântulas oriundas de sementes UP e HP.

A partir desses resultados, foi determinada a concentração de 5,0 ppm Cd para contaminação dos substratos a serem usados em ensaios posteriores.

Figura 5 — Porcentagem de germinação (A e B), índice de velocidade de germinação (IVG) (C e D), comprimento radicular (E e F) e massa seca total de plântulas (G e H) das cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) IRGA424 e IRGA417 condicionadas ou não ao *hidropriming* (HP e UP, respectivamente) e semeadas em vermiculita sob diferentes concentrações de cádmio.



Os pontos indicam as médias e as barras o erro padrão de 5 (cinco) repetições. O asterisco (*) representa diferença significativa para os fatores isolados e a interação *Priming* x Cd no resumo da ANOVA e ^{NS} indica não

haver diferença significativa ($P < 0.05$). Letras maiúsculas comparam os tratamentos com condicionamento das sementes (UP e HP) e letras minúsculas comparam os efeitos das concentrações de Cd nos parâmetros obtidos em UP e HP isoladamente. Fonte: do autor (2021).

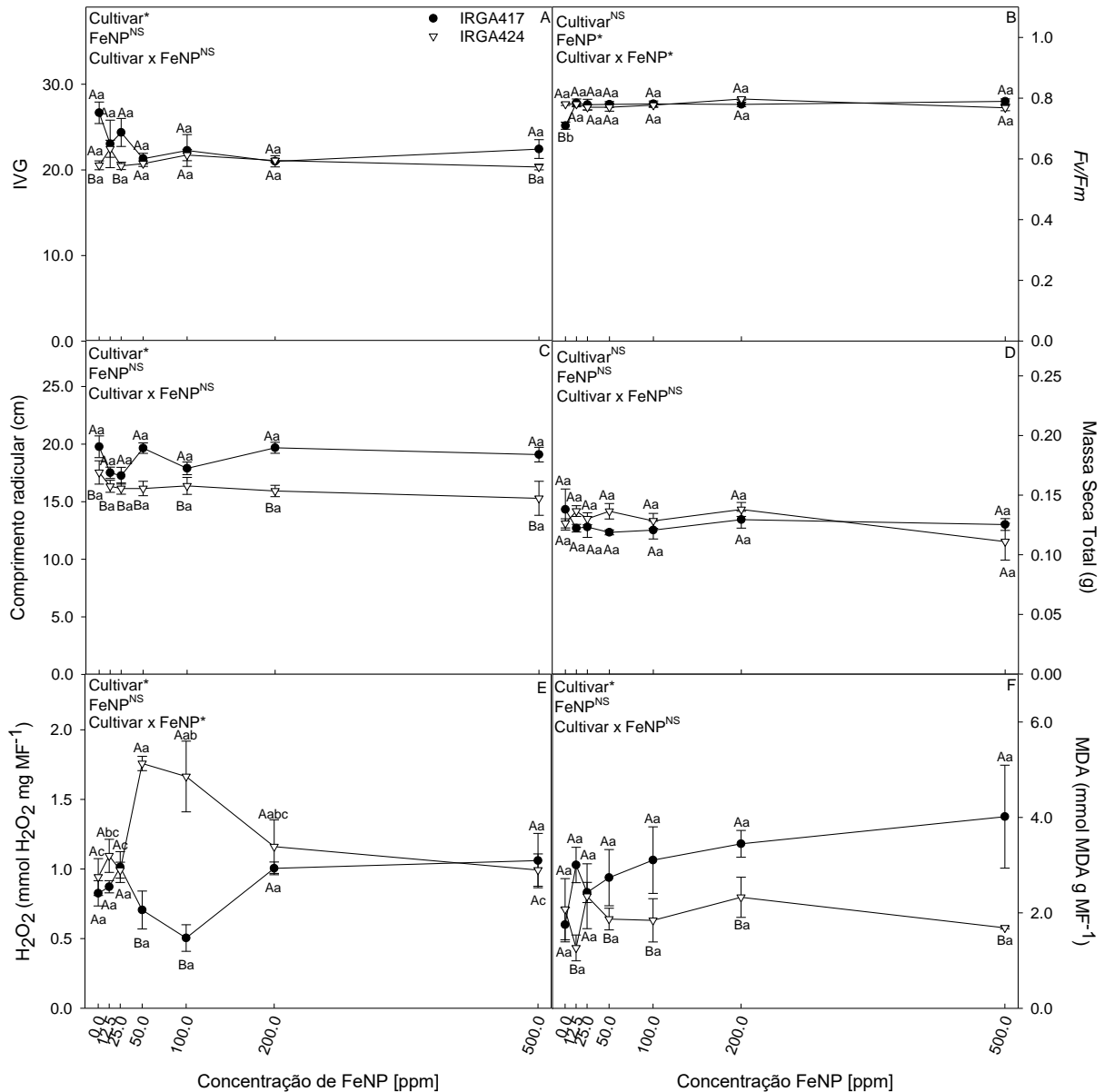
As sementes de ambas as cultivares foram semeadas em vermiculita contaminada com 5,0 ppm de Cd, após serem submetidas ao *nanopriming* (NP) com nanopartículas de óxido de ferro (FeNP) nas concentrações de 12,5 a 500,0 ppm e ao *hidropriming* (0 ppm de FeNP) (Figura 6).

O IVG foi significativamente diferente entre as cultivares IRGA424 e IRGA417 (Figura 6 A), com exceção das concentrações de 0 e 25,0 ppm de Fe. O rendimento quântico máximo do fotossistema II (Fv/Fm) nas folhas das plântulas oriundas de sementes HP (Figura 6 B) foi menor somente na cultivar IRGA417 na dose de 0 ppm em relação as demais concentrações de FeNP.

O comprimento radicular da cultivar IRGA417 foi maior em todas as concentrações de FeNP em relação à IRGA 424 (Figura 6 C). Não foram observadas diferenças significativas entre as concentrações de FeNP ou em relação à interação. A massa seca total das plântulas (Figura 6 D) não apresentou diferenças significativas em ambas as cultivares em quaisquer condições de aplicação de FeNP nas sementes.

As cultivares diferiram entre si no teor de H_2O_2 e MDA. Nas concentrações de 50,0 e 100,0 ppm de FeNP, em que a IRGA424 apresentou valores maiores de H_2O_2 dentre as concentrações de FeNP (Figura 6 E). Os teores de MDA foram maiores nas doses de 12,5 e 50,0 a 500,0 ppm de FeNP para a cultivar IRGA417 em relação à IRGA424 (Figura 6 F).

Figura 6 — Índice de velocidade de germinação (IVG) (A), rendimento quântico máximo do PSII (Fv/Fm) (B), comprimento radicular (C), massa seca total (D), peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (E) e peroxidação lipídica da membrana (MDA) (F) de plântulas das cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) IRGA424 e IRGA417 submetidas a *nanopriming* em diferentes concentrações de nanopartículas de óxido de ferro (FeNP) na presença de substrato contaminado por 5 ppm de Cd.



Os pontos indicam as médias e as barras o erro padrão de 5 (cinco) repetições. O asterisco (*) representa diferença significativa para os fatores isolados e a interação *Priming* x Cd no resumo da ANOVA e ^{NS} indica não haver diferença significativa ($P < 0.05$). Letras maiúsculas comparam as cultivares e letras minúsculas comparam os efeitos das concentrações de FeNP em cada cultivar.

Fonte: do autor (2021).

Com base nos resultados apresentados na Figura 6, foi determinada a concentração de 100,0 ppm de FeNP para o *nanopriming* das sementes de arroz (*Oryza sativa* L.).

4.2 Crescimento das plantas de arroz em substrato contaminado com Cd

Não houve diferença significativa na MST, AF e CR em função dos diferentes tratamentos com *priming* durante todo o crescimento das plantas da cultivar IRGA424. Contudo em relação à contaminação do solo, as plantas cultivadas em solo contaminado por Cd no estágio V₃, apresentaram MST, AF e CR maiores que as plantas cultivadas em solo controle, sendo o contrário observado no estágio R₇ para AF e no estágio R₉ para MST e CR. Em R₉ as plantas cultivadas em solo controle e expostas ao HP obtiveram MST até 62,34 % maior que aquelas cultivadas em solo contaminado por Cd (Tabela 2). O comprimento radicular das plantas do cultivar IRGA424 no solo contaminado por Cd foi menor para o tratamento UP e NP nos estádios R₁ e R₇, respectivamente (Tabela 2).

A cultivar IRGA417 apresentou diferença significativa em relação ao *priming* das sementes nos estádios de desenvolvimento vegetativo avaliados (V₃ e V₆), porém não resultou em diferenças significativas nos estádios reprodutivos. Plantas advindas de sementes condicionadas ao NP apresentaram os menores valores de MST no estágio V₃, independentemente da contaminação do solo, porém a presença de Cd no solo reduziu a MST neste tratamento. Em V₆ os maiores valores de MST foram obtidos nas plantas de sementes UP, principalmente quando cultivadas na presença de Cd no solo, com MST maior quando comparado ao controle (Tabela 2). As plantas da cultivar IRGA417 quando obtidas sem condicionamento das sementes (UP), em solo contaminado por Cd apresentam os menores valores de MST nos estádios R₁ e R₇. Em R₉, as plantas obtidas sem condicionamento das sementes (UP) apresentaram maior MST quando cultivadas em solo contaminado por Cd. As plantas oriundas de sementes com os demais tratamentos de *priming* (HP e NP) apresentaram maior massa quando cultivadas em solo controle (Tabela 2).

Ao longo do desenvolvimento as plantas da cultivar IRGA424 oriundas das sementes UP e HP acumularam maior MST em R₉, independentemente da contaminação do solo por Cd. Entretanto quando submetidas a NP, as plantas cultivadas em solo contaminado por Cd obtiveram as maiores MST em R₉ e R₄. A cultivar IRGA417 quando oriundas de sementes UP e cultivadas em solo não contaminado por Cd acumularam maior MST em R₄, R₇ e R₉. Ao serem cultivadas em solo contaminado, a maior MST das plantas de sementes UP foi em R₉.

Nos condicionamentos HP e NP as maiores MST foram em R₉, independentemente da contaminação do solo.

A AF da cultivar IRGA417 apresentou maiores valores no estágio R₄ (florescimento) para as plantas oriundas do condicionamento com NP, seguido por HP e UP, independentemente das concentrações de Cd no solo. No estágio V₃, as plantas obtidas após o HP apresentaram maiores AF em condições de solo contaminado, sendo em NP o oposto. A AF das plantas no estágio V₆ foi maior quando cultivadas em solo contaminado por Cd, independente do *priming*, sendo o oposto do que observou-se em R₁. Ao longo do desenvolvimento, a maior AF foi observada em R₄ para ambas as cultivares, seguidas por R₁ e R₇, e com os menores valores em V₆ e V₃, respectivamente e independentemente do *priming* e contaminação do solo (Tabela 2).

Os maiores valores de CR foram observados para a cultivar IRGA417 exposta ao HP, seguidas por UP e NP, independente da contaminação do solo. Os maiores CR das plantas oriundas da cultivar IRGA417, independente da contaminação do solo e *priming*, foram observados em R₇ e decrescendo até V₃, ao longo do crescimento. Já as plantas da cultivar IRGA424 quando em NP e solo contaminado por Cd, atingiram o maior CR a partir de V₆. Em UP, solo não contaminado, os maiores dados de CR ocorreram em V₆ e R₇, ao longo do crescimento. O estágio R₇ representou o maior CR para a cultivar IRGA417 nas condições de UP, solo contaminado, HP, independentemente da contaminação do solo e NP, solo não contaminado (Tabela 2).

Tabela 2 — Massa seca total (MST), área foliar (AF) e comprimento radicular (CR) das cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) IRGA424 e IRGA417 em diferentes estádios fenológicos.

MST (g)							
Cultivar	Estádio	UP		HP		NP	
		Cd[0.0]	Cd[5.0]	Cd[0.0]	Cd[5.0]	Cd[0.0]	Cd[5.0]
IRGA424	V ₃	0.043 ^{Ae*}	0.068 ^{Ae*}	0.058 ^{Ae*}	0.061 ^{Ae*}	0.050 ^{Ae*}	0.069 ^{Ae*}
	V ₆	0.593 ^{Ad}	0.978 ^{Ad}	0.894 ^{Ad}	0.887 ^{Ad}	0.808 ^{Ad}	0.902 ^{Ad}
	R ₁	4.957 ^{Ac}	5.217 ^{Ac}	3.397 ^{Ac}	2.913 ^{Ac}	4.049 ^{Ac}	4.755 ^{Ac}
	R ₄	34.453 ^{Ab}	36.459 ^{Aab}	47.968 ^{Ab}	38.284 ^{Ab}	47.584 ^{Ab}	80.901 ^{Aa}
	R ₇	43.622 ^{Ab}	41.352 ^{Aab}	46.494 ^{Ab}	50.576 ^{Ab}	42.049 ^{Ab}	23.492 ^{Ab}
	R ₉	70.151 ^{Aa*}	64.394 ^{Aa*}	112.170 ^{Aa*}	69.926 ^{Aa*}	105.461 ^{Aa*}	54.679 ^{Aa*}
IRGA417	V ₃	0.077 ^{Ad}	0.070 ^{Ae}	0.062 ^{Ae}	0.077 ^{Ae}	0.061 ^{Be*}	0.039 ^{Be*}
	V ₆	0.867 ^{Ac*}	1.435 ^{Ad*}	0.824 ^{ABd*}	1.336 ^{ABd*}	0.652 ^{Bd*}	0.812 ^{Bd*}
	R ₁	6.492 ^{Ab*}	4.466 ^{Ac*}	4.630 ^{Ac}	5.434 ^{Ac}	5.358 ^{Ac}	5.320 ^{Ac}
	R ₄	41.100 ^{Aa}	38.732 ^{Ab}	23.458 ^{Ab}	27.732 ^{Ab}	37.123 ^{Ab}	34.536 ^{Ab}
	R ₇	51.360 ^{Aa*}	23.799 ^{Ab*}	36.681 ^{Ab}	36.482 ^{Ab}	35.308 ^{Ab}	42.140 ^{Ab}
	R ₉	82.602 ^{Aa*}	91.773 ^{Aa*}	108.900 ^{Aa*}	65.948 ^{Aa*}	104.171 ^{Aa*}	77.284 ^{Aa*}
AF (cm ²)							
IRGA424	V ₃	6.58 ^{Ad*}	11.90 ^{Ad*}	9.20 ^{Ad*}	11.34 ^{Ad*}	8.13 ^{Ad*}	11.57 ^{Ad*}
	V ₆	77.98 ^{Ac}	150.34 ^{Ac}	176.35 ^{Ac}	150.51 ^{Ac}	116.25 ^{Ac}	153.67 ^{Ac}
	R ₁	521.44 ^{Ab}	550.53 ^{Ab}	530.06 ^{Ab}	415.21 ^{Ab}	396.76 ^{Ab}	477.06 ^{Ab}
	R ₄	946.74 ^{Aa}	792.51 ^{Aa}	993.47 ^{Aa}	1183.52 ^{Aa}	951.69 ^{Aa}	844.58 ^{Aa}
	R ₇	463.16 ^{Ab*}	332.45 ^{Ab*}	495.00 ^{Ab*}	407.39 ^{Ab*}	562.19 ^{Ab*}	236.40 ^{Ab*}
IRGA417	V ₃	11.92 ^{Ad}	12.60 ^{Ad}	9.12 ^{Ad*}	13.38 ^{Ad*}	10.97 ^{Ad*}	7.17 ^{Ad*}
	V ₆	116.81 ^{Ac*}	180.40 ^{Ac*}	121.61 ^{Ac*}	181.30 ^{Ac*}	97.43 ^{Ac*}	111.38 ^{Ac*}
	R ₁	499.54 ^{Ab*}	301.02 ^{Ab*}	587.92 ^{Ab*}	381.84 ^{Ab*}	497.16 ^{Ab*}	362.41 ^{Ab*}
	R ₄	783.26 ^{Ba}	717.96 ^{Ba}	794.96 ^{ABa}	846.33 ^{ABa}	1153.78 ^{Aa}	1113.12 ^{Aa}
	R ₇	479.24 ^{Ab}	301.52 ^{Ab}	433.61 ^{Ab}	386.19 ^{Ab}	295.80 ^{Ab}	409.29 ^{Ab}
Cp Raiz (cm)							
IRGA424	V ₃	6.88 ^{Ac*}	11.64 ^{Ac*}	6.76 ^{Ac*}	10.96 ^{Ac*}	6.50 ^{Ac*}	9.97 ^{Ab*}
	V ₆	21.38 ^{Aab}	18.02 ^{Ab}	18.68 ^{Ab}	18.48 ^{Aab}	17.46 ^{Ab}	19.98 ^{Aa}
	R ₁	19.94 ^{Ab*}	15.70 ^{Abc*}	17.56 ^{Ab}	16.04 ^{Abc}	17.10 ^{Ab}	17.96 ^{Aa}
	R ₄	16.00 ^{Ab}	19.60 ^{Ab}	21.00 ^{Aab}	19.00 ^{Aab}	19.20 ^{Ab}	18.70 ^{Aa}
	R ₇	26.20 ^{Aa}	25.80 ^{Aa}	25.50 ^{Aa}	24.46 ^{Aa}	29.00 ^{Aa*}	22.30 ^{Aa*}
IRGA417	V ₃	8.41 ^{ABd}	7.47 ^{ABd}	9.52 ^{Ad}	9.15 ^{Ad}	7.14 ^{Bd}	6.41 ^{Bd}
	V ₆	15.46 ^{Ac*}	20.48 ^{Ab*}	17.26 ^{Ac*}	20.26 ^{Ab*}	15.82 ^{Ac*}	19.00 ^{Ab*}
	R ₁	16.32 ^{Ac}	15.56 ^{Ac}	16.40 ^{Ac}	17.06 ^{Ac}	16.88 ^{Ac}	16.48 ^{Ac}
	R ₄	19.30 ^{Ab}	18.10 ^{Abc}	19.40 ^{Ab}	17.20 ^{Abc}	21.00 ^{Ab}	20.70 ^{Abc}
	R ₇	22.70 ^{Aa}	26.00 ^{Aa}	26.60 ^{Aa}	25.70 ^{Aa}	21.00 ^{Aa}	25.00 ^{Aa}

Legenda: Os dados representam as médias de 5 (cinco) repetições. Sendo as sementes UP aquelas não submetidas ao *priming*, HP submetidas ao *hidropriming* e NP as sementes submetidas ao *nanopriming* (100,0 ppm de FeNP); Cd[0,0] indica o solo não contaminado e Cd[5,0] faz referência ao solo contaminado por 5,0 ppm de Cd. O asterisco (*) compara as médias dos parâmetros obtidos pela contaminação do solo por Cd, letras maiúsculas comparam as médias dos parâmetros obtidos entre os

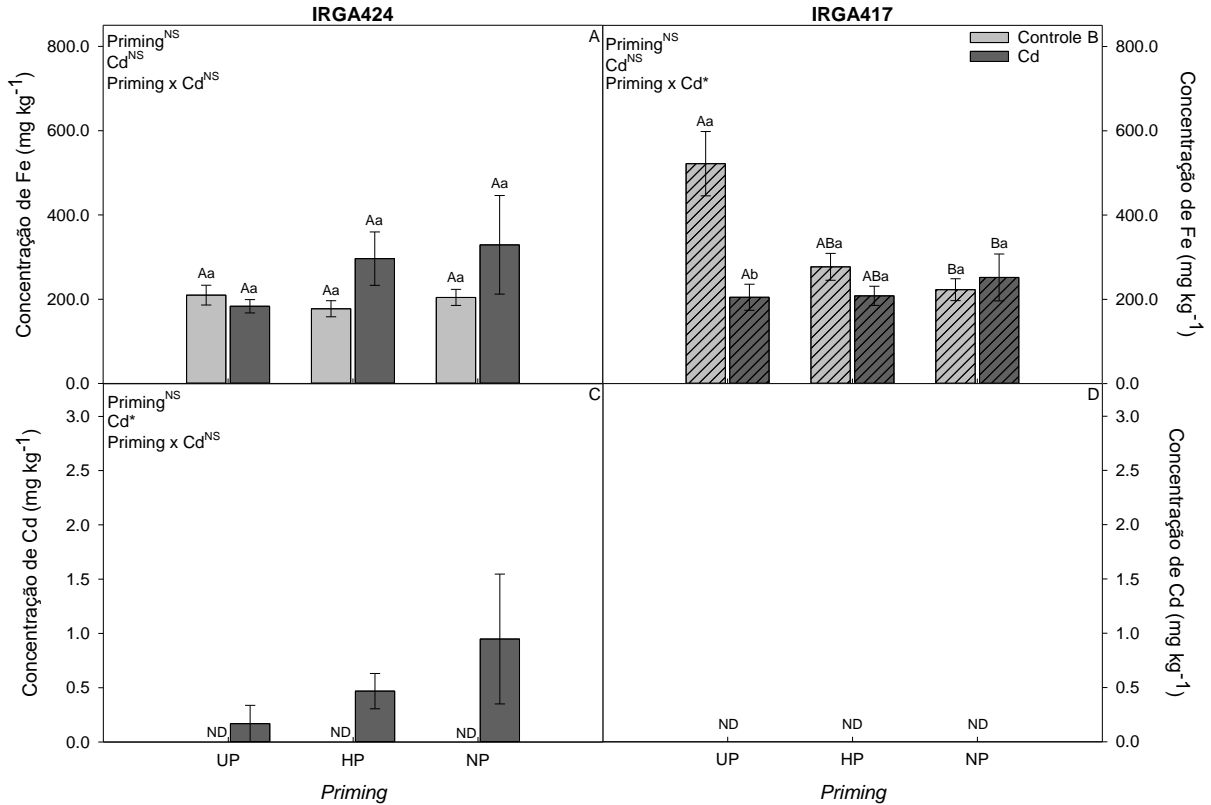
condicionamentos das sementes (*priming*) em cada cultivar e letras minúsculas comparam as médias dos parâmetros obtidos ao longo do desenvolvimento das plantas em UP, HP e NP isoladamente para as condições de contaminação ou não do solo. Fonte: do autor (2021).

4.3 Teores de ferro e cádmio em plantas de arroz

Os teores de Fe na cultivar IRGA424 não diferiram entre os tipos de *priming* e as condições de contaminação do solo (Figura 7 A). Os maiores teores de Fe foram verificados em plantas da cultivar IRGA417 sem condicionamento das sementes (UP) e cultivadas em solo controle (Figura 7 B).

Os teores de Cd somente foram detectados na cultivar IRGA424 quando cultivada em solo contaminado, sem diferenças significativas entre as condições de *priming* (Figura 7 C e D).

Figura 7 — Teores de ferro (A e B) e cádmio (C e D) nas folhas das cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) IRGA424 (A e C) e IRGA417 (B e D) em estágio reprodutivo R₁, obtidas após condicionamento das sementes em *hidropriming* (HP), *nanopriming* (NP) e sem condicionamento (UP) e cultivadas em solo sem contaminação por Cd (Controle) e contaminado por 5 ppm de Cd (Cd).

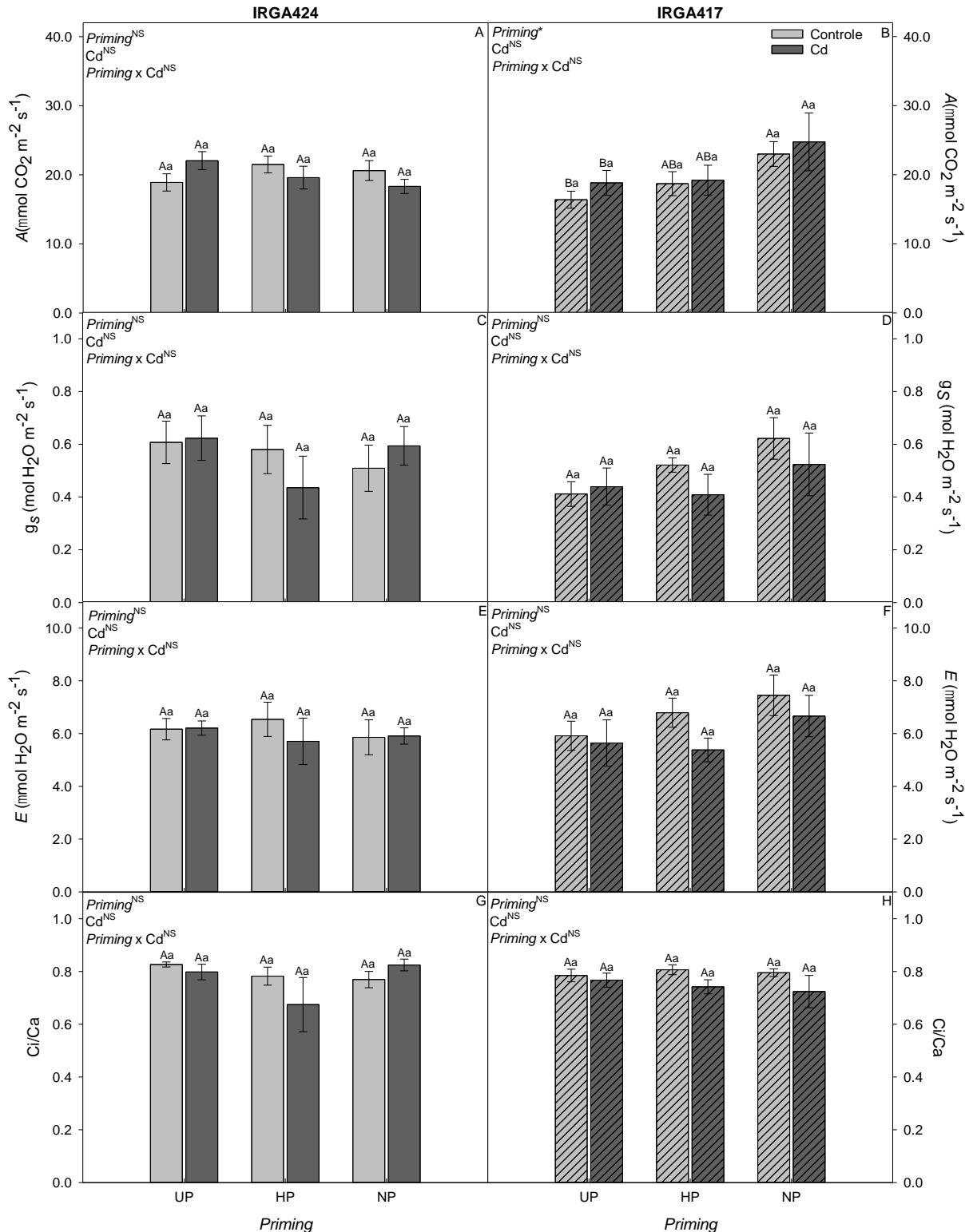


Colunas indicam as médias e as barras o erro padrão de 5 (cinco) repetições. O asterisco (*) representa diferença significativa para os fatores isolados e a interação *Priming* x Cd no resumo da ANOVA e ^{NS} indica não haver diferença significativa ($P < 0.05$). Letras maiúsculas comparam as médias dos parâmetros obtidos entre os condicionamentos, sendo eles UP (sementes não submetidas ao *priming*), HP (sementes submetidas a *hidropriming*) e NP (sementes submetidas a *nanopriming*) em cada cultivar; letras minúsculas comparam as médias dos parâmetros obtidos em UP, HP e NP isoladamente de acordo com contaminação ou não do solo por Cd. Fonte: do autor (2021).

4.4 Alterações fotossintéticas em plantas de arroz em substrato contaminado com Cd

A taxa fotossintética da cultivar IRGA424 não foi afetada pelos tratamentos (Figura 8 A). As condições de *priming* ocasionaram alterações significativas somente na cultivar IRGA417, que apresentou maior A nas plantas oriundas do NP, seguidas por HP e UP, independente da contaminação do solo por Cd (Figura 8 B). Não foram observadas diferenças significativas em função do *priming* e da contaminação do solo com Cd para as demais variáveis de trocas gasosas (Figura 8 C, D, E, F, G e H).

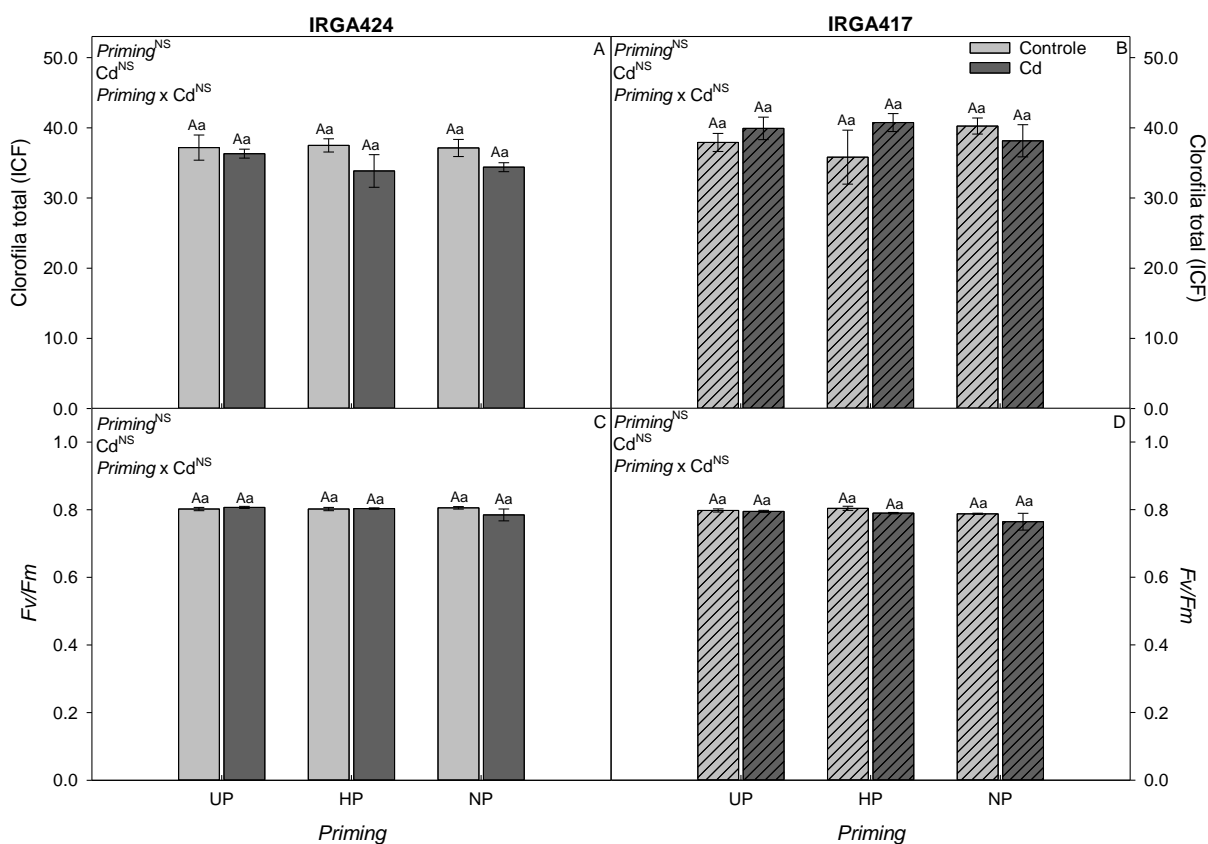
Figura 8 — Fotossíntese líquida A (A e B), condutância estomática g_s (C e D), transpiração foliar E (E e F) e razão CO_2 interno/ambiente (Ci/Ca) (G e H) nas folhas das cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) IRGA424 (A e C) e IRGA417 (B e D) em estágio reprodutivo R_1 , obtidas após condicionamento das sementes em *hidropriming* (HP), *nanopriming* (NP) e sem condicionamento (UP) e cultivadas em solo sem contaminação por Cd (Controle) e contaminado por 5 ppm de Cd.



Colunas indicam as médias e as barras o erro padrão de 5 (cinco) repetições. O asterisco (*) representa diferença significativa para os fatores isolados e a interação *Priming* x Cd no resumo da ANOVA e ^{NS} indica não haver diferença significativa ($P < 0.05$). Letras maiúsculas comparam as médias dos parâmetros obtidos entre os condicionamentos, sendo eles UP (sementes não submetidas ao *priming*), HP (sementes submetidas a *hidropriming*) e NP (sementes submetidas a *nanopriming*) em cada cultivar; letras minúsculas comparam as médias dos parâmetros obtidos em UP, HP e NP isoladamente de acordo com contaminação ou não do solo por Cd. Fonte: do autor (2021).

Não houve diferenças significativas para os índices de clorofila total (Figura 9 A e B), rendimento quântico máximo do PSII (Figura 9 C e D), rendimento quântico efetivo do PSII (ϕ_{PSII}) (Figura 10 A e B), taxa de transporte de elétrons (ETR) (Figura 10 C e D) e *quenching* não-fotoquímico (NPQ) (Figura 10 E e F), nas cultivares de arroz em função das diferentes condições de *priming* e da contaminação do solo com Cd.

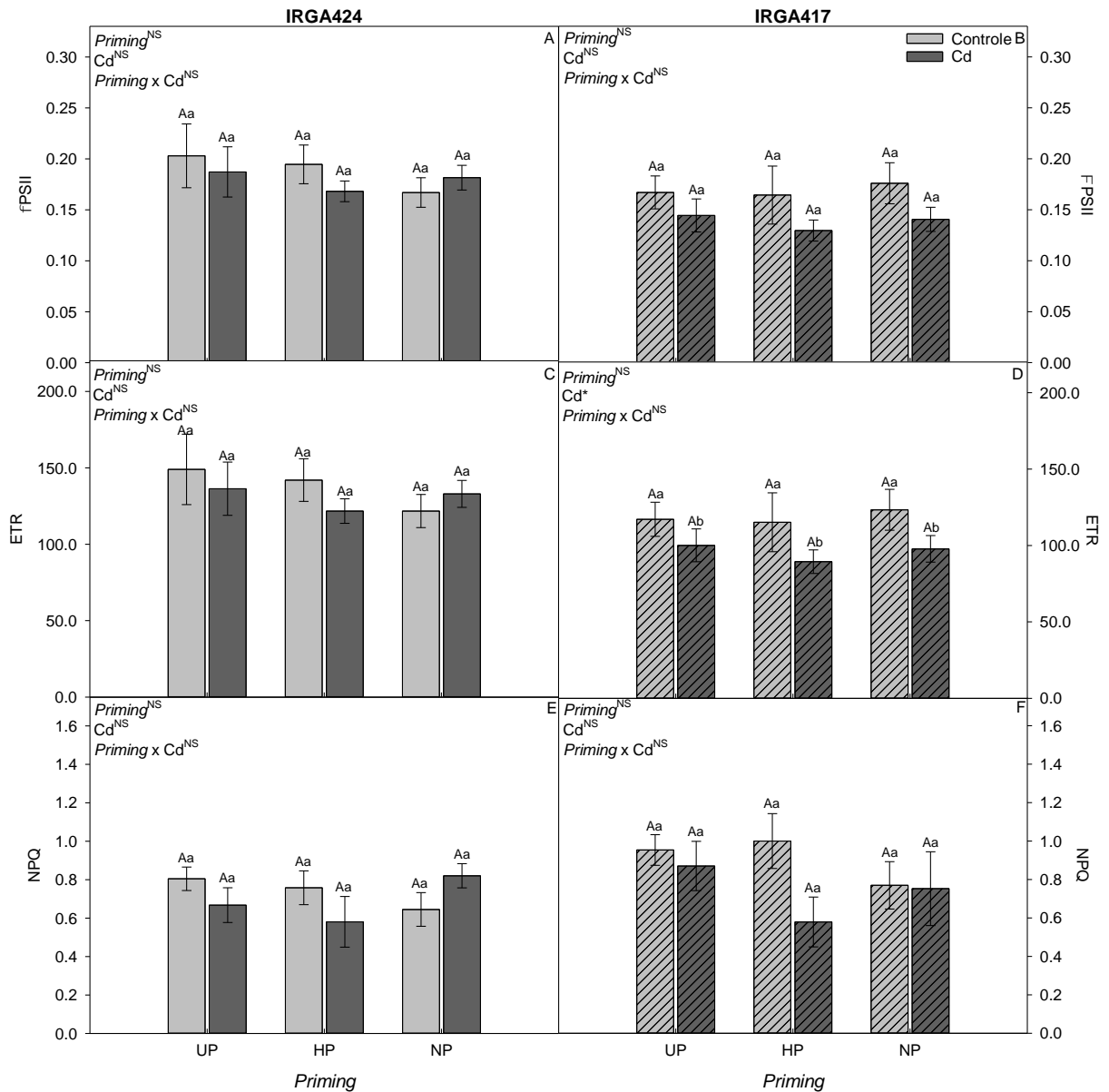
Figura 9 — Índice de clorofila total (A e B) e rendimento quântico máximo do PSII (F_v/F_m) (C e D) nas folhas das cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) IRGA424 (A e C) e IRGA417 (B e D) em estágio reprodutivo R₁, obtidas após condicionamento das sementes em *hidropriming* (HP), *nanopriming* (NP) e sem condicionamento (UP) e cultivadas em solo sem contaminação por Cd (Controle) e contaminado por 5 ppm de Cd.



ICF – índice de clorofila Falker. Colunas indicam as médias e as barras o erro padrão de 5 (cinco) repetições. O asterisco (*) representa diferença significativa para os fatores isolados e a interação *Priming* x Cd no resumo da ANOVA e ^{NS} indica não haver diferença significativa ($P < 0.05$). Letras

maiúsculas comparam as médias dos parâmetros obtidos entre os condicionamentos, sendo eles UP (sementes não submetidas ao *priming*), HP (sementes submetidas a *hidropriming*) e NP (sementes submetidas a *nanopriming*) em cada cultivar; letras minúsculas comparam as médias dos parâmetros obtidos em UP, HP e NP isoladamente de acordo com contaminação ou não do solo por Cd. Fonte: do autor (2021).

Figura 10 — Rendimento quântico efetivo do PSII (Φ PSII) (A e B), taxa de transporte de elétrons (ETR) (C e D) e *quenching* não-fotoquímico (NPQ) (E e F) nas folhas das cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) IRGA424 (A e C) e IRGA417 (B e D) em estágio reprodutivo R₁, obtidas após condicionamento das sementes em *hidropriming* (HP), *nanopriming* (NP) e sem condicionamento (UP) e cultivadas em solo sem contaminação por Cd (Controle) e contaminado por 5 ppm de Cd.



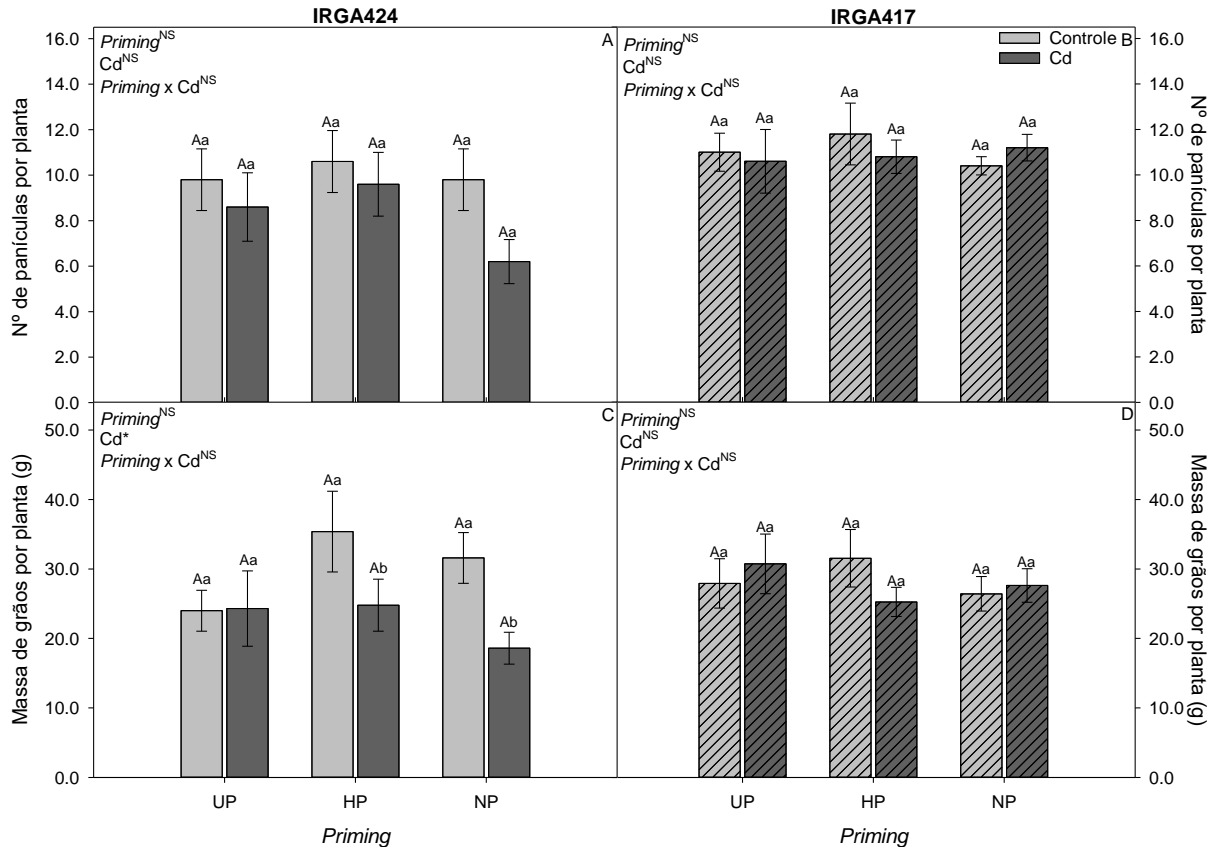
Colunas indicam as médias e as barras o erro padrão de 5 (cinco) repetições. O asterisco (*) representa diferença significativa para os fatores isolados e a interação *Priming* x Cd no resumo da ANOVA e ^{NS} indica não haver diferença significativa ($P < 0.05$). Letras maiúsculas comparam as médias dos parâmetros obtidos entre os condicionamentos, sendo eles UP (sementes não submetidas ao *priming*),

HP (sementes submetidas a *hidropriming*) e NP (sementes submetidas a *nanopriming*) em cada cultivar; letras minúsculas comparam as médias dos parâmetros obtidos em UP, HP e NP isoladamente de acordo com contaminação ou não do solo por Cd. Fonte: do autor (2021).

4.5 Produtividade de cultivares de arroz oriundos de tratamentos com *priming* e cultivados em solo contaminado com Cd

A cultivar IRGA417 apresentou maior número de panículas por planta em relação a IRGA424 (Figura 11 A e B), porém sem diferenças na massa de grãos por planta (Figura 11 C e D). A cultivar IRGA424 apresentou menores valores de massa de grãos por planta em solo contaminado, somente na condição de *hidropriming* e *nanopriming* (Figura 11 C). A cultivar IRGA417 não apresentou diferenças significativas para a massa de grãos por planta em quaisquer condições de *priming* e contaminação do solo (Figura 11 D).

Figura 11 — Número de panículas por planta (A e B) e massa de grãos por planta (C e D) das cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) IRGA424 (A e C) e IRGA417 (B e D), obtidas após condicionamento das sementes em *hidropriming* (HP), *nanopriming* (NP) e sem condicionamento (UP) e cultivadas em solo sem contaminação por Cd (Controle) e contaminado por 5 ppm de Cd.



Colunas indicam as médias e as barras o erro padrão de 5 (cinco) repetições. O asterisco (*) representa diferença significativa para os fatores isolados e a interação *Priming* x Cd no resumo da ANOVA e ^{NS} indica não haver diferença significativa ($P < 0.05$). Letras maiúsculas comparam as médias dos parâmetros obtidos entre os condicionamentos, sendo eles UP (sementes não submetidas ao *priming*), HP (sementes submetidas a *hidropriming*) e NP (sementes submetidas a *nanopriming*) em cada cultivar; letras minúsculas comparam as médias dos parâmetros obtidos em UP, HP e NP isoladamente de acordo com contaminação ou não do solo por Cd. Fonte: do autor (2021).

5 DISCUSSÃO

A toxicidade do Cd nos solos cultivados com arroz constitui uma séria ameaça à saúde humana através de sua transferência na cadeia alimentar e potencial magnificação trófica. A minimização da absorção dos elementos traço é uma demanda urgente durante o cultivo de arroz e o condicionamento de sementes pode ser uma ferramenta importante para uma germinação rápida e um estabelecimento de estande homogêneo. O uso de tecnologias como o *nanopriming* pode ser capaz de atingir os objetivos de mitigação da toxicidade por Cd e aumento da produtividade, principalmente na cultivar IRGA424, contudo o uso de *hidropriming* já seria suficiente para alcançar a proposta, sem deixar o procedimento mais dispendioso técnica e financeiramente.

Sementes com alto percentual germinativo e IVG, como apresentado pelas cultivares IRGA424 e IRGA417 em condições controle (Figura 5 A, B, C e D), são essenciais para uma rápida emergência e estabelecimento uniforme em campo (VENTURA *et al.*, 2012). Contudo, a queda gradativa no percentual germinativo e no IVG apresentado por ambas as cultivares ao serem semeadas em substrato com diferentes concentrações de Cd e no tratamento UP relaciona-se diretamente com o aumento da concentração de Cd na vermiculita. Os resultados obtidos vão ao encontro das informações verificadas por YIN *et al.* (2018), quando sementes de arroz apresentaram quedas significativas na germinação na presença de Cd. Essa diminuição pode estar relacionada com o aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) capazes de alterar a homeostase e interferirem de forma negativa no processo germinativo (HUSSAIN *et al.*, 2019; RIZWAN *et al.*, 2016a).

As sementes necessitam de um metabolismo eficiente na remobilização de reservas, síntese *de novo* de DNA e mRNA e sistema antioxidante, durante os primeiros momentos do processo pré-germinativo e o *hidropriming* foi capaz de mitigar os efeitos da contaminação do substrato por diferentes concentrações de Cd (0 a 100 mg L⁻¹ Cd(NO₃)₂). O *hidropriming* é uma eficaz ferramenta na melhoria da tolerância a estresses, pois induz os processos de reparo do

DNA e respostas do sistema antioxidante associado ao metabolismo pré-germinativo, refletindo na homogeneidade da germinação e emergência, o que também beneficia o estabelecimento inicial do estande de plantas (BHUSAL; THAKUR, 2020).

Além dos efeitos na germinação, o maior comprimento radicular das plântulas do tratamento HP indica maior vigor dessas plantas, mesmo em condições de substrato contaminado, ainda que o Cd afete de forma negativa o crescimento radicular das plantas de arroz (RIZWAN et al., 2016a; SONG et al., 2015). Trabalhos realizados com sementes de trigo por Gao *et al.* (2019), sem nenhum condicionamento, indicaram uma redução no comprimento radicular das plântulas expostas à concentração de 5,0 ppm de Cd, corroborando os dados verificados nas plântulas de sementes UP. O fato de apresentarem maior comprimento radicular não se refletiu na MST das plântulas de sementes HP, o que pode ser em função do *trade-off* energético, pelo possível investimento em reparo e metabolismo antioxidante induzido pelo *priming* ao invés de ganho de biomassa. Já a maior MST nas plântulas de sementes UP pode ser contribuição direta da massa seca de suas raízes, que também apresentaram maior espessura em relação às plântulas de sementes HP, de acordo com caracterização visual.

Tendo em vista a eficiência do *hidropriming* na redução dos efeitos negativos do Cd no processo de germinação e estabelecimento inicial das plântulas, foram avaliados os efeitos do *nanopriming* nas sementes das mesmas cultivares. O *nanopriming* com FeNP também contribuiu para a redução dos efeitos do Cd na germinação das sementes, como observados pelos resultados de IVG (Figura 6 A). Contudo, esse aumento pode estar relacionado aos mesmos efeitos do condicionamento por água (*hidropriming*), já que as sementes HP apresentaram IVG igual às demais sementes em diferentes concentrações de FeNPs, além disso a germinação de sementes de trigo também não apresentou diferenças significativas quando em concentrações de até 100 ppm de FeNPs (SUNDARIA *et al.*, 2019).

A diferença na resposta de Fv/Fm das plântulas HP da cultivar IRGA417 (Figura 6 B), pode estar relacionada com o menor conteúdo de clorofila total apresentado por elas (dados não apresentados). A perda de pigmentos é uma das respostas à toxicidade por Cd, devido à redução da biossíntese de clorofila, além da substituição do Mg^{2+} na molécula (SEBASTIAN; PRASAD, 2014; WANG *et al.*, 2014). A deficiência de Fe desencadeada pela toxicidade do Cd também pode levar a fotodano, já que nos cloroplastos as proteínas heme e Fe-enxofre são essenciais na cadeia transportadora de elétrons (KOBAYASHI; NOZOYE; NISHIZAWA, 2019).

Com o aumento das concentrações de FeNP fornecidas pelo NP, a cultivar IRGA417, sensível à toxicidade por Fe, apresentou comprimento radicular maior e MST igual a cultivar IRGA424. O menor crescimento radicular da cultivar IRGA424 pode estar justamente relacionado ao seu metabolismo tolerante à toxicidade por Fe, que requer mais investimento energético nesses mecanismos. A maior MST da cultivar IRGA 417 (sensível ao Fe) indica que o Fe fornecido pelas FeNPs não foi suficiente para causar toxicidade nas plantas, visto que o teor de Fe nas folhas ficou abaixo do limite considerado fitotóxico para o arroz (500 mg kg^{-1}) (DOBERMANN *et al.*, 2000; SAHRAWAT *et al.*, 1996). Já que o Cd pode atuar na supressão da absorção de Fe pelas plantas, o fornecimento de Fe a plantas cultivadas em ambiente contaminado por Cd leva ao maior acúmulo de pigmentos fotossintetizantes, beneficiando a fotossíntese e incrementando o seu crescimento (SIEDLECKA; KRUPA, 1999).

Durante o processo de reidratação há produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) em diferentes compartimentos celulares, derivando, por exemplo, da degradação de lipídeos e respiração mitocondrial (VENTURA *et al.*, 2012). Em concentrações elevadas as FeNPs podem levar a um incremento na produção radicais livres hidroxilas por meio da reação de Fenton e ocasionar danos oxidativos (CHEN *et al.*, 2012). Entretanto, apesar do maior acúmulo de H_2O_2 nas plântulas NP da cultivar IRGA424, nas concentrações entre 50,0 e 200,0 ppm FeNP, em relação à cultivar IRGA417, não houve um maior dano oxidativo nesses mesmos indivíduos (Figura 6 E e F). O estresse oxidativo pode ocorrer não somente sob excesso de Fe, mas também sob a sua deficiência, já que a atividade de algumas enzimas envolvidas na eliminação e controle das EROS podem sofrer redução nessas condições (KOBAYASHI; NOZOYE; NISHIZAWA, 2019). O aumento significativo de MDA nas plântulas NP da cultivar IRGA417, suscetível à toxicidade por Fe, quando comparada à cultivar IRGA424, sugerem que as EROS podem ter sido geradas pelo aumento na concentração de FeNP e não somente pelo Cd presente no substrato.

A absorção do Cd e translocação pela planta está associado a íons metálicos como o Fe (URAGUCHI; FUJIWARA, 2012). De forma geral, o Cd é absorvido pelas raízes e translocado para parte aérea via xilema (SEBASTIAN; PRASAD, 2014), sendo então redirecionado via floema para folhas e grãos (URAGUCHI; FUJIWARA, 2012). Sabe-se também que suas concentrações nas diferentes cultivares de arroz podem variar, onde parte do elemento pode ser imobilizado nas paredes celulares da raiz, reduzindo sua concentração na parte aérea (ZHOU *et al.*, 2014; SONG *et al.*, 2015; RIZWAN *et al.*, 2016). Considerando a dose e

o acúmulo de Cd a cultivar IRGA424 pode ser considerada tolerante ao Cd, entretanto a cultivar IRGA417 possui estratégias de evitação evidentes, devido à ausência de quantificação de Cd em sua parte aérea (Figura 7 D). A não detecção na parte aérea sugere um mecanismo de imobilização eficiente nas raízes dessas plantas. Além disso, a redução na absorção e toxicidade de Cd em plantas de arroz pode ocorrer com o manejo de nutrientes essenciais como o Fe (RIZWAN *et al.*, 2016a). É relatado que o processo de *nanopriming* pode atuar como um estimulador positivo para uma maior absorção de ferro nas plantas (SUNDARIA *et al.*, 2019). Entretanto, nesse estudo as plantas UP da cultivar IRGA417 apresentaram os maiores teores de Fe na parte aérea (Figura 7 B).

Apesar de ter sido observado efeito do *priming* na germinação e crescimento inicial, este efeito não resultou em alterações em relação ao acúmulo de MST, AF e CR da cultivar IRGA424. A ausência de efeito do *priming* na MST nos estádios de desenvolvimento mais avançados pode indicar uma limitação da sua ação no crescimento da planta, restringindo-se a efeitos significativos na germinação e estabelecimento do estande. O arroz pode tolerar o excesso de Cd através do seu acúmulo em tecidos menos sensíveis, quelação com ácidos orgânicos e proteínas, assim como o aumento das concentrações de reguladores de crescimento e homeostase de íons (RIZWAN *et al.*, 2016a). Uma vez que os maiores valores de MST, AF e CR da cultivar IRGA424 no estágio V₃, frente a contaminação do solo com 5,0 ppm de Cd, podem demonstrar ação das EROS frente à sinalização para o crescimento (CARVALHO; CASTRO; AZEVEDO, 2020). A adição de Fe pode restaurar as atividades das enzimas do sistema antioxidante, o que pode garantir a janela oxidativa para o crescimento (BASHIR *et al.*, 2015).

Embora a adição de Fe às sementes de arroz via *nanopriming* pudesse afetar a síntese de clorofilas e ocasionar um incremento em seu conteúdo, mesmo as plantas UP e HP apresentaram valores semelhantes de clorofila total (Figura 9 A e B). Um alto rendimento quântico máximo do fotossistema II (F_v/F_m) implica em elevados índices de ETR (LIU *et al.*, 2020). Apesar de apresentarem F_v/F_m em torno de 0,8, as diferenças entre os índices ETR da cultivar IRGA417, indica possíveis alterações na cadeia transportadora de elétrons dessas plantas. Espera-se que o Cd ocasione anomalias nos estômatos, na síntese de pigmentos fotossintetizantes, bem como alterações nas ultraestruturas dos cloroplastos, contribuindo para redução da eficiência fotossintética (LIU *et al.*, 2020).

A eficiência do fotossistema II é uma importante ferramenta para a avaliação do impacto da nanotoxicidade por metais e óxidos metálicos (SIDDIQI; HUSEN, 2017). Durante a fotossíntese, o estresse por Cd pode ser mitigado pelo suprimento de Fe (LIU *et al.*, 2020). Entretanto esse efeito foi notado somente em R₁, quando as plantas NP da cultivar IRGA417 obtiveram aumento na A, em relação às plantas HP e UP, respectivamente, independente da contaminação do solo. Entretanto, os efeitos da toxicidade por Cd não foram observados em nenhuma das variáveis de fluorescência da clorofila *a*, podendo indicar que as concentrações às quais as plantas foram submetidas não foram suficientes para ocasionar danos significativos.

A cultivar IRGA417 demonstrou não ser efetivamente afetada pelo condicionamento de sementes em relação aos parâmetros de produtividade. Embora a produtividade de massa de grãos por planta da cultivar IRGA424 tenha sido igual nas condições de solo não contaminado, ao extrapolarmos a produção para condições de campo, as plantas HP possuem potencial para uma produção 47,5 e 12 % maior em relação às plantas UP e NP, respectivamente. Quando as condições de cultivo são em solo contaminado, esse incremento das plantas HP cai para 12 % em relação às plantas NP, mas ainda assim constitui um aumento significativo para o produtor, que empregará uma técnica de condicionamento de sementes relativamente simples, mas que pode refletir em ganhos consideráveis de produtividade.

6 CONCLUSÃO

Apesar do Cd reduzir a germinação das sementes *unprimed*, quando submetidas ao *hidropriming* suas respostas indicam manutenção da germinação e aumento do IVG, mesmo expostas à 100 ppm de Cd no substrato. Além disso, o *nanopriming* também mantém o percentual germinativo constante e maior IVG em relação aos demais condicionamentos de sementes, quando semeadas em substrato contaminado por 5 ppm de Cd. Apesar das maiores concentrações de H₂O₂ sob 50 e 200 ppm de Cd, as plântulas da cultivar IRGA424 não apresentaram peroxidação lipídica maior que as plântulas de IRGA417. Indicando que para os processos germinativos e de estabelecimento inicial, o *priming* de sementes é capaz de conceder às sementes melhores estratégias para ambientes desfavoráveis, quanto à contaminação por Cd.

Ao serem cultivadas em solo contaminado por 5 ppm de Cd, as plantas da cultivar IRGA 417 não apresentaram quaisquer concentrações de Cd em suas folhas no estágio R₁. Já as plantas UP da mesma cultivar quando em solo não contaminado, obtiveram os maiores teores de Fe nas

mesmas folhas. Os parâmetros de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*, quando avaliados em R_1 , indicaram diferenças somente na fotossíntese líquida das plantas da cultivar IRGA417. Apesar dessa diferença não houve reflexo em sua produtividade por planta. Embora, quando extrapolado para condições de campo, as porcentagens de massa de grãos por planta, possam indicar ganhos substanciais para os produtores ao utilizarem o *hidropriming* nas sementes da cultivar IRGA 424.

REFERÊNCIAS

ADREES, M. et al. Simultaneous mitigation of cadmium and drought stress in wheat by soil application of iron nanoparticles. **Chemosphere**, v. 238, p. 124681, 2020.

AHMED, T. et al. Nanoparticle-based amelioration of drought stress and cadmium toxicity in rice via triggering the stress responsive genetic mechanisms and nutrient acquisition. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 209, p. 111829, 2021.

ARIF, N. et al. Understanding heavy metal stress in a rice crop: toxicity, tolerance mechanisms, and amelioration strategies. **Journal of Plant Biology**, v. 62, n. 4, p. 239–253, 2019.

BARI, M. A. et al. Cadmium tolerance is associated with the root-driven coordination of cadmium sequestration, iron regulation, and ROS scavenging in rice. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 136, p. 22–33, 2019.

BASHIR, A. et al. Effect of foliar-applied iron complexed with lysine on growth and cadmium (Cd) uptake in rice under Cd stress. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 21, p. 20691–20699, 2018.

BASHIR, H. et al. Chloroplast and photosystems: Impact of cadmium and iron deficiency. **Photosynthetica**, v. 53, n. 3, p. 321–335, 2015.

BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. **Seeds - Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination**. Second Edi ed. Lexington: Elsevier, 2014.

BEWLEY, J. D. et al. **Seeds: Physiology of development, germination and dormancy**. 3. ed. New York: Springer, 2013.

BHATERIA, R.; SINGH, R. A review on nanotechnological application of magnetic iron oxides for heavy metal removal. **Journal of Water Process Engineering**, v. 31, p. 100845, 2019.

BHUSAL, D.; THAKUR, D. P. Seed hydropriming technique in cereal crops: a review. **Reviews In Food And Agriculture**, v. 1, n. 2, p. 85–88, 2020.

BILGER, W.; BJORKMAN, O. Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis*. **Photosynthesis Research**, v. 25, p. 173–185, 1990.

BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009.

BRIAT, J.-F.; CURIE, C.; GAYMARD, F. Iron utilization and metabolism in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 10, n. 3, p. 276–282, 2007.

CARVALHO, M. E. A.; CASTRO, P. R. C.; AZEVEDO, R. A. Hormesis in plants under Cd exposure: From toxic to beneficial element? **Journal of Hazardous Materials**, v. 384, p. 121434, 2020.

CHEN, Z. et al. Dual enzyme-like activities of iron oxide nanoparticles and their implication for diminishing cytotoxicity. **ACS Nano**, v. 6, n. 5, p. 4001–4012, 2012.

CHLOPECKA, A. Assessment of form of Cd, Zn and Pb in contaminated calcareous and gleyed soils in Southwest Poland. **The Science of the Total Environment**, v. 188, p. 253–262, 1996.

COUNCE, P. A.; KEISLING, T. C.; MITCHELL, A. J. A uniform, objective and adaptive system for expressing rice development. **Crop Science**, v. 40, p. 436–443, 2000.

CURIE, C. et al. Metal movement within the plant: contribution of nicotianamine and yellow stripe 1-like transporters. **Annals of Botany**, v. 103, n. 1, p. 1–11, 2009.

DASGUPTA, N. et al. Nanotechnology in agro-food: From field to plate. **Food Research International**, v. 69, p. 381–400, 2015.

DU, Z.; BRAMLAGE, W. J. Modified thiobarbituric acid assay for measuring lipid oxidation in sugar-rich plant tissue extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 9, p. 1566–1570, 1992.

FAROOQ, M. et al. Rice seed invigoration: a review. In: LICHTFOUSE, E. (Ed.). . **Organic Farming, Pest Control and Remediation of Soil Pollutants**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2009. p. 137–175.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. **ExpDes.pt: Pacote Experimental Designs (Portugues)**R package version 1.2.1., , 2021. Disponível em: <<https://cran.r-project.org/package=ExpDes.pt>>

FOY, C. D.; CHANEY, R. L.; WHITE, M. C. The physiology of metal toxicity in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 29, p. 511–566, 1978.

FRANCISQUINI, E.; SCHOENMAKER, J.; SOUZA, J. A. Nanopartículas magnéticas e suas aplicações. In: ALVES, W. A. (Ed.). . **Química supramolecular e nanotecnologia**. 1 ed. ed. São Paulo: Atheneu, 2014. p. 269–288.

GAO, M.; YUJUANYANG; SONG, Z. Toxicity of cadmium to wheat seedling roots in the presence of graphene oxide. **Chemosphere**, v. 233, p. 9–16, 2019.

GARDEA-TORRESDEY, J. L.; RICO, C. M.; WHITE, J. C. Trophic transfer, transformation, and impact of engineered nanomaterials in terrestrial environments. **Environmental Science & Technology**, v. 48, n. 5, p. 2526–2540, 2014.

GENTY, B.; BAKER, R.; BRIANTAIS, J.-M. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 990, n. 1, p. 87–92, 1989.

GONG, X. et al. Remediation of contaminated soils by biotechnology with nanomaterials: bio-behavior, applications, and perspectives. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 38, n. 3, p. 455–468, 2018.

GUHA, T. et al. Nanoprimering with zero valent iron (nZVI) enhances germination and growth in aromatic rice cultivar (*Oryza sativa* cv. Gobindabhog L.). **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 127, n. January, p. 403–413, 2018.

GUILHERME, L. R. G. et al. Heavy metals in p fertilizers marketed in brazil : Is this a concern in our agroecosystems ? **Symphos 2019**, n. Cd, p. 1–16, 2019.

HAN, H.; LIU, X.; ZHOU, Y. Transcriptional circuits in control of shoot stem cell homeostasis. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 53, p. 50–56, 2020.

HUSSAIN, A. et al. Responses of wheat (*Triticum aestivum*) plants grown in a Cd contaminated soil to application of iron oxide nanoparticles. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 173, p. 156–164, 2019.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: New York: : Mcgraw-Hill Book, 1940.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants**. 4. ed. Poland: CRC Press Inc, 2010.

KABIR, A. H. et al. Biochemical and molecular mechanisms associated with Zn deficiency tolerance and signaling in rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Plant Interactions**, v. 12, n. 1, p. 447–456, 2017.

KIM, D.-Y. et al. The ABC transporter AtPDR8 is a cadmium extrusion pump conferring heavy metal resistance. **The Plant Journal**, v. 50, n. 2, p. 207–218, 2007.

KIM, J.-H. et al. Iron nanoparticle-induced activation of plasma membrane H⁺-ATPase Promotes Stomatal Opening in *Arabidopsis thaliana*. **Environmental Science & Technology**, v. 49, n. 2, p. 1113–1119, 2015.

KIM, S. A.; GUERINOT, M. LOU. Mining iron: iron uptake and transport in plants. **FEBS Letters**, v. 581, n. 12, p. 2273–2280, 2007.

KOBAYASHI, T.; NISHIZAWA, N. K. Iron uptake, translocation and regulation in higher plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 63, p. 131–152, 2012.

KOBAYASHI, T.; NOZOYE, T.; NISHIZAWA, N. K. Iron transport and its regulation in plants. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 133, p. 11–20, 2019.

KRUPA, Z. et al. Heavy metal interactions with plant nutrients. In: PRASAD, M. N. V.; STRZALKA, K. (Eds.). . **Physiology and biochemistry of metal toxicity and tolerance in plants**. 1. ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2002. p. 287–301.

LIN, P.-C. et al. Techniques for physicochemical characterization of nanomaterials. **Biotechnology Advances**, v. 32, n. 4, p. 711–726, 2014.

LIU, H. et al. Influence and interaction of iron and cadmium on photosynthesis and antioxidative enzymes in two rice cultivars. **Chemosphere**, v. 171, p. 240–247, 2017.

LIU, H. et al. Cadmium toxicity reduction in rice (*Oryza sativa* L.) through iron addition during primary reaction of photosynthesis. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 200, n. March, 2020.

LUTTS, S. et al. Seed priming: new comprehensive approaches for an old empirical technique. In: ARAUJO, S.; BALESTRAZZI, A. (Eds.). . **New challenges in seed biology - basic and translational research driving seed technology**. [s.l.] InTech, 2016. p. 1–49.

LUX, A. et al. Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, n. 1, p. 21–37, 2011.

MA, X. et al. Simultaneous reduction of arsenic (As) and cadmium (Cd) accumulation in rice by zinc oxide nanoparticles. **Chemical Engineering Journal**, v. 384, p. 123802, 2020.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination - aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, n. 2, p. 176, 1962.

MAHAKHAM, W. et al. Nanoprimering technology for enhancing germination and starch metabolism of aged rice seeds using phytosynthesized silver nanoparticles. **Scientific Reports**, v. 7, p. 8263, 2017.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, A. S. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, A.S. Avaliação do Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1989.

MASWADA, H. F.; DJANAGUIRAMAN, M.; PRASAD, P. V. V. Seed treatment with nano-iron (III) oxide enhances germination, seeding growth and salinity tolerance of sorghum. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 204, n. 6, p. 577–587, 2018.

MELIS, A.; SPANGFORT, M.; ANDERSSON, B. Light absorption and electron-transport balance between photosystem II and photosystem I in spinach chloroplasts. **Photochemistry**

and **Photobiology**, v. 45, n. 1, p. 129–136, 1987.

MONDO, V. H. V. et al. Seed hydropriming in upland rice improves germination and seed vigor and has no effects on crop cycle and grain yield. **Australian Journal of Crop Science**, v. 10, n. 11, p. 1534–1542, 2016.

MURTAZA, G. et al. Bioaccumulation of potentially toxic elements in cereal and legume crops: A Review. **Clean Soil Air Water**, v. 45, n. 12, p. 1700548, 2017.

NACKE, H. et al. Availability of heavy metals (Cd, Pb, and Cr) in agriculture from commercial fertilizers. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 64, n. 4, p. 537–544, 2013.

PAGANO, L. et al. Molecular response of crop plants to engineered nanomaterials. **Environmental Science & Technology**, v. 50, n. 13, p. 7198–7207, 2016.

PARIONA, N. et al. Effect of magnetite nanoparticles on the germination and early growth of *Quercus macdougalii*. **Science of the Total Environment**, v. 1, n. 575, p. 869–875, 2017.

PRASAD, M. N. V.; SAJWAN, K. S.; NAIDU, R. **Trace elements in the environment: Biogeochemistry, Biotechnology and Bioremediation**. Boca Raton, London, New York: CRC Taylor & Francis, 2006.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna, Austria R Foundation for Statistical Computing, , 2021. Disponível em: <<https://www.r-project.org/>>

RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ, V. H. V. (EDS.). **Recomendações para uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação**. Viçosa: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999.

RIZWAN, M. et al. Cadmium stress in rice: toxic effects, tolerance mechanisms, and management: a critical review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p. 17859–17879, 2016a.

RIZWAN, M. et al. Cadmium minimization in wheat: A critical review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 130, p. 43–53, 2016b.

RIZWAN, M. et al. Effect of metal and metal oxide nanoparticles on growth and physiology of globally important food crops: A critical review. **Journal of Hazardous Materials**, v. 322, p. 2–16, 2017.

RIZWAN, M. et al. Influence of biochar amendment and foliar application of iron oxide nanoparticles on growth, photosynthesis, and cadmium accumulation in rice biomass. **Journal of Soils and Sediments**, v. 19, p. 3749–3759, 2019.

SAHRAWAT, K. L. et al. The role of tolerant genotypes and plant nutrients in the management of iron toxicity in lowland rice. **Journal of Agricultural Science**, v. 126, n. 2, p.

143–149, 1996.

SARRUGE, J. R.; HAAG, H. P. **Análises Químicas em Plantas**. Piracicaba, Brasil: Análises Químicas em Plantas. E.S.A. “Luiz de Queiroz”, 1974.

SASAKI, A.; YAMAJI, N.; MA, J. F. Overexpression of OsHMA3 enhances Cd tolerance and expression of Zn transporter genes in rice. **Journal of Experimental Botany**2, v. 65, n. 20, p. 6013–6021, 2014.

SCHWAB, F. et al. Barriers, pathways and processes for uptake, translocation and accumulation of nanomaterials in plants – Critical review. **Nanotoxicology**, v. 10, n. 3, p. 257–278, 2015.

SEBASTIAN, A.; PRASAD, M. Cadmium minimization in rice. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 34, n. 1, p. 155–173, 2014.

SIDDIQI, K. S.; HUSEN, A. Plant response to engineered metal oxide nanoparticles. **Nanoscale Research Letters**, v. 12, n. 92, 2017.

SIDDIQUI, M. H. et al. Role of nanoparticles in plants. In: SIDDIQUI, M. H.; FIROZ, M. H. A.; IMPACT, T. (Eds.). **Nanotechnology and plant sciences: nanoparticles and their impact on plants**. [s.l.] Springer, 2015. p. 19–35.

SIEDLECKA, A.; KRUPA, Z. Cd/Fe interaction in higher plants - its consequences for the photosynthetic apparatus. **Photosynthetica**, v. 36, n. 3, p. 321–331, 1999.

SONG, W. E. et al. Variation of Cd concentration in various rice cultivars and derivation of cadmium toxicity thresholds for paddy soil by species-sensitivity distribution. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 14, n. 9, p. 1845–1854, 2015.

SOSBAI, S. S.-B. DE A. I. **Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. 32. ed. Farroupilha: SOSBAI, 2018.

SUNDARIA, N. et al. Seed priming with iron oxide nanoparticles triggers iron acquisition and biofortification in wheat (*Triticum aestivum* L.) grains. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 38, p. 122–131, 2019.

SYSTAT SOFTWARE. **SigmaPlot for Windows Version 14.0**, 2017. Disponível em: <<https://www.winrap.com>>

URAGUCHI, S.; FUJIWARA, T. Cadmium transport and tolerance in rice: Perspectives for reducing grain cadmium accumulation. **Rice**, v. 5, n. 1, p. 1–8, 2012.

VEIHMEYER, F. J.; HENDRICKSON, A. H. The moisture equivalent as a measure of the field capacity of soils. **Soil Science**, v. 32, n. 3, p. 181–194, 1931.

VELIKOVA, V.; YORDANOV, I.; EDREVA, A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. **Plant Science**, v. 151, p. 59–66, 2000.

VENTURA, L. et al. Understanding the molecular pathways associated with seed vigor. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 60, p. 196–206, 2012.

WANG, M. et al. Alleviation of cadmium-induced root growth inhibition in crop seedlings by nanoparticles. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 79, p. 48–54, 2012.

WANG, Y. et al. Photosynthetic responses of *Oryza sativa* L. seedlings to cadmium stress: Physiological, biochemical and ultrastructural analyses. **BioMetals**, v. 27, n. 2, p. 389–401, 2014.

WU, L.-B. et al. Genetic and physiological analysis of tolerance to acute iron toxicity in rice. **Rice**, v. 7, n. 1, p. 8, 2014.

YIN, H. et al. The associations of heavy metals with crystalline iron oxides in the polluted soils around the mining areas in Guangdong Province, China. **Chemosphere**, v. 161, p. 181–189, 2016.

YIN, L. et al. Effects of graphene oxide and/or Cd²⁺ on seed germination, seedling growth, and uptake to Cd²⁺ in solution culture. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 229, n. 5, 2018.

YOSHIDA, S. **Fundamentals of rice crop science**. Los Baños: The International Rice Research Institute, 1981.

YU, C. et al. The auxin transporter, OsAUX1, is involved in primary root and root hair elongation and in Cd stress responses in rice (*Oryza sativa* L.). **The Plant Journal**, v. 83, p. 818–830, 2015.

ZHOU, H. et al. Heavy metal translocation and accumulation in iron plaques and plant tissues for 32 hybrid rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. **Plant and Soil**, v. 386, n. 1–2, p. 317–329, 2014.