



**ALISSON DE CARLI SOUZA**

**GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO DE *Brachiaria decumbens* NA  
REVEGETAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO POR MERCÚRIO**

**LAVRAS – MG**

**2025**

**ALISSON DE CARLI SOUZA**

**GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO DE *Brachiaria decumbens* NA REVEGETAÇÃO DE  
SOLO CONTAMINADO POR MERCÚRIO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, área de concentração em Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, para a obtenção do título de Mestre.

Profa. Dra. Adélia Aziz Alexandre Pozza

Orientadora

Prof. Dr. Flávio Henrique Silveira Rabêlo

Coorientador

**LAVRAS – MG**

**2025**

Ficha catalográfica elaborada pela Catalogação da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo próprio autor.

Souza, Alisson de Carli.

Germinação e crescimento de *Brachiaria decumbens* na revegetação de solo contaminado por mercúrio / Alisson de Carli Souza. - 2025.

72 p. : il.

Orientadora: Adélia Aziz Alexandre Pozza.

Coorientador: Flávio Henrique Silveira Rabêlo.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Lavras, 2025.  
Bibliografia.

1. Enzimas antioxidantes. 2. Estresse oxidativo. 3. Fitoestabilização. 4. Fotossíntese. 5. Gramíneas. I. Pozza, Adélia Aziz Alexandre. II. Rabêlo, Flávio Henrique Silveira. III. Título.

**ALISSON DE CARLI SOUZA**

**GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO DE *Brachiaria decumbens* NA REVEGETAÇÃO DE SOLO CONTAMINADO POR MERCÚRIO**

**GERMINATION AND GROWTH OF *Brachiaria decumbens* IN THE REVEGETATION OF MERCURY CONTAMINATED SOIL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, área de concentração em Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 20 de fevereiro de 2025

Dr. Flávio Henrique Silveira Rabêlo ESALQ

Dr. Matheus Bortolanza Soares ESALQ

Dr. Paulo Eduardo Ribeiro Marchiori UFLA

Profa. Dra. Adélia Aziz Alexandre Pozza

Orientadora

Prof. Dr. Flávio Henrique Silveira Rabêlo

Coorientador

**LAVRAS – MG**

**2025**

## **AGRADECIMENTOS**

A Universidade Federal de Lavras e ao programa de pós-graduação em Ciência do Solo.

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

## RESUMO

O mercúrio (Hg) é um metal que se acumula no solo devido poluição ambiental, e que causa uma série de problemas, como a erosão do solo devido à diminuição da cobertura vegetal. A introdução de espécies vegetais com alta produção de biomassa, como a *Brachiaria decumbens*, é uma estratégia potencial para estabilizar o metal e revegetar solos contaminados com Hg. Contudo, ainda faltam estudos que documentem o desenvolvimento completo dessa planta. A revegetação de solos contaminados por Hg pode promover a estabilização do solo e a redução da biodisponibilidade do Hg. Portanto, objetivou-se com esta pesquisa avaliar a resposta da *B. decumbens* ao Hg, considerando (i) parâmetros biométricos, bioquímicos e fisiológicos das sementes expostas ao Hg; (ii) parâmetros fisiológicos e morfológicos das plantas expostas ao Hg; e (iii) a eficiência de fitoestabilização do Hg, medindo-se a concentração do metal no solo, nas raízes e na parte aérea das plantas. O experimento de germinação foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com sementes de *B. decumbens* expostas a seis doses de Hg (0; 1,2; 7,2; 21,6; 43,2; e 86,4 mg L<sup>-1</sup>), por 21 dias. Em um segundo experimento, realizado em vasos contendo solo contaminado, as plantas de *B. decumbens* foram submetidas às mesmas doses de Hg (em mg kg<sup>-1</sup> de solo), por 150 dias, em delineamento em blocos casualizados. Os experimentos contaram com quatro repetições. A germinação da *B. decumbens* foi reduzida pela exposição ao Hg. Os parâmetros de comprimento aéreo e radicular, índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio de germinação (TMG) e incerteza de germinação (IG) não apresentaram diferenças significativas. A atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), peroxidase (PO), esterase (EST) e malato desidrogenase (MDH) aumentaram a partir da dose de Hg de 21,6 mg L<sup>-1</sup>, enquanto a atividade da catalase (CAT) foi menor em todas as doses, comparadas ao tratamento controle. Na fase adulta, a concentração de Hg na parte aérea não foi alterada significativamente, diferentemente do aumento linear verificado nas raízes de *B. decumbens*. Os fatores de bioconcentração (FBC) e translocação (FT) indicaram que, na dose de Hg de 1,2 mg kg<sup>-1</sup>, houve maior transporte de Hg para a parte aérea e, nas demais doses, as plantas reduziram o transporte de Hg para a parte aérea. O número de perfilhos, folhas, massa fresca e seca da parte aérea e massa seca radicular não foram afetados significativamente pelo Hg, exceto a massa fresca radicular, que foi reduzida com o aumento das doses. Entre os nutrientes, apenas o cobre (Cu) nas raízes apresentou redução significativa em função do aumento das doses de Hg. O teor de clorofila, fluxo fotossintético, concentração interna de CO<sub>2</sub>, transpiração e eficiência de carboxilação diminuíram com o aumento da dose de Hg. O Hg reduz a germinação, por causar estresse oxidativo; e reduz o crescimento da *B. decumbens*, por afetar o processo fotossintético. A *B. decumbens* demonstrou capacidade de se desenvolver na presença de até 43,2 mg kg<sup>-1</sup> de Hg no solo, mostrando-se uma opção promissora para a revegetação de solos contaminados.

Palavras-chave: Enzimas antioxidantes, estresse oxidativo, fitoestabilização, fotossíntese, gramíneas.

## ABSTRACT

Mercury (Hg) is a metal that accumulates in the soil due to environmental pollution, causing a series of problems, such as soil erosion due to reduced vegetation cover. The introduction of plant species with high biomass production, such as *Brachiaria decumbens*, is a potential strategy to stabilize the metal and revegetate soils contaminated with Hg. However, studies documenting the complete development of this plant are still lacking. The revegetation of soils contaminated with Hg can promote soil stabilization and reduce the bioavailability of Hg. Therefore, this research aimed to evaluate the response of *B. decumbens* to Hg, considering (i) biometric, biochemical, and physiological parameters of seeds exposed to Hg; (ii) physiological and morphological parameters of plants exposed to Hg; and (iii) the efficiency of Hg phytostabilization by measuring the concentration of the metal in the soil, roots, and aerial parts of the plants. The germination experiment was conducted in a completely randomized design, with *B. decumbens* seeds exposed to six doses of Hg (0; 1,2; 7,2; 21,6; 43,2; and 86,4 mg L<sup>-1</sup>) for 21 days. In a second experiment, conducted in pots containing contaminated soil, *B. decumbens* plants were subjected to the same doses of Hg (in mg kg<sup>-1</sup> of soil) for 150 days, in a randomized block design. The experiments included four replications. The germination of *B. decumbens* was reduced by exposure to Hg. The parameters of shoot and root length, germination speed index (GSI), mean germination time (MGT), and germination uncertainty (GU) showed no significant differences. The activity of the enzymes superoxide dismutase (SOD), peroxidase (PO), esterase (EST), and malate dehydrogenase (MDH) increased from the Hg dose of 21,6 mg L<sup>-1</sup>, while catalase (CAT) activity was lower at all doses compared to the control treatment. In the adult phase, the concentration of Hg in the aerial part was not significantly altered, unlike the linear increase observed in the roots of *B. decumbens*. The bioconcentration (BCF) and translocation (TF) factors indicated that, at the Hg dose of 1,2 mg kg<sup>-1</sup>, there was greater transport of Hg to the aerial part, while at higher doses, the plants reduced Hg transport to the aerial part. The number of tillers, leaves, fresh and dry shoot mass, and dry root mass were not significantly affected by Hg, except for fresh root mass, which decreased with increasing doses. Among the nutrients, only copper (Cu) in the roots showed a significant reduction due to increasing Hg doses. Chlorophyll content, photosynthetic flux, internal CO<sub>2</sub> concentration, transpiration, and carboxylation efficiency decreased with increasing Hg doses. Hg reduces germination by causing oxidative stress and reduces the growth of *B. decumbens* by affecting the photosynthetic process. *B. decumbens* demonstrated the ability to develop in the presence of up to 43,2 mg kg<sup>-1</sup> of Hg in the soil, showing promise for the revegetation of contaminated soils.

Keywords: Antioxidant enzymes, grasses, oxidative stress, phytostabilization, photosynthesis.

## INDICADORES DE IMPACTO

A contaminação ambiental por elementos potencialmente tóxicos é um problema socioambiental extremamente sério. No presente estudo, desenvolvido no campus da Universidade Federal de Lavras, foi verificado com sucesso a capacidade de plantas da espécie *Brachiaria decumbens* em restaurar a cobertura vegetal de solos contaminados por mercúrio (Hg), o que reduz a movimentação do contaminante e a erosão do solo ocasionada pela degradação da vegetação. *B. decumbens* pode se adaptar em condições de solos contaminados com até 43,2 mg kg<sup>-1</sup> de Hg. Os resultados obtidos podem ser aplicados em muitas condições ambientais, com maior ênfase para solos de áreas industriais, de mineração e áreas de agricultura contaminadas pelo metal, a fim de estabilizar o Hg no solo e restaurar a cobertura vegetal, evitando novas disseminações e contaminações. Estes resultados contribuem para que o solo contaminado não se torne uma fonte potencial de poluição de Hg. Devido a tolerância das plantas, a necessidade de manejos no local é reduzida, o que gera eficiência econômica durante todo o processo de revegetação do solo contaminado. Este estudo contribui para atender os objetivos 14 e 15 de desenvolvimento sustentável da Organização das Nações Unidas.

## IMPACT INDICATORS

Environmental contamination by potentially toxic elements is an extremely serious socio-environmental issue. In the present study, conducted on the campus of the Federal University of Lavras, the ability of *Brachiaria decumbens* to restore vegetation cover in mercury (Hg) contaminated soils was successfully verified. This process reduces contaminant mobility and soil erosion caused by vegetation degradation. *B. decumbens* can adapt to soil conditions contaminated with up to 43,2 mg kg<sup>-1</sup> of Hg. The results obtained can be applied to various environmental conditions, with greater emphasis on industrial, mining, and agricultural areas contaminated by the metal, aiming to stabilize Hg in the soil and restore vegetation cover, thereby preventing further dispersion and contamination. These findings help ensure that contaminated soil does not become a potential source of Hg pollution. Due to plant tolerance, the need for on-site management is reduced, which generates economic efficiency throughout the entire process of revegetating contaminated soil. This study contributes to achieving the United Nations Sustainable Development Goals 14 and 15.



## SUMÁRIO

|          |                                                                                                |           |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1</b> | <b>INTRODUÇÃO.....</b>                                                                         | <b>10</b> |
| <b>2</b> | <b>REFERÊNCIAL BIBLIOGRÁFICO.....</b>                                                          | <b>11</b> |
| 2.1      | Influencia do mercúrio no processo germinativo.....                                            | 11        |
| 2.1.1    | Contaminação da semente por mercúrio presente no solo.....                                     | 11        |
| 2.1.2    | Efeitos do mercúrio na germinação das sementes.....                                            | 12        |
| 2.1.3    | Atividade do sistema antioxidante frente a toxidez por mercúrio.....                           | 13        |
| 2.1.4    | Mecanismos das sementes e métodos para reduzir a toxidez de mercúrio durante a germinação..... | 15        |
| 2.2      | Influencia do mercúrio no solo, planta e ecossistema.....                                      | 16        |
| 2.2.1    | Mercúrio como agente de contaminação de solo, plantas e seres vivos.....                       | 16        |
| 2.2.2    | Problemas decorrentes da contaminação do solo por mercúrio.....                                | 17        |
| 2.2.3    | Comportamento do mercúrio no solo e sua interferência no crescimento das plantas....           | 18        |
| 2.2.4    | Classificação das plantas quanto a tolerância aos elementos potencialmente tóxicos....         | 20        |
| <b>3</b> | <b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>                                                                 | <b>21</b> |
| 3.1      | Teste de germinação.....                                                                       | 21        |
| 3.1.1    | Porcentagem de sementes germinadas e avaliação do comprimento das plântulas.....               | 22        |
| 3.1.2    | Cálculo do índice de velocidade de germinação (IVG).....                                       | 22        |
| 3.1.3    | Cálculo do tempo médio de germinação (TMG).....                                                | 23        |
| 3.1.4    | Cálculo da incerteza de germinação (IG).....                                                   | 23        |
| 3.1.5    | Avaliação da atividade enzimática.....                                                         | 23        |
| 3.2      | Experimento em casa de vegetação.....                                                          | 24        |
| 3.2.1    | Determinação da concentração de mercúrio no solo.....                                          | 27        |
| 3.2.2    | Avaliação do número de perfilhos e folhas.....                                                 | 28        |
| 3.2.3    | Avaliação do teor de clorofila e parâmetros fotossintéticos.....                               | 28        |
| 3.2.4    | Avaliação da massa fresca e seca de raízes e parte aérea.....                                  | 29        |
| 3.2.5    | Avaliação da concentração de mercúrio e nutrientes nos tecidos vegetais.....                   | 29        |
| 3.2.6    | Cálculos relacionados à absorção e transporte de mercúrio.....                                 | 30        |
| 3.3      | Análise estatística dos dados.....                                                             | 30        |
| <b>4</b> | <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>                                                             | <b>31</b> |

|         |                                                                                                                                                             |    |
|---------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.1     | Teste de germinação.....                                                                                                                                    | 31 |
| 4.1.1   | Porcentagem de germinação da <i>Brachiaria decumbens</i> exposta ao mercúrio.....                                                                           | 31 |
| 4.1.2   | IVG, IG e TMG.....                                                                                                                                          | 34 |
| 4.1.3   | Comprimento aéreo e radicular.....                                                                                                                          | 35 |
| 4.1.4   | Efeito do mercúrio em enzimas do sistema antioxidante, ciclo do ácido cítrico e do metabolismo de lipídeos em sementes de <i>Brachiaria decumbens</i> ..... | 36 |
| 4.1.4.1 | Superóxido dismutase.....                                                                                                                                   | 36 |
| 4.1.4.2 | Catalase.....                                                                                                                                               | 38 |
| 4.1.4.3 | Peroxidade.....                                                                                                                                             | 40 |
| 4.1.4.4 | Esterase.....                                                                                                                                               | 42 |
| 4.1.4.5 | Malato desidrogenase.....                                                                                                                                   | 43 |
| 4.2     | Experimento em casa de vegetação.....                                                                                                                       | 44 |
| 4.2.1   | Teores de mercúrio no solo, nos tecidos vegetais e a sua relação com os fatores de acumulação (FBC e FT) .....                                              | 44 |
| 4.2.2   | Efeito do mercúrio nas variáveis produtivas.....                                                                                                            | 47 |
| 4.2.3   | Efeito do mercúrio na concentração de nutrientes nos tecidos vegetais.....                                                                                  | 48 |
| 4.2.4   | Efeito do mercúrio no teor de clorofila, taxa fotossintética, concentração interna de CO <sub>2</sub> e trocas gasosas.....                                 | 54 |
| 5       | <b>CONCLUSÕES</b> .....                                                                                                                                     | 59 |
|         | <b>REFERÊNCIAS</b> .....                                                                                                                                    | 60 |

## 1 INTRODUÇÃO

A contaminação ambiental por mercúrio (Hg) representa um problema significativo e crescente, atraindo cada vez mais a atenção de pesquisadores e cientistas (Liu *et al.* 2021; Wang *et al.* 2012). O Hg é um metal de transição introduzido no ambiente tanto por atividades antrópicas quanto por processos naturais. Uma vez liberado na atmosfera, o Hg possui alta mobilidade, podendo ser transportado a longas distâncias e redepositado em diferentes regiões, ampliando os riscos de contaminação (Liu *et al.* 2020). As áreas afetadas por esse metal incluem desde zonas industriais e mineradoras até regiões de garimpo e áreas agrícolas. Devido à sua natureza dinâmica e persistente no ambiente, é fundamental o desenvolvimento de estratégias eficazes para mitigar os impactos negativos do Hg (Chen *et al.* 2012).

No solo, o Hg pode ser absorvido por plantas que não suportam a sua toxidez e morrem. A destruição da vegetação deixa o solo exposto, agravando sua degradação e promovendo erosão hídrica, eólica e a lixiviação do contaminante para o lençol freático e cursos d'água até atingir a cadeia trófica, desencadeando progressivo grau de contaminação de outras áreas (Melo *et al.* 2009; Natasha *et al.* 2020). Através da restauração da cobertura vegetal do solo (Revegetação), a interferência do Hg no ecossistema pode ser minimizada pela fitoestabilização, um processo onde se utiliza plantas para estabilizar o solo e também o contaminante.

O cultivo de espécies forrageiras tem sido estudado para restaurar e revegetar solos contaminados por Hg (Patra *et al.* 2021). A utilização de gramíneas oferece uma série de características vantajosas, tais como a alta produção de biomassa, facilidade de cultivo, e adaptação a diversos ambientes e, por isso, esse grupo de plantas tem sido amplamente estudado (Silva *et al.* 2022; Zang *et al.* 2010). Espécies dos gêneros *Brachiaria*, *Panicum* e *Pennisetum* são conhecidas por crescerem em solos de baixa fertilidade e contaminados, o que é essencial para reduzir a mobilidade de elementos potencialmente tóxicos (EPTs) no solo (Rabêlo *et al.* 2017 e 2021).

O processo de revegetação do solo contaminado deve considerar desde a germinação das sementes até o completo desenvolvimento da planta (Seneviratne *et al.* 2017). É relatado que o Hg causa estresse oxidativo e alterações no sistema antioxidante das sementes e plantas desenvolvidas, causando redução da atividade enzimática e redução de geração de fontes de energia para o desenvolvimento das sementes, tais como amido, lipídeos e proteínas (Kreaner e Colville, 2011; Seneviratne *et al.* 2017). Danos ao aparato fotossintético, destruição de células

(peroxidação lipídica) e competição com nutrientes minerais são os principais malefícios induzidos pelo Hg na planta, resultando em crescimento atrofiado, redução do perfilhamento e plantas amareladas devido a destruição da clorofila (Azevedo e Rodrigues, 2012; Fujimaki *et al.* 2010).

A revegetação por gramíneas em áreas contaminadas com Hg pode contribuir para a recuperação ambiental e para o aumento do estoque de carbono na área degradada, além de gerar impacto socioeconômico positivo. Contudo, pelo que sabemos não há estudos avaliando o potencial da *Brachiaria decumbens* em revegetar solos contaminados com Hg, o que requer avaliações que vão desde a germinação das sementes até o completo crescimento da planta (Kumar e Sharma, 2020; Patra *et al.* 2021; Sladkovska *et al.* 2022).

As hipóteses testadas no presente estudo foram que as plantas de *B. decumbens* podem crescer em solos contaminados por Hg e que este metal causa alterações na: i) germinação das sementes e crescimento das plântulas, diminuindo ambas em um processo dependente da concentração de Hg; ii) no controle de absorção do metal pela planta, causando alterações na absorção e transporte à longa distância de Hg; e iii) nos parâmetros fisiológicos (fotossíntese e trocas gasosas) e morfológicos (perfilhamento e produção de biomassa) da planta. Portanto, objetivou-se avaliar a resposta de *B. decumbens* ao Hg mensurando: i) os parâmetros biométricos, bioquímicos e fisiológicos das sementes expostas ao Hg; ii) os parâmetros fisiológicos e morfológicos de plantas crescidas em solo contaminado por Hg; e iii) a eficiência de fitoestabilização do Hg, determinando a concentração do elemento no solo, nas raízes e parte aérea da *B. decumbens*.

## 2 REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

### 2.1 Influência do mercúrio no processo germinativo

#### 2.1.1 Contaminação da semente por mercúrio presente no solo

A contaminação do solo por Hg, resultante de origens naturais (intemperismo de rochas e cinzas vulcânicas) ou antrópicas (mineração, garimpo ilegal, emissões industriais, descarte inadequado de resíduos, etc.) é uma preocupação mundial devido aos danos provocados por esse elemento (Gworek *et al.* 2020). O Hg é um metal extremamente tóxico às plantas mesmo em baixas concentrações, pode se acumular no solo e na água, sendo posteriormente absorvido pelas plantas ou volatilizado e transportado para outras áreas.

A contaminação da semente por Hg pode ocorrer de diferentes maneiras. As mais observadas são: água de irrigação contaminada por Hg, produtos fitossanitários para tratamento de sementes contendo fungicidas mercuriais (em desuso atualmente devido a toxidez do metal) e solo contaminado com Hg (Bae *et al.* 2014; Cardoso *et al.* 2015). A contaminação por meio da água e do solo são as mais preocupantes, mas também tem ocorrido aumento da contaminação por Hg provocada por queimadas, emissões industriais e mineração (CETESB, 2012; Wang *et al.* 2012).

As plantas podem absorver de forma eficiente o Hg através dos pelos radiculares e as sementes podem absorver Hg da solução através do tegumento, iniciando a contaminação durante o processo de germinação, o que compromete o desenvolvimento da plântula (Seneviratne *et al.* 2017). O Hg interfere na atividade de várias enzimas essenciais para a germinação, como aquelas envolvidas na degradação de reservas nutricionais, como amido e proteínas, que são fundamentais para o crescimento inicial da plântula. A toxicidade do Hg pode levar a uma redução na taxa de germinação, além de provocar anomalias no desenvolvimento das plântulas (Muhammad *et al.* 2014).

Padmavathi *et al.* (2013) apontaram que em concentrações superiores a 100 mg L<sup>-1</sup> de Hg a germinação de ervilha-de-bico é drasticamente afetada e acima de 200 mg L<sup>-1</sup> de Hg não há germinação. Tozzi *et al.* (2008) observaram que em concentrações de 100 e 200 mg L<sup>-1</sup> de Hg, *Bidens pilosa* e *Galinsoga parviflora* apresentaram inibição da germinação. A contaminação por Hg é preocupante, principalmente em regiões afetadas por atividades industriais e mineradoras, exigindo a implementação de medidas de controle e remediação para proteger as sementes e garantir o desenvolvimento das plantas (Melo *et al.* 2009).

### 2.1.2 Efeitos do mercúrio na germinação das sementes

Sementes em ambientes com elevados teores de Hg sofrem com estresse em intensidades variáveis, levando a geração de espécies reativas de oxigênio (ERO), o que pode levar à morte do embrião, além de provocar desuniformidade de germinação na área contaminada. A redução na germinação e no desenvolvimento das plântulas intoxicadas por Hg está ligada a enzimas hidrolíticas alteradas e ao metabolismo redox, também pode estar relacionada a acumulação de Hg em pontos específicos da estrutura da semente (Kumar e Sharma, 2020). O Hg tende a se alojar na maioria das sementes na camada de aleurona, onde provoca a inibição de enzimas hidrolíticas que atuam na conversão de proteínas de reserva,

lipídios e amido presentes no endosperma, em aminoácidos, ácidos graxos e açúcares simples. Essas moléculas são essenciais para que o embrião possa retomar seu crescimento e tenha garantido seu suprimento energético até o fim do processo germinativo (Protusão da radícula). As enzimas amilases, proteases e fosfatases ácidas fazem com que as mobilizações de reservas do endosperma sejam bem-sucedidas, garantido o suprimento para a germinação (Kranner *et al.* 2011; Moukhtari *et al.* 2017)

A interferência do Hg na germinação das sementes e a forma como o estresse impede a germinação é um processo bioquímico complexo. Para que o processo germinativo seja bem-sucedido, as sementes precisam alcançar potencial hídrico crítico, o que não é possível na presença de altas concentrações de Hg. O Hg pode inibir a absorção de água através de sua ligação com resíduos de cisteína próximo ao poro de proteínas aquaporinas, impedindo ou reduzindo significativamente a embebição da semente, afetando a germinação (Cardoso *et al.* 2015; Rucińska-Sobkowiak, 2016). Em contrapartida, as estruturas externas da semente, podem atuar como barreira para reduzir o efeito do Hg. Contudo, a maioria das sementes e plântulas apresentam redução na germinação e vigor, causado pelo estresse induzido pela toxidez do Hg (Adress *et al.* 2015; Seneviratne *et al.* 2017).

### 2.1.3 Atividade do sistema antioxidante frente a toxidez por mercúrio

Os efeitos tóxicos do Hg induzem na planta a produção de EROs, resultando em danos oxidativos (estresse). As EROs incluem os radicais superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e os radicais hidroxila ( $OH^\cdot$ ). A redução de um único elétron do  $O_2$  resulta na formação de  $O_2^-$ . Em pH baixo, ocorre a dismutação do  $O_2^-$ , cedendo um elétron a outra molécula de  $O_2^-$  e, com a protonação,  $H_2O_2$  é formado. Na presença de metais de transição, como o Hg, podem ocorrer reações através do mecanismo de Haber-Weiss ou da reação de Fenton para liberar  $OH^\cdot$ , sendo esta considerada uma das espécies químicas mais reativas (Gill e Tuteja, 2010).

As EROs podem reagir com ácidos nucleicos, afetando o código genético do embrião, além de reagirem com compostos de reserva das sementes, como proteínas e lipídeos. Durante a exposição ao Hg, as proteínas da semente sofrem alterações ocasionadas pelas reações com EROs e pelas interações com aldeídos provenientes da peroxidação lipídica. Os lipídios de reserva e da membrana também sofrem com as EROs, e durante o estresse ocasionado por Hg, a expressão de alguns genes que codificam enzimas com atividade de peroxidase de ácidos graxos, como a  $\alpha$ -dioxigenases, as peroxidases (POX) e as lipoxigenases são afetadas. Essas

enzimas catalisam a reação de lipídios de membrana poli-insaturados, levando à perda da integridade da membrana e posteriormente ao extravasamento do líquido celular e morte (Kreaner e Colville, 2011; Sengar *et al.* 2009).

Os danos devido à toxidez de Hg se devem em parte aos danos aos ácidos nucleicos, dano claramente indesejado em sementes que estão em processo de germinação. Os radicais hidroxila são altamente prejudiciais e são responsáveis por diversas modificações de bases de DNA em uma única célula. A ligação do Hg ao núcleo da célula causa danos mutagênicos tais como reticulação inter e intramolecular de DNA e proteínas, quebras de fita de DNA, rearranjos e depurinação (Briat e Lebrun, 1999; Tuteja *et al.* 2009). O Hg também causa clastogenicidade, onde a afinidade do metal por grupos tiol, leva a distúrbios do fuso mitótico, sendo o Hg um dos metais mais eficientes na interrupção da divisão celular (Patra *et al.* 2004).

Devido a ocorrência das EROs, as células vegetais e suas organelas aumentam a atividade das enzimas de seu sistema de antioxidante para proteção. A superóxido dismutase (SOD) atua na dismutação de  $O_2^-$  em  $H_2O_2$ . A catalase (CAT) dismuta diretamente o  $H_2O_2$  em uma molécula de água e oxigênio, tornando-se uma enzima importante na eliminação das EROs durante períodos de estresse. A ascorbato peroxidase (APX) tem efeito similar a CAT, tendo maior afinidade por  $H_2O_2$  e atuando na proteção celular (Gill e Tuteja, 2010). A eficiência dessas enzimas é fundamental para a sobrevivência das plantas sob condições de estresse por Hg, uma vez que o acúmulo de  $H_2O_2$  pode resultar em lesões oxidativas severas às membranas celulares e organelas, como os cloroplastos. No entanto, o Hg em concentrações elevadas pode inibir diretamente ou indiretamente a atividade dessas enzimas antioxidantes, agravando o estresse oxidativo. A inibição ocorre principalmente devido à afinidade do Hg por grupos sulfidril em proteínas, o que compromete a estrutura e a função das enzimas (Cargnelutti *et al.* 2011).

O estresse oxidativo pode causar a peroxidação lipídica, que frequentemente é mensurada medindo-se o teor de malondialdeído (MDA). O aumento nos níveis de MDA é considerado um indicador confiável de dano oxidativo em plantas, refletindo a extensão do estresse sofrido. Além disso, a atividade de enzimas antioxidantes, principalmente SOD, CAT e APX, é monitorada para avaliar a resposta defensiva da planta. O aumento na atividade dessas enzimas geralmente indica que a planta está tentando neutralizar o excesso de EROs e minimizar os danos celulares, o que é uma estratégia adaptativa para lidar com o estresse (Demidchiky, 2015; Hasanuzzaman *et al.* 2020).

#### 2.1.4 Mecanismos das sementes e métodos para reduzir a toxidez de mercúrio durante a germinação

Uma das primeiras respostas das sementes expostas ao Hg é a ativação de mecanismos de tolerância, como a restrição da absorção do metal. Isso pode ocorrer através de barreiras físicas nas membranas celulares que limitam a entrada do Hg, evitando que o metal atinja os tecidos internos da semente durante os estágios iniciais da germinação. O Hg pode interferir diretamente na fluidez e integridade das membranas celulares, porém, em resposta ao estresse, as células da semente podem ajustar a composição lipídica da membrana, tornando-a menos permeável ao Hg. Esse mecanismo de regulação da membrana plasmática ajuda a limitar a entrada de Hg e, conseqüentemente, sua toxicidade (Mourato *et al.* 2015).

Outro importante mecanismo na atenuação da toxidez é a produção de moléculas de fitoquelatinas e metalotioneínas. Tais moléculas são ricas em cisteína e são capazes de se ligar a íons de Hg atuando como quelantes, sequestrando o Hg no citoplasma e impedindo sua interação com componentes celulares essenciais. Ao se ligar ao Hg, esses peptídeos facilitam a compartimentalização do metal em vacúolos, onde ele é isolado do metabolismo ativo da célula, reduzindo sua capacidade de causar danos oxidativos (Hassinen *et al.* 2011; Rodrigues *et al.* 2016).

A regulação do metabolismo celular ajuda a atenuar a toxidez do Hg durante a germinação. As sementes podem ajustar sua taxa de respiração e alterar o fluxo metabólico em direção a vias alternativas menos sensíveis ao estresse oxidativo. Além disso, a ativação de proteínas de choque térmico (HSPs) pode proteger estruturas celulares essenciais ao facilitar o reparo de proteínas danificadas e o correto dobramento de novas proteínas sintetizadas sob condições de estresse metálico, sendo essenciais para a manutenção da homeostase proteica em ambientes contaminados por Hg (Rodrigues *et al.* 2016; Wang *et al.* 2004).

A germinação de sementes em ambientes contaminados é afetada diretamente pelo Hg, e as conseqüências podem ser duradouras (Gomes *et al.* 2021; Liu *et al.* 2020). Por isso, é importante encontrar maneiras de reduzir a biodisponibilidade deste metal no ambiente. A redução da disponibilidade destes metais no solo pode ser alcançada através da sua imobilização no solo. Para isto, podem ser utilizados produtos orgânicos tais como biochar, adubos verdes e esterco, visando aumentar a matéria orgânica do solo e estabilizar o metal (Luo *et al.* 2022). A utilização de quelatos ajuda a reduzir a biodisponibilidade do metal, amenizando a toxidez durante a germinação das sementes. O uso de corretivos tais como calcário e gesso agrícola



também exercem grande influência na disponibilidade do Hg devido a alterações no pH e capacidade de troca catiônica do solo, que contribuem para reduzir a toxidez do Hg (Cristaldi *et al.* 2017). Tais medidas são essenciais no que se refere a revegetação do solo, pois é possível restaurar a cobertura vegetal e prevenir perdas de componentes do solo. No solo, a revegetação com plantas tolerantes pode estabilizar o Hg para que este não interfira no processo germinativo de novas sementes, mas é importante destacar que o Hg permanecerá no solo em formas neutras ou menos reativas (Seneviratne *et al.* 2017).

## 2.2 Influência do mercúrio no solo, planta e ecossistema

### 2.2.1 Mercúrio como agente de contaminação de solo, plantas e seres vivos

O Hg é um elemento metálico extremamente tóxico, classificado como metal de transição, sendo o único metal que pode ser encontrado no estado líquido a temperatura ambiente. O Hg é o 66º elemento mais abundante no solo e na água, representando  $6,7 \times 10^{-6}$  % da crosta terrestre e  $5 \times 10^{-9}$  % dos oceanos. O Hg apresenta diferentes estados de oxidação na natureza:  $\text{Hg}^0$ ,  $\text{Hg}^+$  e  $\text{Hg}^{+2}$  e pode ser encontrado na forma elementar ( $\text{Hg}^0$ ), na forma de compostos inorgânicos ( $\text{HgCl}_2$ ,  $\text{HgS}$ ,  $\text{Hg}_2\text{Cl}_2$ ) e orgânicos ( $\text{CH}_3\text{Hg}$ ,  $\text{CH}_3\text{HgOH}$ ). (Wang *et al.* 2012).

A concentração média de Hg nos solos do mundo varia de 0,58 a  $1,8 \text{ mg kg}^{-1}$  de solo, com valor médio estimado em  $1,1 \text{ mg kg}^{-1}$ , sendo que as classes Cambissolos e os Histossolos apresentam maiores teores do metal (Kabata-Pendias, 2011; Wang *et al.* 2012). Estudos demonstram que o Hg lançado à atmosfera por ações antrópicas varia de 2 a 2,5 toneladas anualmente para o mundo todo, que são valores preocupantes em relação a um metal tão tóxico (UNEP, 2018). A emissão térmica de Hg através de queimadas, fator recorrente na atualidade devido a alterações climáticas, é capaz de disponibilizar Hg para atmosfera, aumentando a eficiência de dispersão e contaminação do Hg, agravando problemas ambientais como a erosão, devido à restrição provocada no crescimento das plantas (INPE, 2024; Liu *et al.* 2020; Perez *et al.* 2014).

A contaminação por Hg no ambiente tem aumentado a um ritmo alarmante, pelo aumento do descarte de efluentes de mineração, indústrias de celulose, papel, cloro-alcalis e descarte inadequado de resíduos industriais, que constituem as maiores emissões do metal e, conseqüentemente, redeposição em áreas não contaminadas (De *et al.* 2014; Silva *et al.* 2017).

Quando liberado no ambiente, o Hg pode permanecer na atmosfera por 6 a 24 meses como  $\text{Hg}^0$ , podendo também ser transportado por dezenas de milhares de quilômetros antes de ser redepositado na superfície terrestre na forma de  $\text{Hg}^{+2}$ . O Hg depositado no solo pode ser retido pela matéria orgânica e, portanto, a quantidade e a qualidade da matéria orgânica desempenham um importante papel em relação à distribuição do Hg no solo e à sua movimentação no perfil, visto que em solos contaminados e com baixo teor de matéria orgânica, o Hg apresenta as formas reativas  $\text{HgCl}_2$  e  $\text{Hg}(\text{OH})_2$ , podendo ser transformado em espécies mais reativas e tóxicas como  $\text{Hg}^0$  (volátil) e  $\text{CH}_3\text{Hg}$  (Bettiol *et al.* 2023; Semu *et al.* 1987; Ullrich *et al.* 2001;).

A biodisponibilidade do Hg no solo remete à fração de Hg que é absorvida pelas plantas ( $\text{Hg}^{+2}$ ) e à capacidade das plantas em extrair esse elemento do solo, portanto, a fração total de Hg no solo é menos importante que a fração solúvel e disponível. Após a absorção, é comum as plantas morrerem devido à sua toxidez, deixando a área desprovida de vegetação e livre para que o Hg possa se movimentar no solo (Patra *et al.* 2021). A biodisponibilidade de metais pesados é outro ponto importante quando se fala em revegetação, pois a disponibilidade é um fator relevante para que as plantas possam fitoestabilizar o metal e se desenvolver no solo contaminado. A toxidez e a mobilidade de Hg no solo, bem como sua absorção pelas plantas, estão diretamente relacionadas à sua forma química (Natasha *et al.* 2020).

A tendência é que o Hg absorvido pelas plantas acumule-se no sistema radicular, o qual funciona como uma barreira (Patra *et al.* 2000). A estabilização, isto é, absorção, do Hg pelas plantas está relacionada à disponibilidade de Hg e à tolerância a este metal (Singh *et al.* 2023). Portanto, estes parâmetros precisam ser avaliados para identificar plantas com capacidade para revegetar e fitoestabilizar solos poluídos por Hg.

## 2.2.2 Problemas decorrentes da contaminação do solo por mercúrio

Quando presente no solo, o Hg tem potencial para estabelecer um ambiente adverso à reprodução e ao crescimento das plantas e microrganismos que, em muitos casos, não têm tolerância ao contaminante. Com o solo descoberto, processos de degradação tais como erosão, escoamento superficial e lixiviação de elementos químicos podem ocorrer e contaminar camadas inferiores do solo, atingindo o lençol freático, áreas próximas e cursos d'água (Simão, 2005).

A erosão do solo contaminado com Hg ocorre de forma lenta e geralmente despercebida, isso se deve a processos de degradação da cobertura vegetal que antecede a degradação do solo e o deixa susceptível ao impacto do vento e da água, contribuindo para o arraste de partículas e danos irreversíveis ao local contaminado (Issaka e Ashraf, 2017). Quando as partículas do solo são removidas devido à falta de estruturação (partículas leves como areia, silte e matéria orgânica), topografia declivosa e a eliminação da cobertura vegetal causada pela toxidez do Hg, o material transportado provoca níveis elevados de perturbação do ecossistema, contaminando e assoreando cursos d'água, eutrofização de rios e lagos e pode causar contaminações humanas (Shi *et al.* 2012). O processo de erosão do solo é extremamente complexo e, tratando-se de um solo contaminado com Hg, a complexidade do controle aumenta ainda mais.

Diversas técnicas disponíveis podem ser utilizadas para remediar o solo contaminado: estabilização, imobilização, vitrificação, dessorção térmica etc. (Awa e Hadibarata, 2020). No entanto, os métodos de estabilização de Hg são eficientes até concentrações próximas de 250 mg kg<sup>-1</sup>, além de serem caros, de difícil implementação em grandes áreas e ambientalmente invasivos (Wang *et al.* 2012). A longo prazo, o estabelecimento de uma cobertura vegetal é uma técnica disponível e com baixo custo para recuperação do solo (Coneza *et al.* 2007), com destaque para as gramíneas. As gramíneas possuem maior tolerância a condições de estresse e características vegetativas favoráveis, como alto crescimento, e são capazes de estabilizar o solo e o contaminante (Silva *et al.* 2022; Patra *et al.* 2021).

### 2.2.3 Comportamento do mercúrio no solo e sua interferência no crescimento das plantas

A toxidez e mobilidade do Hg no solo é dependente da sua especiação. As formas Hg<sup>0</sup>, Hg<sup>+2</sup> e MeHg, são comumente encontradas no solo devido a fatores que propiciam sua formação (Natasha *et al.* 2020). A persistência e dinâmica do Hg no solo é influenciada por fatores como temperatura, pH, textura, conteúdo de matéria orgânica e capacidade de troca catiônica do solo. Tais fatores determinam sua interação com as plantas e a eficácia de processos como a fitoestabilização, controlando a distribuição de Hg no perfil do solo (Kabata-Pendias, 2011; Zhang *et al.* 2020).

O Hg é absorvido pelo sistema radicular por transportadores de baixa afinidade, podendo ser transportado por transportadores/canais de Fe, Cu ou Zn. O Hg acumula-se preferencialmente no sistema radicular, com pequena porção transportada à parte aérea da planta, estando aproximadamente 80 % ligado à parede celular do sistema radicular (Chen *et*

*al.* 2012; Natasha *et al.* 2020; Patra e Sharma, 2000). As plantas em ambientes com altas concentrações de Hg sofrem com inúmeros problemas, tendo o crescimento e produção de biomassa restringidos. O perfilhamento é comprometido pelo Hg, pois há grande acúmulo deste metal no nó basal das gramíneas, onde se localizam as gemas que darão origem a novos perfilhos. Há comprometimento também da geração de novas folhas, visto que a geração de folhas está diretamente ligada ao perfilhamento da planta (Fujimaki *et al.* 2010).

Além das alterações significativas no crescimento das gramíneas, as variáveis fotossintéticas são também afetadas. Processos como a fotossíntese, respiração celular e a absorção de água e nutrientes são significativamente afetados devido à desestabilização da membrana celular provocada pelo estresse oxidativo, além da inibição de enzimas e deslocamento de organelas e íons essenciais em moléculas tais como a clorofila (Chen *et al.* 2009a, 2009b), visto que o Hg é capaz de competir e substituir metais como Mn, K e Mg, interferindo no processo fotossintético das plantas (Azevedo e Rodrigues, 2012; Calgaroto *et al.* 2010). A toxidez de Hg pode causar retardo nos fotossistemas e na cadeia de transporte de elétrons, além de poder causar o bloqueio da corrente transpiracional, devido à tendência de acumular-se no sistema radicular, interrompendo o fornecimento de água e nutrientes às gramíneas pela redução do diâmetro e formação de caloses nos tubos crivados do xilema, impedindo ou reduzindo a passagem de água e nutrientes (AbdElgawad *et al.* 2020; Chen *et al.* 2012).

O estresse oxidativo provocado pelo Hg nas plantas resulta na formação de EROs, formação influenciada pelos fotossistemas, cadeia de transporte de elétrons e respiração celular principalmente, que podem danificar lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, levando a um comprometimento da função celular e, eventualmente, à morte celular. As plantas possuem sistemas antioxidantes naturais que ajudam a mitigar esses danos, mas a presença de Hg pode sobrecarregar esses sistemas, especialmente em solos altamente contaminados, além de influenciar e competir na absorção de nutrientes essenciais para a ativação enzimática. Isso compromete a capacidade das plantas de crescer e se desenvolver adequadamente, reduzindo sua eficácia em processos como a fitoestabilização (Gill e Tuteja, 2010).

A fitoestabilização de Hg é um processo dependente da interação da planta com o contaminante. Determinadas plantas possuem alguns mecanismos de tolerância que lhes permite acumular Hg no sistema radicular e transportá-lo à parte aérea ou somente acumulá-lo no sistema radicular (Azevedo e Rodrigues *et al.* 2012; Cobbette e Goldsbrough, 2002). Tais espécies de planta podem alterar a rizosfera através da liberação de exsudados que complexam

o Hg, diminuindo a sua biodisponibilidade. Esses processos relacionam-se com condições de textura, pH e matéria orgânica do solo (Riyazuddin *et al.* 2022).

A utilização de práticas agrícolas, como a adição de matéria orgânica e correções de pH complementam a fitoestabilização, aumentando a imobilização do metal no solo (Natasha *et al.* 2020). Produtos orgânicos tais como biochar têm sido utilizados para contribuir na remediação de solos contaminados com Hg e manter a vegetação permanentemente, principalmente em locais que sofreram com processos erosivos. O biochar pode melhorar a capacidade de troca catiônica do solo, alterando suas propriedades químicas e aumentando a fertilidade por meio de uma maior disponibilidade de nutrientes para as plantas (Sanchez-Reinoso *et al.* 2019). Algumas espécies de plantas tolerantes a estresses ambientais, podem desenvolver com eficiência seu sistema radicular na área contaminada, resultando em maior agregação do solo e estabilização do contaminante. Entretanto, espécies com maior capacidade vegetativa e tolerantes ao Hg ainda estão sendo descobertas (Cristaldi *et al.* 2017).

#### 2.2.4 Classificação das plantas quanto a tolerância aos elementos potencialmente tóxicos

As plantas podem ser classificadas em quatro grupos distintos quanto a absorção e tolerância aos EPTs: (1) as plantas bioindicadoras absorvem os contaminantes de maneira que a concentração na folha reflete a do solo, a tal ponto que a fitotoxicidade do elemento provoca paralisação no seu desenvolvimento e a leva à morte; (2) plantas normais morrem devido à sua susceptibilidade a fitotoxicidade do contaminante; (3) plantas exclusoras podem se desenvolver em solos com uma série de contaminantes disponíveis, até o mecanismo de controle da absorção falhar e permitir a absorção desregulada, levando a planta à morte por toxidez. Essas plantas acumulam EPTs preferencialmente na raiz, com transporte limitado à parte aérea; e (4) plantas hiperacumuladoras podem tolerar condições excepcionais, suportando altas concentrações do contaminante, acumulando EPTs preferencialmente na parte aérea (Awa *et al.* 2020; Rabêlo *et al.* 2021).

Espécies vegetais que crescem em solos ricos em metais, como solos de áreas mineradas, desenvolveram mecanismos únicos de sobrevivência que lhes conferem uma vantagem seletiva nesses ambientes (Silva *et al.* 2022; Patra *et al.* 2004). Essas adaptações podem incluir mudanças na expressão gênica, modificações na estrutura da parede celular e o desenvolvimento de simbiontes microbianos que auxiliam na detoxificação de metais

(Kosakivska *et al.* 2020). O estudo dessas plantas amplia o conhecimento sobre a evolução vegetal. Silva *et al.* (2022) plantaram *B. decumbens* em rejeitos de mineração e, apesar das alterações no seu estado ecofisiológico, a planta pôde se desenvolver em condições adversas, visto que normalmente é possível encontrar tal espécie crescendo espontaneamente em áreas de rejeito. Contudo, a revegetação é, geralmente, funcional apenas em condições de baixas concentrações de contaminantes no solo, sendo a *B. decumbens* planta candidata a mais estudos (Awa *et al.* 2020; Patra *et al.* 2021).

A revegetação com plantas fitoestabilizadoras estabelece uma cobertura vegetal que previne a disseminação do contaminante no perfil do solo, por lixiviação, erosão ou escoamento superficial, promovendo a sua baixa mobilidade e biodisponibilidade. Plantas destinadas a revegetação de áreas contaminadas devem apresentar tolerância ao contaminante e restringir seu transporte à parte aérea. Essa restrição na absorção e transporte do contaminante pode ser estimada por meio dos fatores de bioconcentração (FBC) e translocação (FT). O processo de fitoestabilização de Hg deve apresentar FBC e FT inferior a 1, para que o processo mantenha o Hg estabilizado no solo (Buscaroli, 2017).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa, desenvolvida na Universidade Federal de Lavras, foi dividida em duas partes: a primeira contou com um teste de germinação das sementes e foi desenvolvida no Laboratório Central de Pesquisa em Sementes (LCPS) e a segunda com o desenvolvimento do experimento em casa de vegetação, no Departamento de Ciência do Solo (DCS).

#### 3.1 Teste de germinação

Para a montagem do experimento foram utilizadas caixas tipo gerbox previamente esterilizadas, utilizando como substrato papel mata-borrão umedecido na proporção de 2,5 vezes a massa seca do substrato (BRASIL, 2009). A contaminação foi realizada com base no peso seco do substrato, iniciando-se pela dose mais elevada e, através de diluição, as demais doses.

Após a contaminação do substrato, procedeu-se com a semeadura, sendo adicionadas em cada caixa gerbox 50 sementes. Posteriormente, as caixas foram armazenadas em

incubadora de BOD (Biochemical Oxygen Demand) com fotoperíodo de 12 horas de escuro e 12 horas de luz (1500 lux) e temperatura de 25 °C (BRASIL, 2009).

O delineamento estatístico empregado foi o inteiramente casualizado, cujas sementes de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk foram expostas a seis doses de Hg (0; 1,2; 7,2; 21,6; 43,2 e 86,4 mg L<sup>-1</sup> de solução), na forma de cloreto de HgCl<sub>2</sub>, totalizando seis tratamentos com quatro repetições.

A duração do teste foi de 21 dias, de acordo com o recomendado para a espécie (Brasil, 2009). Durante a condução do ensaio, as sementes foram submetidas as avaliações de porcentagem de germinação, mensuração do comprimento radicular e aéreo das plântulas, índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio de germinação (TMG) e incerteza de germinação (IG). Após a coleta do experimento, a expressão de enzimas que atuam no sistema antioxidante, no ciclo do ácido cítrico e no metabolismo de lipídeos foram mensuradas.

### 3.1.1 Porcentagem de sementes germinadas e avaliação do comprimento das plântulas

As contagens do número de sementes germinadas foram realizadas aos 7, 14 e 21 dias. Após o término, foi calculada a porcentagem de germinação de acordo com a fórmula a seguir:

$$G(\%) = \left( \frac{N}{T} \right) * 100$$

Onde G é a porcentagem de sementes germinadas; N é o número de sementes germinadas em cada repetição; T é o total de sementes por repetição.

O comprimento da parte aérea e do sistema radicular foi mensurado utilizando plântulas normais, aos 21 dias. Para a parte aérea, a mensuração foi feita do colo até a extremidade da folha completamente expandida e, para o sistema radicular, a mensuração foi realizada do colo até a extremidade do sistema radicular.

### 3.1.2 Cálculo do índice de velocidade de germinação (IVG)

Para o cálculo do IVG, as avaliações foram realizadas a cada dois dias, contados a partir da semeadura até o dia da última contagem do teste de germinação (21 dias). Para calcular o IVG, foi empregada a fórmula proposta por Maguire (1962):

$$IVG = \frac{E1+E2+\dots+E_n}{N1+N2+\dots+N_n}$$

Em que IVG é o Índice de Velocidade de Germinação;  $E_n$  representa o número de sementes normais germinadas a cada 2 dias;  $N_n$  representa o número de dias após a primeira semente germinada, até o término do teste de germinação.

### 3.1.3 Cálculo do tempo médio de germinação (TMG)

Para o cálculo do TMG foi empregada a fórmula proposta por Labouriau (1983):

$$TMG = \frac{\sum N_i \times T_i}{\sum N_i}$$

Em que TMG é o tempo médio de germinação;  $N_i$  é o número de plântulas normais contabilizadas no intervalo, entre cada contagem, a cada dois dias após a germinação das primeiras sementes;  $T_i$  é o tempo decorrido entre o início da germinação e a  $i$ -ésima contagem.

### 3.1.4 Cálculo da incerteza de germinação (IG)

Para o cálculo da IG foi empregada a fórmula proposta por Labouriau e Valadares (1976):

$$IG = - \sum_{i=1}^k (f_i \times \ln(f_i))$$

Em que IG é a incerteza da germinação;  $f_i$  é a razão de sementes germinadas em cada intervalo de tempo pelo número total de sementes germinadas;  $k$  é o número total de intervalos de tempo observados;  $\ln$  é o logaritmo natural.

### 3.1.5 Avaliação das atividades enzimáticas

Após a coleta, sementes e plântulas foram maceradas em almofariz na presença de polivinilpirrolidona (PVP) e nitrogênio líquido. Amostras de 100 mg foram separadas e armazenadas em ultrafreezer (-86 °C) até o momento da extração.



Para determinação das atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), catalase (CAT, EC 1.11.1.6), esterase (EST, EC 3.1) e malato desidrogenase (MDH, EC 1.1.1.37), foram adicionados 250 µL de tampão de extração contendo cloridrato de tris (Tris HCl) a pH 8,0 e 0,1 % de β-mercaptaenol. Para determinação da atividade da enzima peroxidase (PO, EC 1.11.1.7), foram adicionados 250 µL de tampão de extração contendo fosfato de sódio bibásico a 0,034 M, sacarose a 0,2 M, PVP, ditioneitol (DTT) a 0,003 M, ácido ascórbico a 0,0057 M, borato de sódio a 0,0025 M, polietilenoglicol 6000 (PEG) e 0,2 % de β-mercaptaenol.

As amostras permaneceram em contato com a solução de um dia para o outro (18h) e posteriormente foram centrifugadas a 14000 rpm por 30 minutos, a 4 °C. Do sobrenadante, 60 µL foram retirados com posterior aplicação em gel de poliacrilamida 7,5% (gel separador) e 4,5% (gel concentrador). A corrida eletroforética foi efetuada à 150 volts por 6 horas. Terminada a corrida, os géis foram revelados conforme metodologia descrita por Alfenas (2006).

A interpretação dos resultados foi baseada na análise qualitativa dos géis de eletroforese, levando-se em consideração a presença ou ausência, bem como a intensidade de cada uma das bandas eletroforéticas em cada sistema enzimático avaliado. Para cada enzima foram analisados quatro géis, representando quatro repetições. Para a análise quantitativa das bandas presentes nos géis foi utilizado o software de análise de imagens ImageJ (Rasband, 1997), onde a intensidade das bandas foi quantificada em pixel e convertida em porcentagem (%).

### **3.2 Experimento em casa de vegetação**

O solo utilizado foi o horizonte C de um Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico típico (Santos *et al.* 2018), coletado na camada de 2,5 a 3 m, no campus da Universidade Federal de Lavras (21°14'09,1'' S e 44°58'28,3'' W). A classe de solo escolhida foi devido a esta ser a classe de solo mais comum no Brasil. Foi escolhido o horizonte C deste solo em função das áreas contaminadas apresentarem horizontes subsuperficiais expostos, resultante da erosão e revolvimento de camadas superiores. O solo foi passado em peneira com malha de 2 mm de abertura de e seco ao ar. Em seguida, foram retiradas três amostras compostas para caracterização física e química do solo. Para fertilização e verificação de eventual contaminação do solo com Hg foram realizadas previamente análises químicas para determinar a concentração de Hg e o teor de nutrientes do solo. O pH foi medido em água; Ca, Mg e Al foram determinados

utilizando extrator de KCl 1 mol L<sup>-1</sup>; P remanescente foi determinado utilizando solução de CaCl<sub>2</sub> contendo 60 mg L<sup>-1</sup> de P; S foi determinado por extrator de fosfato monocálcico em ácido acético; K, Na, Fe, Zn, Mn e Cu foram determinados utilizando extrator Mehlich 1; H<sup>+</sup>Al foi determinado em solução tampão SMP; B foi determinado em extrator de água quente; matéria orgânica foi estimada por oxidação com dicromato de sódio em ácido sulfúrico e o Hg foi determinado pelo método de digestão ácida em forno de micro-ondas (Tabela 1).

Tabela 1 – Propriedades químicas e físicas do Latossolo Vermelho-Amarelo Distrófico típico, horizonte C.

| <b>Parâmetro</b>         | <b>Unidade</b>         | <b>Valor</b> |
|--------------------------|------------------------|--------------|
| pH (água)                | -                      | 5,6          |
| K                        | mg dm <sup>-3</sup>    | 11,16        |
| P                        | mg dm <sup>-3</sup>    | 0            |
| Na                       | mg dm <sup>-3</sup>    | 9            |
| Ca                       | cmolc dm <sup>-3</sup> | 0,8          |
| Mg                       | cmolc dm <sup>-3</sup> | 0,23         |
| Al                       | cmolc dm <sup>-3</sup> | 0,1          |
| H+Al                     | cmolc dm <sup>-3</sup> | 1,3          |
| Soma de Bases            | cmolc dm <sup>-3</sup> | 1,06         |
| CTC a pH natural         | cmolc dm <sup>-3</sup> | 1,16         |
| CTC a pH 7               | cmolc dm <sup>-3</sup> | 2,36         |
| Saturação por bases      | %                      | 44,86        |
| Saturação por alumínio   | %                      | 8,62         |
| Matéria Orgânica do solo | dag kg <sup>-1</sup>   | 0,18         |
| P-Remanescente           | mg dm <sup>-3</sup>    | 10,7         |
| Zn                       | mg dm <sup>-3</sup>    | 1,6          |
| Fe                       | mg dm <sup>-3</sup>    | 14,3         |
| Mn                       | mg dm <sup>-3</sup>    | 1,2          |
| Cu                       | mg dm <sup>-3</sup>    | 0,21         |
| B                        | mg dm <sup>-3</sup>    | 0,06         |
| S                        | mg dm <sup>-3</sup>    | 3,2          |
| Hg                       | mg kg <sup>-1</sup>    | 0,030        |
| Areia                    | %                      | 41           |
| Silte                    | %                      | 22           |
| Argila                   | %                      | 37           |

Foram adicionados aos vasos 5 kg de solo e, em seguida, foi realizada a adubação de plantio com 80 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> utilizando fosfato dipotássico; 80 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O utilizando fosfato dipotássico e cloreto de potássio e 20 kg ha<sup>-1</sup> de S utilizando sulfato de magnésio, em todas as parcelas, seguindo as recomendações de Cantarella *et al.* (2022). Após a adubação, o solo foi revolvido para homogeneização. Em seguida, o solo permaneceu incubado por 30 dias, mantendo-se a umidade do solo ao redor de 60 %. Decorridos 30 dias, a aplicação das doses de Hg (utilizando HgCl<sub>2</sub>) foi realizada, seguindo a recomendação da ISO 11.269-2, utilizando diluição em água para melhor distribuição do Hg no solo (ISO 2012).

O delineamento estatístico utilizado foi o de blocos casualizados, onde a *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk foi exposta a seis doses de Hg (0; 1,2; 7,2; 21,6; 43,2 e 86,4 mg kg<sup>-1</sup> de solo), totalizando seis tratamentos com quatro repetições. As doses de Hg foram determinadas da seguinte forma: as quatro primeiras doses foram determinadas com base na literatura (Lima *et al.* 2019; Lima *et al.* 2020), a quinta dose foi determinada a partir da multiplicação da quarta dose por dois e a sexta dose foi determinada a partir da multiplicação da quinta dose por dois.

O plantio foi realizado um dia após a contaminação do solo com Hg. Após a germinação e emergência, foi realizado o desbaste deixando apenas seis plantas por vaso. Após 30 dias da emergência foi realizada uma adubação com nitrogênio (40 kg ha<sup>-1</sup> de N utilizando nitrato de amônio); aos 70 dias após a adubação nitrogenada, foi realizada mais uma aplicação de N e uma aplicação de K (40 kg ha<sup>-1</sup> de N utilizando nitrato de amônio e 30 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O utilizando cloreto de potássio), afim de não comprometer o desenvolvimento das plantas (Cantarella *et al.* 2022). As plantas foram cultivadas por 150 dias.

Um dia antes da colheita, foi contabilizado o número de perfilhos e de folhas, mensurado o teor de clorofila e as variáveis fotossintéticas. Após a coleta das plantas foram avaliadas a massa fresca e seca de raízes e parte aérea, concentração de Hg e o teor de nutrientes nas raízes e na parte aérea e o teor disponível e semi-total de Hg no solo.

### 3.2.1 Determinação da concentração de mercúrio no solo

Para determinar a concentração semi-total de Hg no solo foi utilizado o método de digestão ácida em forno de micro-ondas. O solo foi coletado ao final do experimento e seco em temperatura ambiente até atingir massa constante. Após a secagem foi passado em peneira de 2 mm de abertura de malha e, em seguida, as amostras de terra fina seca ao ar (TFSA) foram

maceradas em almofariz de ágata a fim de que o material passasse em uma peneira de 150  $\mu\text{m}$  de abertura. Amostras de 0,25 g foram transferidas para tubos de teflon, adicionando-se 5 mL de ácido nítrico concentrado. Os tubos contendo as amostras foram selados hermeticamente e levados ao forno digestor de micro-ondas onde a temperatura foi elevada para 175 °C por 10 minutos, a pressão de 4,42 atm. Após a digestão, as amostras ficaram em repouso até esfriar e, em sequência, adicionou-se o volume de 5 mL de água ultrapura e procedeu-se com a filtração. Após a filtração, o conteúdo dos tubos de teflon foi transferido para tubos Falcon de 50 mL e ajustado o volume para 50 mL com água ultrapura (Silva *et al.* 2009; Penha *et al.* 2017; USEPA, 2007). Para o controle de qualidade, três brancos e três amostras certificadas de solo seco e pulverizado (Montana soil 2 - NIST SRM 2711A) foram digeridas para garantia de precisão dos procedimentos analíticos. O Hg foi determinado por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS).

Para determinação do teor disponível de Hg no solo, amostras de 10  $\text{cm}^3$  foram coletadas e colocadas em um frasco Erlenmeyer de 125 mL com 100 mL de uma solução Mehlich-1 (0,0125  $\text{mol L}^{-1}$  de ácido sulfúrico + 0,05  $\text{mol L}^{-1}$  de ácido clorídrico). Os frascos foram então agitados por 5 min em um agitador horizontal a 120 rpm (Mehlich, 1953). Os extratos decantaram por 24 h, e os sobrenadantes foram coletados para análise e determinados por ICP-MS.

### 3.2.2 Avaliação do número de perfilhos e folhas

O número de perfilhos e folhas foi contabilizado no dia anterior à colheita.

### 3.2.3 Avaliação do teor de clorofila e parâmetros fotossintéticos

A determinação do teor de clorofila foi realizada utilizando-se o clorofilômetro SPAD-502 (Soil Plant Analysis and Development). A mensuração foi realizada na primeira folha totalmente expandida de cima para baixo, no dia anterior à colheita (Yang *et al.* 2014)

A avaliação de fotossíntese e trocas gasosas ocorreu com auxílio do aparelho analisador de gases infravermelho portátil (IRGA), modelo LI-6400/XT, utilizando a primeira folha completamente expandida de cima para baixo, no dia anterior à colheita (Ramazan *et al.* 2021).

O fluxo fotossintético (A), condutância estomática (gs), concentração intercelular de CO<sub>2</sub> (ci) e taxa de transpiração (E) foram mensuradas com Densidade de Fluxo de Fótons Fotossintéticos (PPFD) fixada em 1500  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , concentração de CO<sub>2</sub> na atmosfera de 400  $\pm 20 \mu\text{mol mol}^{-1}$  CO<sub>2</sub> e condições naturais de temperatura e umidade. A eficiência de carboxilação (k) foi calculada pela fórmula a seguir, proposta por Farquhar e Sharkey (1982):

$$k = A/ci,$$

A eficiência instantânea de uso da água (WUE) e eficiência intrínseca de uso da água (WUEi) foram calculadas pela razão entre A, E e gs, de acordo com as fórmulas a seguir:

$$\text{WUE} = A/E$$

$$\text{WUEi} = A/gs,$$

As mensurações foram realizadas, no período da manhã, das 7 às 11 horas.

### 3.2.4 Avaliação da massa fresca e seca de raízes e parte aérea

A avaliação foi feita após a colheita, onde foi imediatamente pesada a massa verde das plantas. Após a pesagem da massa verde, as plantas foram colocadas em sacos de papel e secas em estufa de circulação de ar forçado a 65 °C até massa seca constante. Posteriormente, o material foi pesado novamente para obter a massa seca.

### 3.2.5 Avaliação da concentração de Hg e nutrientes nos tecidos vegetais

Após a secagem do material vegetal em estufa a 65 °C, o material vegetal foi moído em moinho do tipo Wiley e passado em peneira de 1 mm de abertura de malha. Para a obtenção das concentrações de Hg e dos nutrientes, foi utilizado o método de digestão ácida em forno de micro-ondas, onde 0,1 g de amostras sólidas foram coletadas e, em seguida, foram transferidas para tubos de teflon, adicionando-se 1 mL de ácido nítrico concentrado, onde as amostras permaneceram incubadas em solução por 12 horas. Após as 12 horas, 2 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 30% foram adicionados aos tubos contendo as amostras, e estes foram selados hermeticamente e submetidos à digestão em forno de micro-ondas, que ocorreu em três etapas: (i) aquecimento gradual durante 10 minutos até atingir 175 °C; (ii) manutenção da temperatura a 175 °C por mais 10 minutos; e (iii) resfriamento até temperatura ambiente. Após o resfriamento, as

amostras foram filtradas, transferidas para tubos falcon de 15 mL, e o volume foi ajustado para 10 mL com água ultrapura (Benedito *et al.* 2025; Silva *et al.* 2009). Para o controle de qualidade, três brancos e três amostras certificadas de folhas de espinafre (Spinach leaves - NIST SRM 1570A) foram digeridas para garantia de precisão dos procedimentos analíticos. O Hg foi determinado por ICP-MS.

O N foi determinado pelo método Kjeldahl (Silva *et al.* 2009). Os demais nutrientes foram determinados por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) (Khan *et al.* 2022).

### 3.2.6 Cálculos relacionados à absorção e transporte de Hg

O FBC foi calculado pela razão entre a concentração de Hg na parte aérea das plantas e o teor disponível de Hg no solo, enquanto o FT foi calculado pela razão entre a concentração de Hg na parte aérea e nas raízes das plantas (Buscaroli, 2017).

## 3.3 Análise estatística dos dados

Tanto a normalidade quanto à homoscedasticidade dos resíduos foram verificadas através dos testes de Shapiro Wilk e Bartlett antes da análise dos dados. Todos os dados foram submetidos à análise de variância (teste F). A comparação das doses de Hg para *B. decumbens* foi feita com análise de regressão utilizando o pacote ExpDes.pt v. 1.2.2 (Ferreira *et al.* 2014). A seleção dos modelos foi feita com base na significância da análise de variância ( $p < 0,05$ ) e na significância dos parâmetros do teste t de Student. A análise estatística foi realizada utilizando o software estatístico R (Team, 2023). Os gráficos foram criados e plotados com SigmaPlot (v. 12.5, Systat Software Inc.) e os resultados foram expressos como médias  $\pm$  erro padrão da média. Os símbolos (\*) e (\*\*) nas equações de regressão representam os níveis de significância de 5 e 1%, respectivamente.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

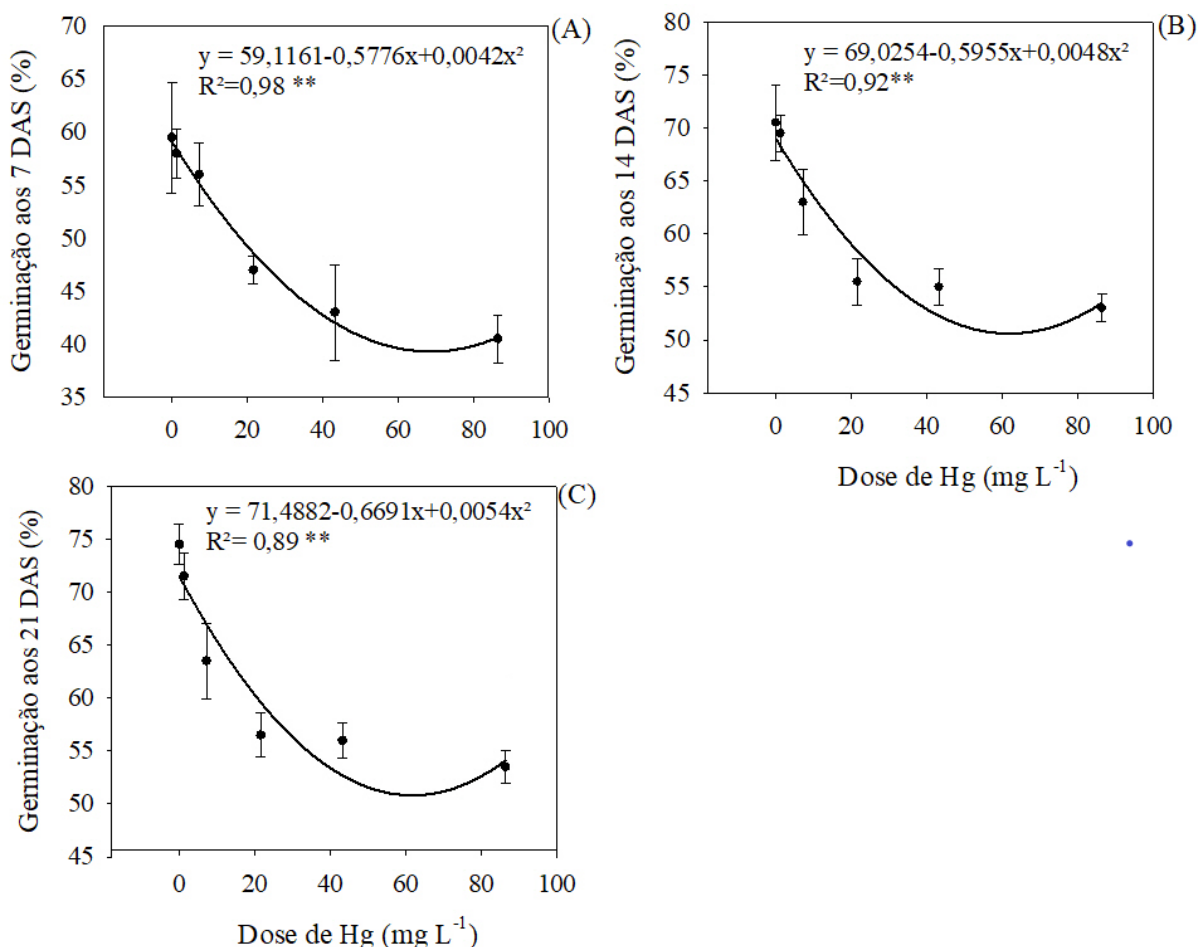
### 4.1 Experimento de germinação

#### 4.1.1 Porcentagem de germinação da *Brachiaria decumbens* exposta ao mercúrio

A porcentagem de germinação da *B. decumbens* foi significativamente influenciada pelas doses de Hg (Figura 1). A porcentagem de germinação foi inferior a 50% na primeira contagem (7 dias) para as doses de 21,6; 43,2 e 86,4 mg L<sup>-1</sup> de Hg (Figura 1A). Nas doses de 1,2 e 7,2 mg L<sup>-1</sup> de Hg a porcentagem de germinação das sementes apresentou valores próximos ao tratamento controle. O efeito provocado pelo Hg na germinação das sementes após 14 e 21 dias da semeadura foi semelhante ao observado aos 7 dias (Figuras 1B-C). No entanto, independentemente da dose de Hg, a porcentagem de germinação das sementes ficou acima de 50% nos dois últimos períodos de avaliação.



Figura 1 – Porcentagem de germinação das sementes de *Brachiaria decumbens* em função das doses de mercúrio aos 7 (A), 14(B) e 21(C) dias após a semeadura (DAS). Resultados expressos como médias, onde as barras de erro representam o erro padrão da média.



A porcentagem de germinação observada na dose de Hg de 1,2 mg L<sup>-1</sup> foi próxima ao tratamento controle, indicando que doses baixas de Hg não interferem significativamente no processo de germinação. O Hg em baixas concentrações não afetou significativamente a germinação de sementes de *Albizia lebbbeck* (Muhammad *et al.* 2014), *Cajanus cajan* (Patnaik e Mohanty, 2013), *Brassica napus* (Rezaei *et al.* 2013) e *Vigna radiata* (Muhammad *et al.* 2015). O efeito do Hg depende da tolerância do genótipo e dos seus mecanismos para mitigar a toxidez, respondendo de formas diferentes ao metal (Paciullo, 2016). Kalinhoff e Calderón (2022) trabalharam com *Bidens pilosa*, *Taraxacum officinale*, *Heliocarpus americanus* e *Lactuca sativa*, e doses de Hg de 0; 0,6; 2,0 e 4,0 mg L<sup>-1</sup>, e observaram que *B. pilosa* e *L. sativa* apresentaram alta germinação em condições tóxicas, seguidas por *H. americanus*. No entanto,

nas duas últimas doses de Hg, a *T. officinale* não germinou. Tozzi *et al.* (2008) observaram que em concentrações de 100 e 200 mg L<sup>-1</sup> de Hg, *B. pilosa* e *Galinsoga parviflora* tiveram a germinação inibida. Altas concentrações de Hg podem causar redução ou inibir a germinação das sementes, conforme observado na Figura 1. Os mecanismos inibitórios da germinação de sementes e do desenvolvimento embrionário causados pelo Hg são pouco conhecidos, mas sabe-se que o Hg substitui os grupos -SH das proteínas por pontes S–Hg–S, afetando as atividades da amilase e da protease, cruciais para a germinação das sementes. Contudo, gramíneas e dicotiledôneas apresentam tolerância ao Hg a depender da variedade ou cultivar (Cui *et al.* 2013).

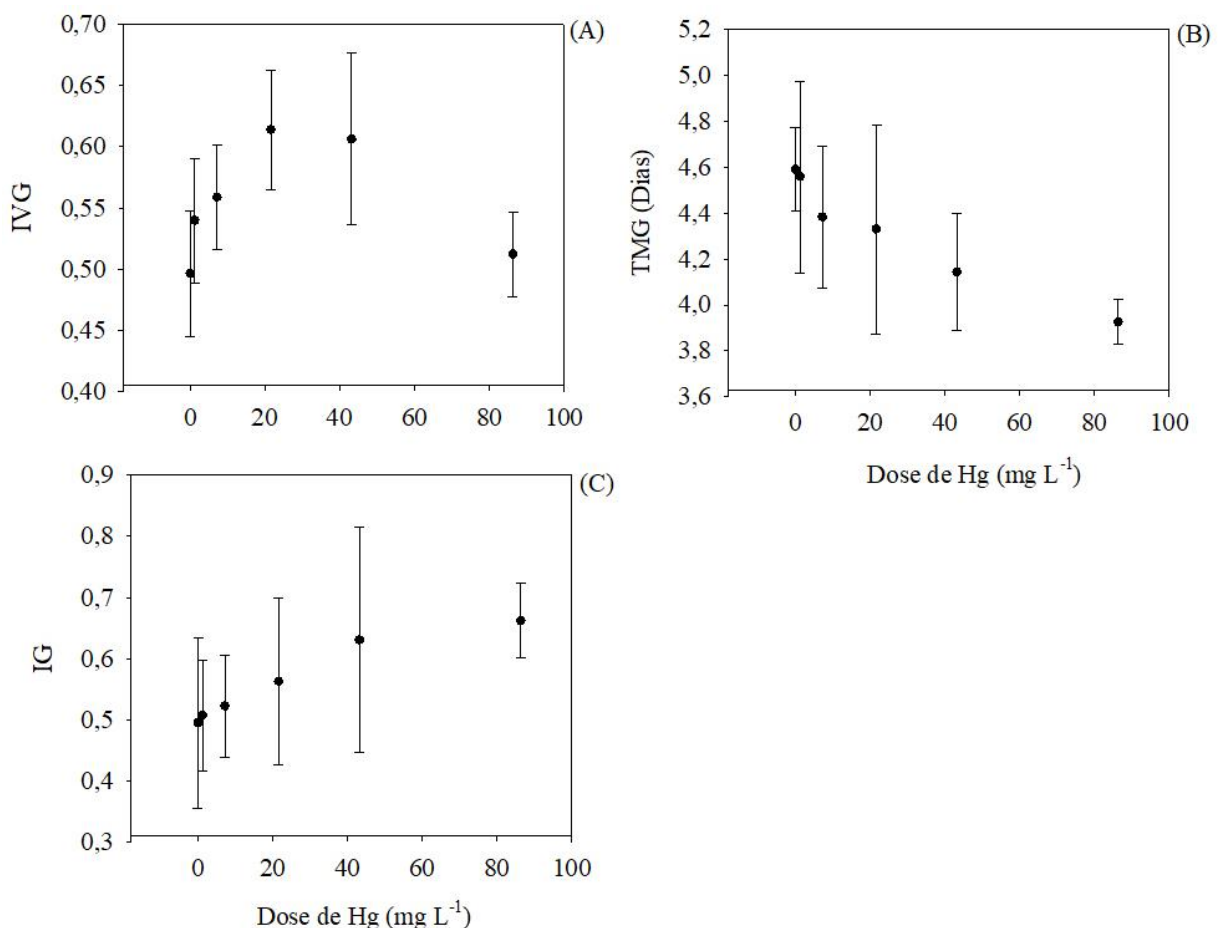
Algumas espécies de gramíneas, tais como trigo, podem ter maior resposta germinativa ao Hg. Jamal *et al.* (2006) submeteram duas variedades de trigo (*Triticum aestivum* var. Blue Silver e *T. aestivum* var. Punjab 85) ao Hg e observaram que a germinação das duas variedades foi 80 e 70%, respectivamente, quando expostas a 25 mg L<sup>-1</sup> de Hg, superando a germinação do tratamento controle. Isso significa que o Hg pode provocar a quebra de dormência em algumas sementes e proporcionar apenas a aceleração na germinação. Contudo, seus efeitos deletérios refletirão no desenvolvimento da planta, conforme constatado por outros autores (Bae *et al.* 2016; Ling *et al.* 2010; Muhammad *et al.* 2015).

A interferência na atividade de certas enzimas, como amilases e proteases, essenciais para a germinação das sementes, afeta o processo de germinação das sementes e o subsequente crescimento do hipocótilo e radícula, estando envolvidas na degradação de reservas nutricionais, como amido e proteínas, que são fundamentais para o crescimento inicial da plântula (Riyazuddin *et al.* 2022; Sengar *et al.* 2010). O efeito do Hg na *B. decumbens* indica que a planta possui tolerância ao contaminante, pois ao final do teste, observou-se que a porcentagem de germinação ficou acima de 50% para a dose de 86,4 mg, enquanto a dose de 1,2 e 7,2 mg ficaram próximas ao tratamento controle. No entanto, como discutido anteriormente, a germinação não garante que a plântula irá se desenvolver.

#### 4.1.2 Índice de velocidade de germinação (IVG), Tempo médio de Germinação (TMG) e Incerteza de germinação (IG) da *Brachiaria decumbens* exposta ao mercúrio

O Hg não influenciou significativamente os índices calculados relacionados à germinação de sementes de *B. decumbens*, de forma que não houve diferenças estatísticas na análise de variância (Figura 2).

Figura 2 – A) Índice de velocidade de germinação (IVG), B) Tempo médio de germinação (TMG) e C) Incerteza de germinação (IG), em sementes de *Brachiaria decumbens* em função das doses de mercúrio. Resultados expressos como médias, onde as barras de erro representam o erro padrão da média.



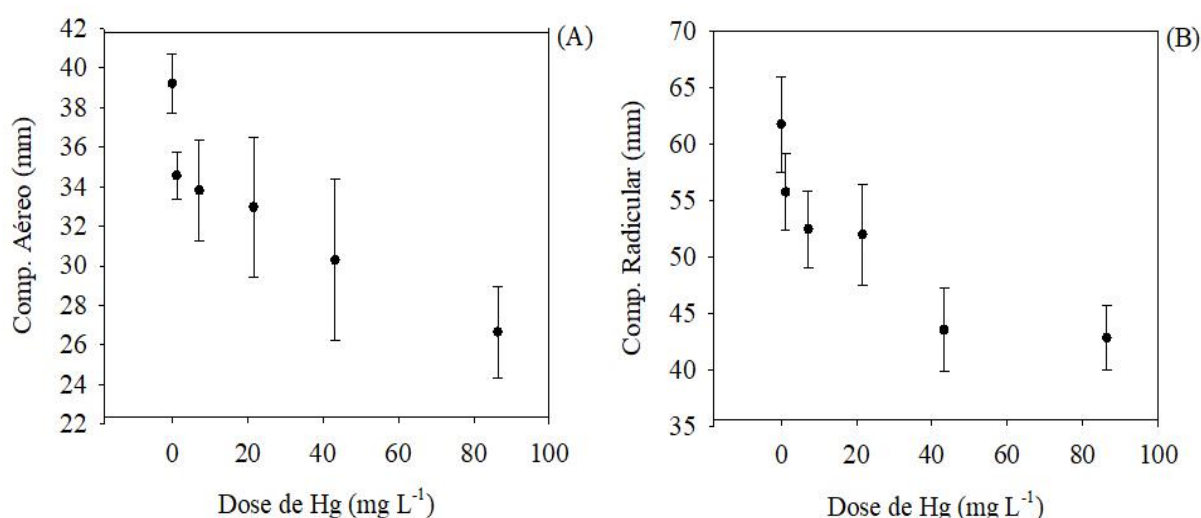
Apesar dos resultados mostrados na Figura 2 não terem sido alterados significativamente pelas doses de Hg, podemos inferir que o aumento do IVG nas doses medianas de Hg associados ao menor TMG indicam aceleração no processo de germinação. Tal fato pode estar relacionado à tentativa da *B. decumbens* de diluir o Hg absorvido pela semente

por meio do crescimento. No entanto, o aumento do IG indica maior incerteza quanto a germinação e desenvolvimento da plântula (Borghetti e Ferreira, 2004). Tais variáveis, apesar de não terem sido alteradas significativamente, representaram o que foi observado durante a condução do estudo, correlacionando-se com o percentual de germinação (Figura 1). Sob estresse de EPTs, as sementes podem apresentar redução e desuniformidade de germinação devido a alterações no funcionamento de enzimas hidrolíticas, metabolismo redox e acúmulo de Hg em pontos específicos da semente (Kranner *et al.* 2011). Diversos autores relatam que a contaminação por EPTs tem efeito direto na germinação e nos índices calculados (Bezini *et al.* 2019; Moosavi *et al.* 2012; Silva *et al.* 2022).

#### 4.1.3 Comprimento aéreo e radicular da *Brachiaria decumbens* exposta ao mercúrio

O Hg não afetou significativamente o comprimento do sistema radicular e da parte aérea de plântulas de *B. decumbens*, não havendo diferenças estatísticas entre os tratamentos (Figura 3).

Figura 3 – Comprimento aéreo (A) e radicular (B) em plântulas de *Brachiaria decumbens* em função das doses de mercúrio. Resultados expressos como médias, onde as barras de erro representam o erro padrão da média.



A avaliação do comprimento do sistema radicular e da parte aérea tem sido utilizada para estimar a toxidez induzida pelos EPTs (Sharma e Dietz, 2009). Não houve diferenças

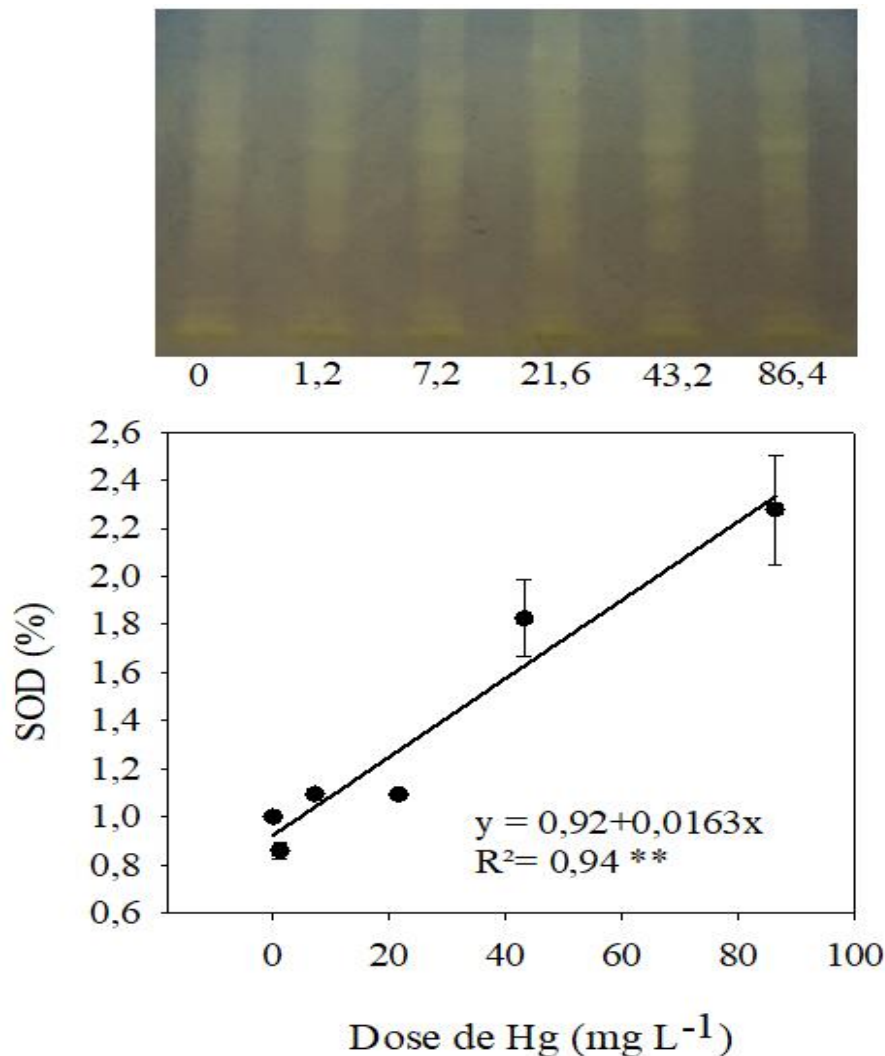
estatísticas entre as doses. No entanto, pode-se observar que houve decréscimo nos comprimentos em função do aumento das doses de Hg (Figura 3). Redução significativa do eixo embrionário foi observada por Zeferino (2021), em *Melanoxylon braúna* exposta a doses de Hg de 3 e 5 mmol L<sup>-1</sup>, onde a absorção de água foi afetada significativamente na dose de 5 mmol L<sup>-1</sup> de Hg. Metais e metalóides como Hg, Pb e As podem interromper divisões celulares por causarem perturbações no fuso mitótico, promovendo redução no crescimento ou ausência da radícula (Liu *et al.* 2014; Muccifora e Bellani, 2013). As aquaporinas são proteínas encontradas nas membranas que facilitam a passagem de água na célula por meio da formação de um canal (Taiz *et al.* 2017). O Hg atua na interrupção da absorção de água através da ligação do metal com resíduos de cisteína próximo ao poro de proteínas aquaporinas, impedindo ou reduzindo significativamente a embebição da semente, afetando a germinação e o crescimento (Cardoso *et al.* 2015). As plantas possuem mecanismos para evitar a absorção do Hg, mas, no início do seu desenvolvimento e durante o processo germinativo são susceptíveis a falta de recursos como água, absorvendo de forma desenfreada a solução do solo ou do substrato de cultivo contendo o contaminante (Kumar e Sharma, 2020).

#### 4.1.4 Efeito do mercúrio em enzimas do sistema antioxidante, ciclo do ácido cítrico e do metabolismo de lipídeos em sementes de *Brachiaria decumbens*

##### 4.1.4.1 Superóxido dismutase (SOD)

Resultados significativos promovidos pela exposição das sementes ao Hg foram observados pela análise eletroforética da enzima SOD (Figura 4). Para cada miligrama de Hg adicionado, a atividade da enzima foi acrescida em 0,0163 % em relação ao tratamento controle, onde as doses 43,2 e 86,4 mg L<sup>-1</sup> de Hg promoveram aumento de 83 e 128 %, respectivamente, na atividade da SOD. Apenas as plantas expostas à dose de Hg de 1,2 mg L<sup>-1</sup> apresentaram menor atividade (-14 %) em relação ao tratamento controle.

Figura 4 – Atividade da enzima superóxido dismutase em sementes de *Brachiaria decumbens* em função das doses de mercúrio. Resultados expressos como médias, onde as barras de erro representam o erro padrão da média.



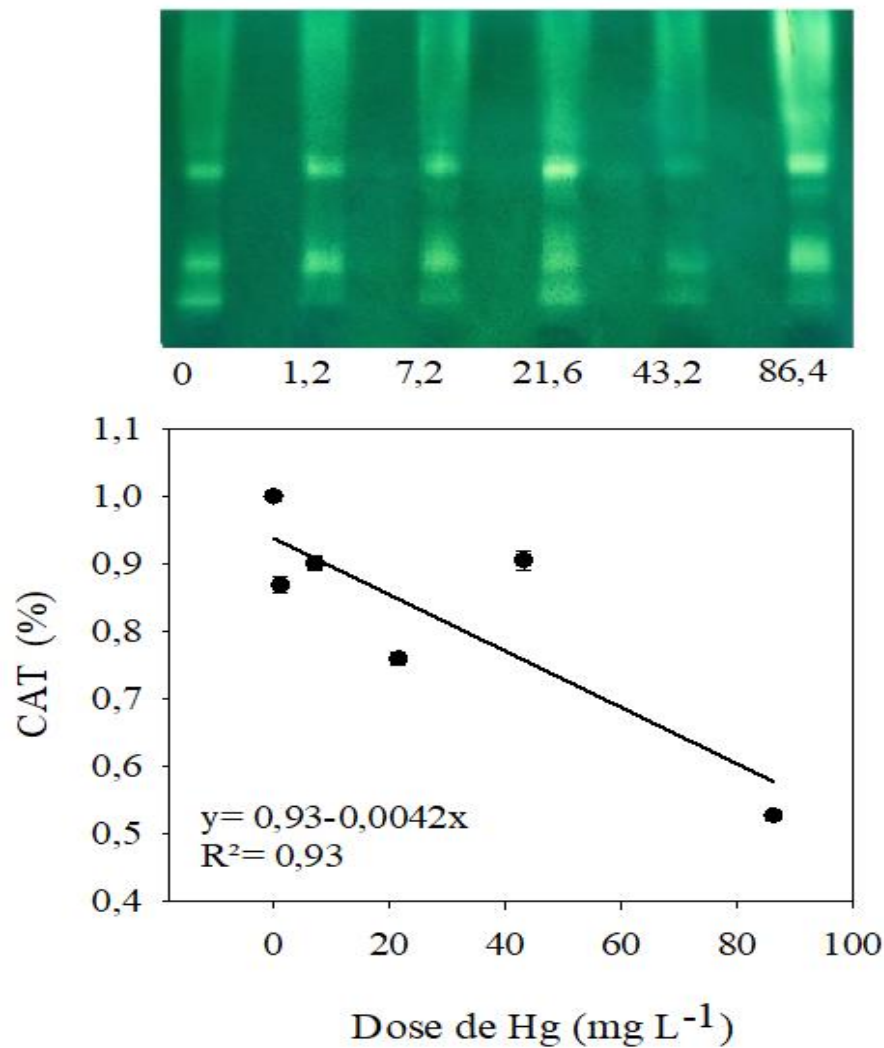
A SOD atua na dismutação do  $O_2^{\cdot -}$  em  $H_2O_2$  (Gil e Tuteja, 2010). De acordo com Kumar e Sharma (2020) o Hg aumentou a atividade da SOD em sementes de *Brassica juncea* expostas a dose de  $40 \text{ mg L}^{-1}$  de Hg. Em sementes de *Triticum aestivum* submetidas a toxidez por chumbo (Pb), a atividade de SOD aumentou em 36% em comparação ao controle quando as sementes foram expostas a dose de  $1 \text{ g L}^{-1}$  (Lamhamdi *et al.* 2011). Quando expostas a contaminação por metais, as sementes de *B. decumbens* podem ativar mecanismos antioxidantes ou vias de sinalização que regulam proteínas antioxidantes, resultando em uma resposta ao estresse (Sharma e Kumar, 2015).

Até a dose de Hg de 21,6 mg L<sup>-1</sup> é possível especular que as sementes de *B. decumbens* não foram afetadas pelo estresse oxidativo durante a germinação, visto que a SOD apresentou até essa dose expressão considerada normal com base no tratamento controle (Gill e Tuteja, 2010; Verma e Dubey, 2003). Por outro lado, o aumento observado na atividade da SOD a partir da exposição das sementes a doses maiores de Hg pode ser atribuído ao aumento nas concentrações do radical superóxido. Isto provavelmente induziu a síntese de novas proteínas enzimáticas que atuaram na detoxificação celular, visto que os níveis de atividade da SOD são de maior relevância na manutenção do sistema de defesa geral das plantas submetidas ao estresse oxidativo (Demidchik, 2015).

#### 4.1.4.2 Catalase (CAT)

A atividade da CAT nas sementes de *B. decumbens* foi alterada significativamente pelas doses de Hg, adequando-se a um modelo linear. A cada miligrama de Hg adicionado, a atividade da CAT foi reduzida em 0,0042 %, onde a influência do Hg resultou em menor atividade enzimática em todas as doses em relação ao tratamento controle (Figura 5). As sementes expostas a dose de Hg de 86,4 mg L<sup>-1</sup> foram as mais afetadas, reduzindo a atividade da enzima em 47 % em relação ao tratamento controle. A atividade da CAT nas doses de Hg de 1,2; 7,2; 21,6 e 43,2 mg L<sup>-1</sup> foi reduzida em 13, 10, 24 e 9 %, respectivamente, em relação ao tratamento controle.

Figura 5 – Atividade da enzima catalase em sementes de *Brachiaria decumbens* em função das doses de mercúrio. Resultados expressos como médias, onde as barras de erro representam o erro padrão da média.



Em condições de elevada toxidez por Hg, a CAT tende a ser reduzida devido a maior afinidade do Hg com grupos tiol, reduzindo sua atividade e expressão (Chen *et al.* 2012; Patra, 2004).

O H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gerado pela atividade da SOD pode ser metabolizado principalmente pela CAT e pelo grupo das peroxidases. Como a atividade da CAT diminuiu e da PO aumentou (Figura 6), é provável que a PO exerça atividade mais significativa e desempenhe um papel principal na eliminação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em sementes de *B. decumbens* contaminadas por Hg (Sofa *et al.* 2015).

O resultado observado para a CAT está de acordo com o relatado por Kumar e Sharma (2020), que trabalharam com *Brassica juncea* e verificaram que a atividade da CAT foi reduzida



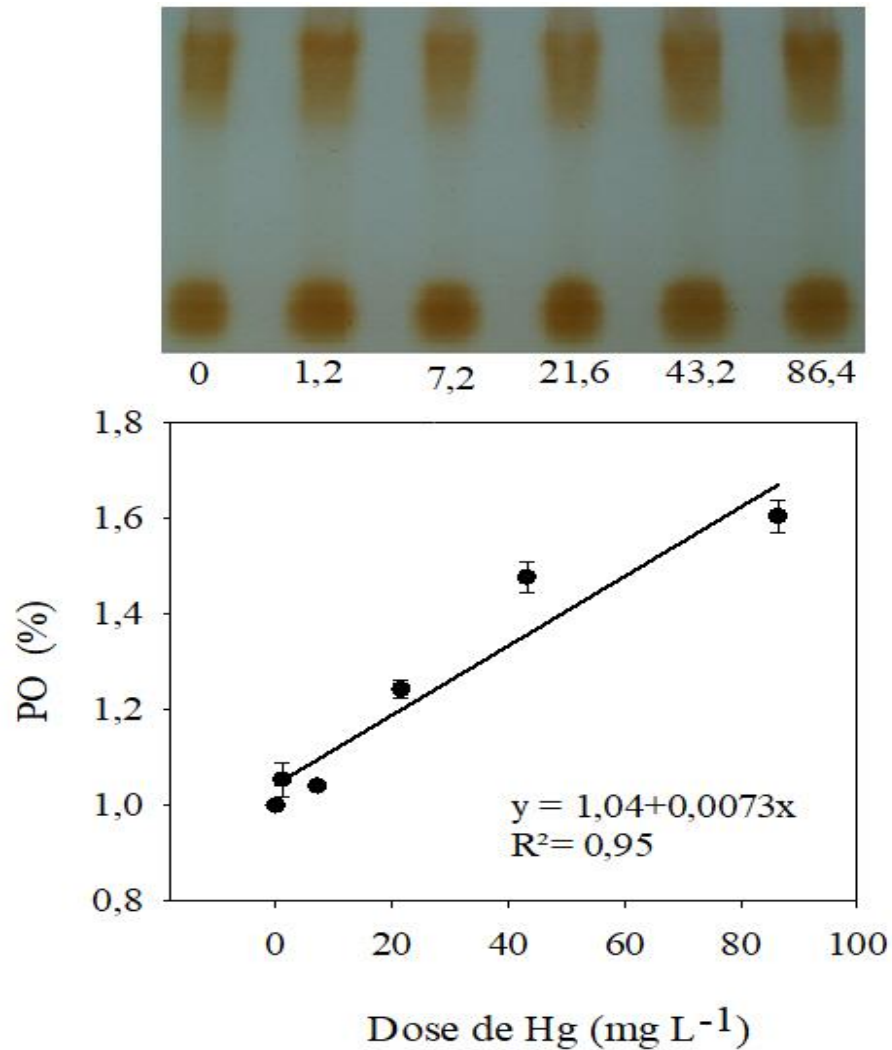
quando as sementes da cultivar Varuna foram expostas a dose de Hg de 40 mg L<sup>-1</sup>. Prodanović *et al* (2012) observaram que a atividade da CAT reduziu drasticamente em sementes de *Picea omorika* expostas a solução de 1 mM de cádmio (Cd). Pena *et al.* (2011) analisaram a atividade da CAT em plântulas de *Helianthus annuus L.* expostas a cobre (Cu) e observaram que houve declínio na atividade da CAT de 40 e 45% quando as plântulas foram expostas a 0,3 e 0,6 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. O declínio na atividade da CAT pode ocorrer por interferência do metal na síntese enzimática, em processos intrínsecos durante a montagem enzimática ou pelas reações catalisadas por metais de transição, onde o Hg pode interferir (Zhang *et al.* 2009).

Como outros tecidos, as sementes contêm enzimas e proteínas ligadas à membrana, mas muitos tipos de sementes também acumulam proteínas como reservas de armazenamento. As proteínas podem sofrer modificação oxidativa por meio de reação direta com as EROs e também por meio da interação com os produtos aldeídos da peroxidação lipídica. Os aldeídos produzidos por meio da peroxidação lipídica podem iniciar reações de Maillard. Durante o estresse por Hg, pode ocorrer a reação de açúcares redutores com proteínas ou aminoácidos, levando à formação de produtos de glicação avançada (Reação de Maillard) e isso pode reduzir a capacidade da CAT de reparar danos oxidativos durante a germinação (Kreaner e Collvie, 2011).

#### 4.1.4.3 Peroxidase (PO)

A atividade da PO foi significativamente alterada pela exposição das sementes de *B. decumbens* as doses de Hg, o que resultou em aumentos de 0,0073% a cada mg kg<sup>-1</sup> de Hg adicionado. As sementes expostas as doses de Hg de 21,6; 43,2 e 86,4 mg L<sup>-1</sup> apresentaram atividade 25, 48 e 61% superior ao tratamento controle, respectivamente (Figura 6). Nas doses de 1,2 e 7,2 mg L<sup>-1</sup>, a atividade da PO aumentou em 5 e 4%, respectivamente, em relação ao tratamento controle.

Figura 6 – Atividade da enzima peroxidase em sementes de *Brachiaria decumbens* em função das doses de mercúrio. Resultados expressos como médias, onde as barras de erro representam o erro padrão da média.

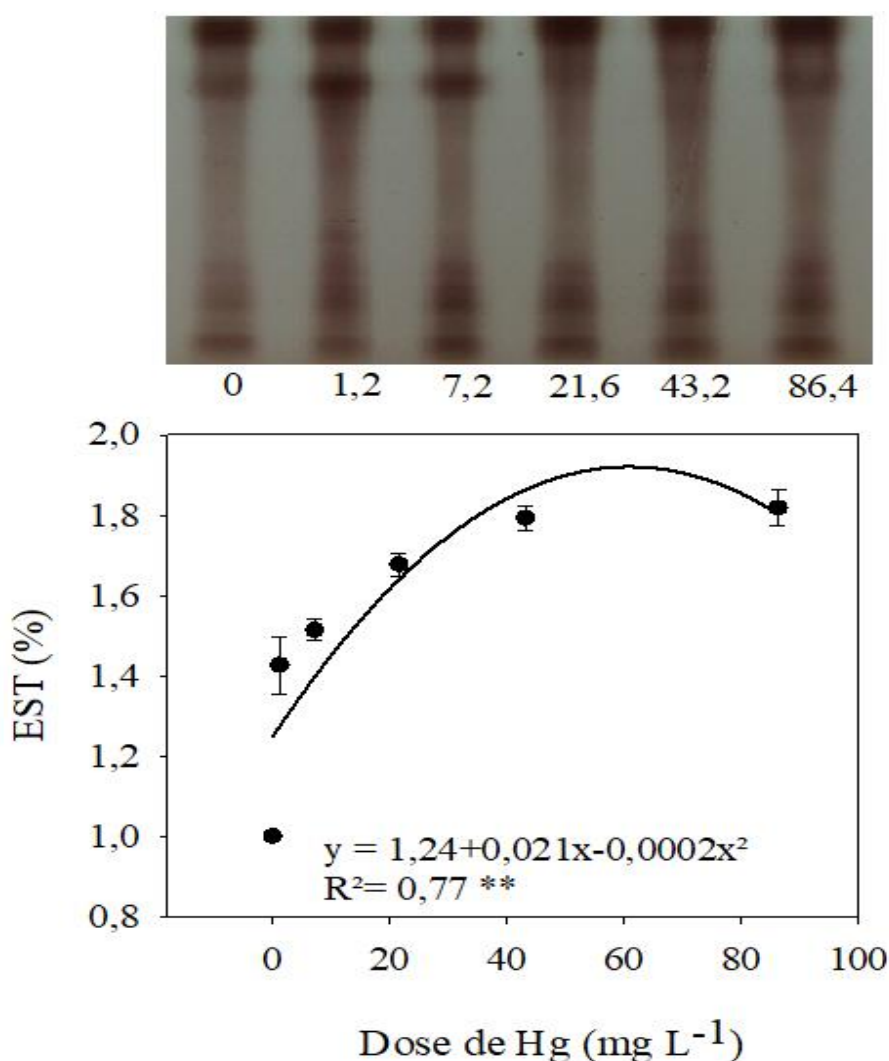


A PO é encontrada nas plantas principalmente ligada a parede celular. Tais enzimas catalisam reações no substrato utilizando o poder oxidante do  $H_2O_2$  (Campos e Silveira, 2003). Sementes de feijão em processo de germinação foram submetidas a estresse por Cd e a atividade da PO foi maior em comparação ao tratamento controle (Rossi e Lima, 2001). Aos 30 dias após a germinação, *Phragmites australis* apresentou atividade elevada da PO exposta às concentrações de Cd de 100, 500 e 1000 mg kg<sup>-1</sup> (Bouchama *et al.* 2023). As gramíneas têm como mecanismo de defesa contra EPTs a fixação do metal na parede celular para reduzir a toxidez do Hg (Rodrigues *et al.* 2016). Portanto, a maior atividade da PO sugere que a *B. decumbens* acumula o Hg na parede celular (Freitas *et al.* 2024).

#### 4.1.4.4 Esterase (EST)

A atividade da EST em sementes de *B. decumbens* foi alterada de maneira significativa pelas doses de Hg (Figura 7) adequando-se a um modelo quadrático. O ponto máximo da função foi definido em 52,50 mg kg<sup>-1</sup> de Hg, sendo este o limite até que a atividade da enzima decaísse. O aumento da atividade da EST nas doses de Hg de 1,2; 7,2; 21,6; 43,2 e 86,4 mg L<sup>-1</sup> foi de 42, 51, 68, 79 e 82%, respectivamente, em comparação com o tratamento controle.

Figura 7 – Atividade da enzima esterase em sementes de *Brachiaria decumbens* em função das doses de mercúrio. Resultados expressos como médias, onde as barras de erro representam o erro padrão da média.



A EST catalisa a conversão de ésteres carboxílicos em ácidos e álcoois bioativos, hidrolisa ésteres de ácidos graxos de cadeias curtas, desempenhando um papel no metabolismo

de lipídios simples (Rudakova *et al.* 2016). A necessidade de disponibilização de reservas para que a semente possa germinar mais rapidamente em concentrações elevadas de Hg pode ter influenciado na maior expressão dessa enzima, uma vez que a EST está envolvida no catabolismo de lipídeos durante o processo de germinação (Theodoulou e Eastmond, 2012).

Os danos causados pela peroxidação lipídica também podem explicar o aumento na expressão de EST, já que a enzima pode atuar na hidrólise de lipídios oxidativos e contribuir para a regeneração das membranas celulares danificadas (Kosakivska *et al.* 2020).

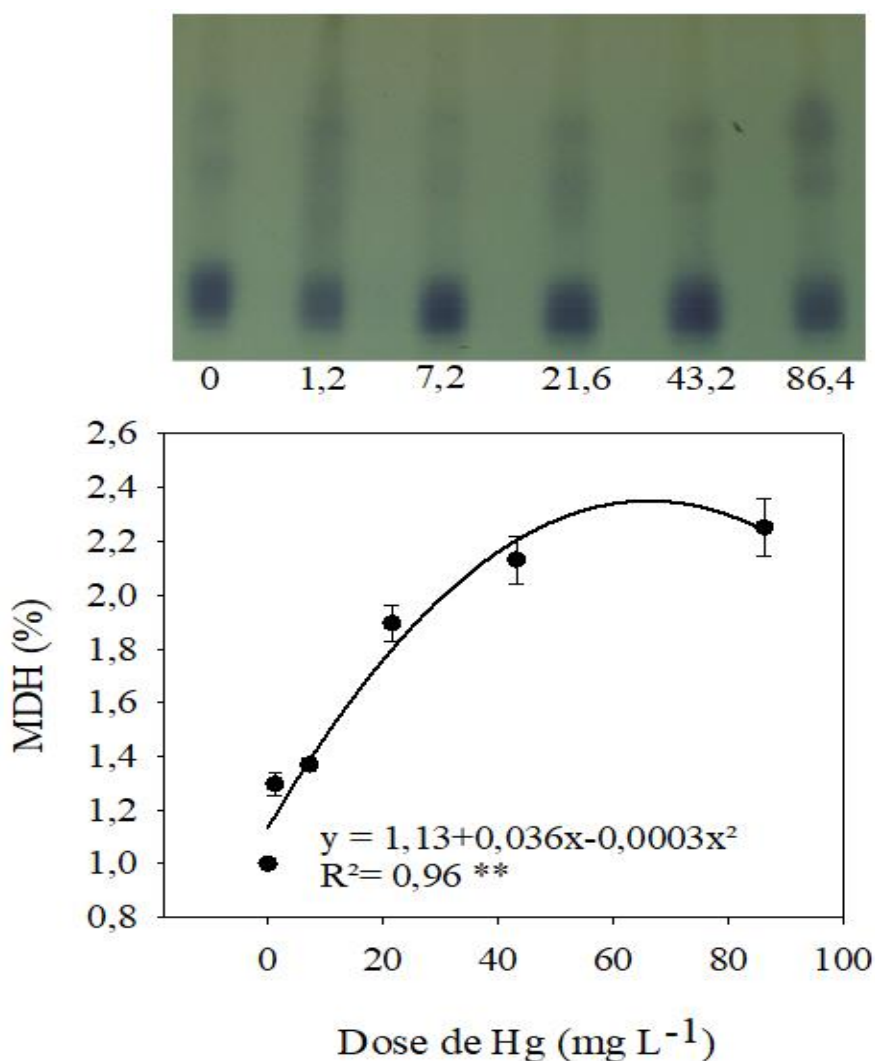
#### 4.1.4.5 Malato desidrogenase (MDH)

Resultados significativos foram observados para a atividade da MDH, onde a exposição das sementes de *B. decumbens* às doses de Hg resultaram em aumento máximo da atividade de MDH na dose de 60 mg kg<sup>-1</sup> de Hg, decaindo a partir desse ponto (Figura 8). A atividade da MDH nas doses de Hg de 1,2; 7,2; 21,6; 43,2 e 86,4 mg L<sup>-1</sup> aumentou em 30, 37, 90, 113 e 125%, respectivamente, em relação ao tratamento controle.

A MDH atua na respiração celular, no Ciclo de Krebs, catalisando a regeneração de oxaloacetato, o qual posteriormente reage com acetil-CoA para um novo ciclo. A reação gera energia através da redução de NAD a NADH, sendo isso vital para a produção de energia na forma de ATP (Nelson e Cox, 2014; Taiz *et al.* 2017).

A maior atividade da MDH em função das doses de Hg pode ser explicada pela necessidade de energia para crescimento e para atenuação da toxidez de Hg durante o processo de germinação (Huang *et al.* 2017; Sew *et al.* 2016). Tal requerimento pode ser observado pela maior atividade da SOD (Figura 4), PO (Figura 6) e EST (Figura 7), as quais correlacionaram-se com o IVG e TMG (Figuras 2A-B), onde as doses mais elevadas de Hg resultaram em maior IVG e menor TMG. Para que isso ocorra há maior necessidade de energia para que o processo germinativo seja acelerado, a fim de atenuar ou diluir a toxidez por Hg pelo crescimento, e quando isso não acontece, a plântula desenvolve-se atrofiada ou há limitação na protusão da radícula.

Figura 8 – Atividade da enzima malato desidrogenase em sementes de *Brachiaria decumbens* em função das doses de mercúrio. Resultados expressos como médias, onde as barras de erro representam o erro padrão da média.



## 4.2 Experimento em casa de vegetação

### 4.2.1 Teores de mercúrio no solo, nos tecidos vegetais e a sua relação com os fatores de acumulação (FBC e FT).

A concentração de Hg na parte aérea da *B. decumbens* não foi afetada significativamente pelas doses de Hg (Figura 9A). A concentração de Hg no sistema radicular da *B. decumbens* aumentou linearmente com a exposição ao Hg, com a maior concentração observada na dose de 43,2 mg L<sup>-1</sup> de Hg (Figura 9B).

A maior concentração de Hg no sistema radicular, principalmente nas doses entre 7,2 e 43,2 mg L<sup>-1</sup> indicam que as plantas acionam mecanismos para retenção do Hg no sistema

radicular, impedindo seu transporte para a parte aérea da *B. decumbens*. Na presença de elevadas doses de Hg, as plantas exclusoras, como são classificadas as gramíneas, tendem a reter o Hg na parede celular. As cargas negativas presentes na parede celular, devido à presença de grupos carboxílicos, funcionam como locais de ligação e troca de cátions di e polivalentes (Rodrigues *et al.* 2016). A maior concentração de Fe no sistema radicular (Figura 15C) pode ser outro fator que auxilia na fixação do Hg nas raízes. O Fe tende a formar placas metálicas carregadas negativamente, facilitando a ligação de cátions, retraindo o  $\text{Hg}^{2+}$  (Azevedo e Rodrigues, 2012; Boening, 2000).

Os cálculos do FBC e FT foram realizados para as doses de Hg de 1,2 a 43,2  $\text{mg kg}^{-1}$  (Figura 10A-B). A toxidez imposta pela dose de 86,4  $\text{mg kg}^{-1}$  culminou na morte das plantas de *B. decumbens*, impossibilitando o cálculo. Para o FBC, foram observados valores acima de 1 para as doses de Hg de 1,2 e 7,2  $\text{mg kg}^{-1}$ , enquanto para as demais doses os valores ficaram abaixo de 1. O FT apresentou valor acima de 1 apenas para a dose de Hg de 1,2  $\text{mg kg}^{-1}$ . Na dose de Hg de 1,2  $\text{mg kg}^{-1}$ , ambos fatores apresentaram valores acima de 1 (Figura 10A-B). Com base no modelo matemático, o valor de FBC encontrado foi 18,56  $\text{mg kg}^{-1}$  de Hg (Figura 9A). Da mesma forma, o modelo matemático de FT apresentou um valor de 2,70  $\text{mg kg}^{-1}$  de Hg (Figura 9B).

O valor obtido para FBC indica que até ao limite de 18,56  $\text{mg kg}^{-1}$  de Hg no solo, a *B. decumbens* é capaz de absorver e translocar pequenas proporções de Hg para a parte aérea (FBC > 1), conforme ilustrado na Figura 10A. No entanto, em concentrações superiores a 18,56  $\text{mg kg}^{-1}$  de Hg (FBC < 1), observa-se crescimento na concentração do Hg no sistema radicular das plantas (Figuras 9B e 10A). Para o FT, o limite encontrado de 2,70  $\text{mg kg}^{-1}$  do metal (FT > 1), indica que a *B. decumbens* pode translocar maiores proporções de Hg para a parte aérea em menores concentrações do metal no solo (Figura 10B). Acima do limite de FT (FT < 1), o Hg é retido preferencialmente no sistema radicular de *B. decumbens* (Figuras 9B e 10B) (Buscaroli, 2017).

Trabalhando com plantas de milho, Tang *et al.* (2023) observaram que em concentrações de Hg de 40  $\text{mg L}^{-1}$ , houve maior acúmulo de Hg no sistema radicular, com valores de FBC abaixo de 0,02, compatível com o observado no presente estudo. Os autores reportam que, em tratamento de curta duração na mesma dose de Hg, o FT ficou acima de 1. Huang *et al.* (2008) relataram que o FBC ficou abaixo de 1 para a cultura do trigo exposta a solo contaminado com cerca de 0,2  $\text{mg kg}^{-1}$  de Hg.

As observações para FT na dose de Hg de  $1,2 \text{ mg kg}^{-1}$  indicam que em condições de menores concentrações de Hg no solo a *B. decumbens* atua como fitoextratora. No entanto, em doses de Hg iguais ou superiores a  $7,2 \text{ mg kg}^{-1}$ , a *B. decumbens* atua como fitoestabilizadora, retendo a maior parte do Hg absorvido nas raízes, o que é desejável para a revegetação e estabilização do solo contaminando.

Figura 9 – A) Teor de mercúrio na parte aérea (HGPA), B) Teor de mercúrio no sistema radicular (HGSR), C) Teor de mercúrio total no solo (HGT) e D) Teor de mercúrio disponível no solo (HGD), em função das doses de mercúrio aplicadas. Resultados expressos como médias, onde as barras de erro representam o erro padrão da média.

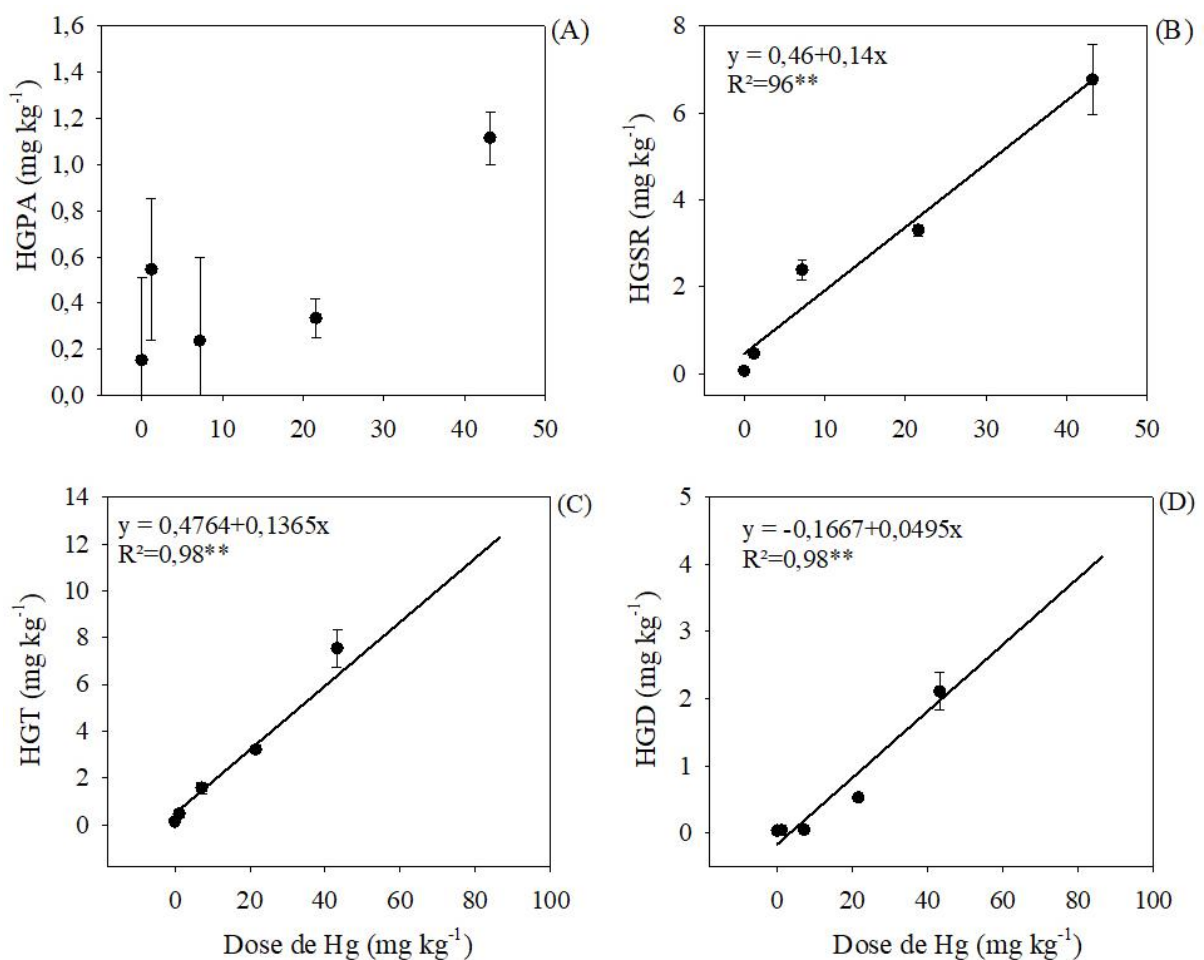
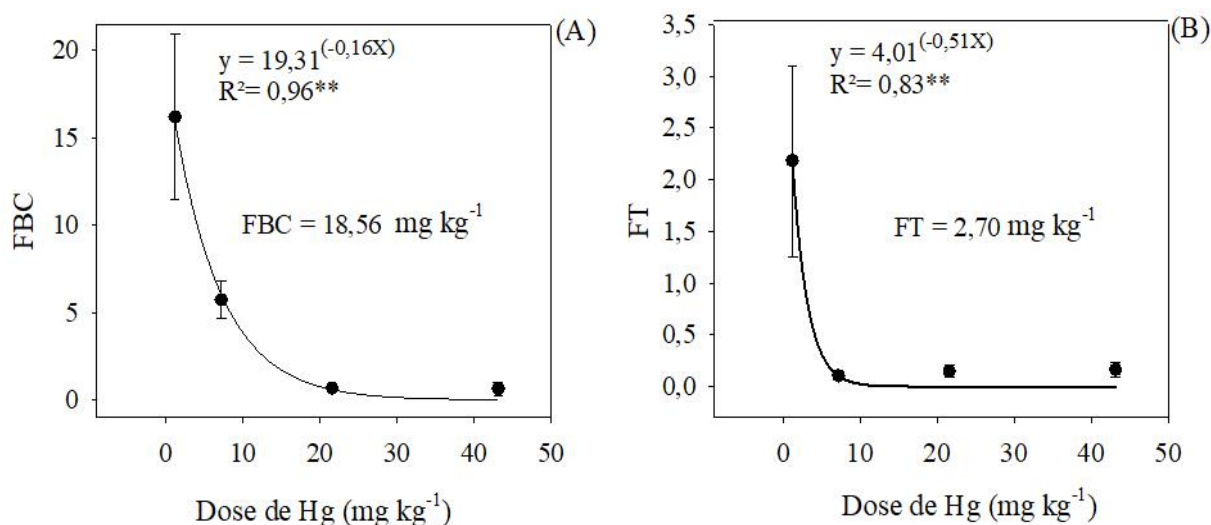


Figura 10 – A) Fator de bioconcentração (FBC) e B) translocação (FT), para plantas de *Brachiaria decumbens* em função de doses de mercúrio. Resultados expressos como médias, onde as barras de erro representam o erro padrão da média.



#### 4.2.2 Efeito do mercúrio nas variáveis produtivas

O número de perfilhos, número de folhas, massa aérea fresca e seca e a massa seca do sistema radicular não foram influenciadas significativamente pelas doses de Hg (Figuras 11A-D).

A massa fresca radicular foi alterada significativamente pela adição de Hg, adequando-se a um modelo linear onde a cada miligrama de Hg acrescido, a massa era reduzida em 0,36 g (Figura 11D).

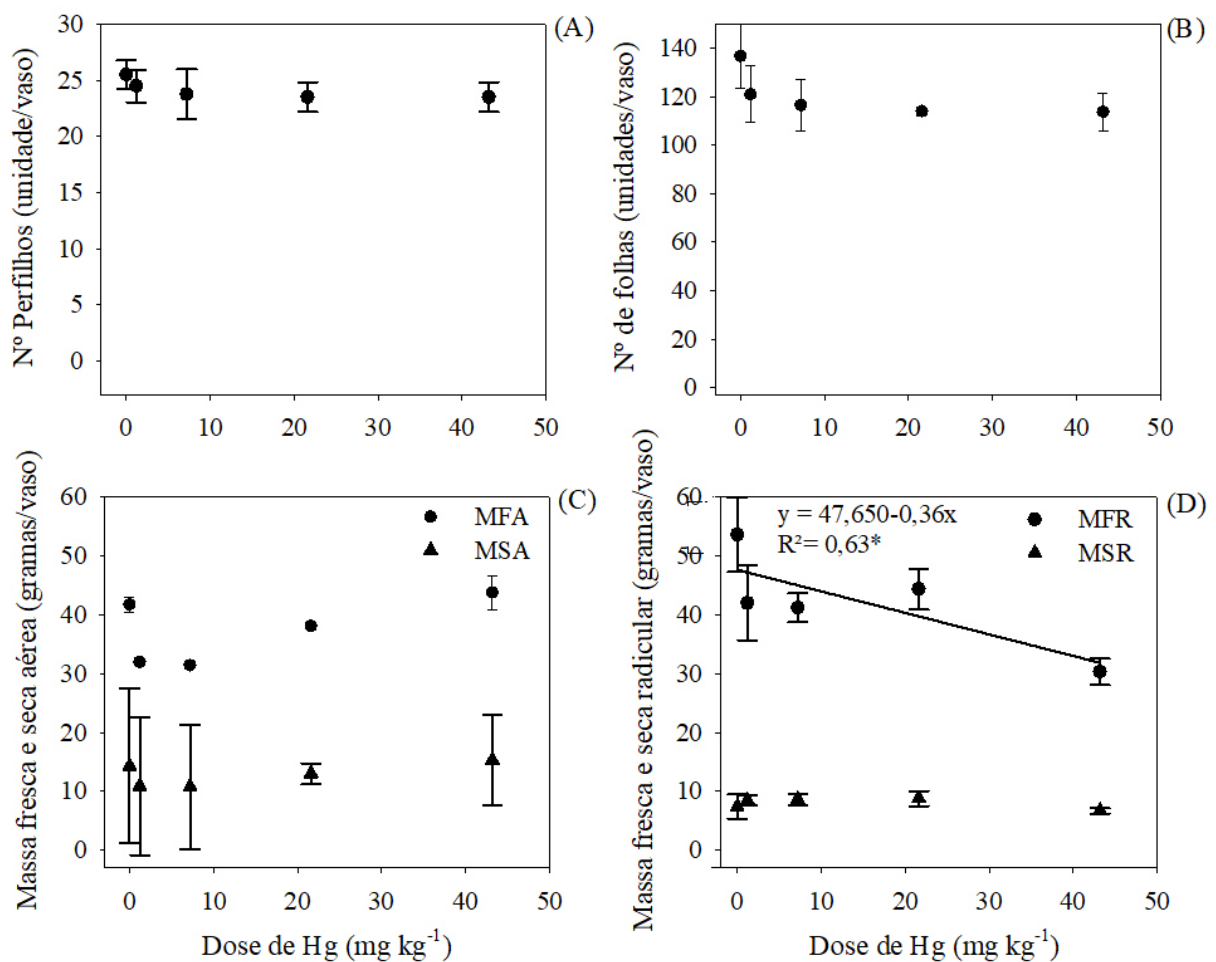
A redução linear da massa fresca do sistema radicular está associada à toxidez do Hg. A redução da biomassa ocorreu de acordo com a elevação da dose, chegando a um ponto extremo na dose de Hg de 86,4 mg kg<sup>-1</sup>, onde ocorreu a morte de todas as plantas. O Hg causou redução da biomassa em *Jatropha curcas* em doses de 20, 40 e 80 mg L<sup>-1</sup> de Hg, afetando o desenvolvimento da planta (Negrete *et al.* 2016). Sahu *et al.* (2012) relataram que a concentração de 5 mg L<sup>-1</sup> de Hg reduziu significativamente o peso fresco do sistema radicular de *Triticum aestivum*. A redução observada pelos autores na biomassa da planta foi de 30%.

Gramíneas são classificadas como plantas exclusoras, tendendo a fixar o Hg no sistema radicular como medida de proteção. O excesso de Hg leva a danos oxidativos nas células radiculares, causando peroxidação de lipídios e danos nas membranas celulares, alterando sua



função e integridade. Além disso, o Hg é relatado como potencial causador da redução de processos de divisão e alongamento celular, o que reduz o crescimento das raízes (Chen *et al.* 2012; Patra *et al.* 2004).

Figura 11 – A) Número de perfilhos, B) Número de folhas, C) Massa fresca e seca da parte aérea (MFA, MSA) e D) Massa fresca e seca radicular (MFR e MSR), de *Brachiaria decumbens* em função das doses de mercúrio no solo. Resultados expressos como médias, onde as barras de erro representam o erro padrão da média.



#### 4.2.3 Efeito do mercúrio na concentração de nutrientes nos tecidos vegetais de *Brachiaria decumbens*

A concentração de nutrientes nos tecidos de *B. decumbens* não foi influenciada significativamente pelas doses de Hg, com poucas exceções (Figuras 12-15). Apenas o Cu no

sistema radicular foi significativamente afetado pelas doses de Hg (Figuras 15B), observando-se menores concentrações em função do aumento das doses de Hg.

As variações na absorção de nutrientes em plantas expostas a EPTs tem sido relatada em ambientes contaminados (Ahmad *et al.* 2011; Boechat *et al.* 2016). A redução linear do Cu no sistema radicular está relacionada a competição do Hg com micronutrientes pelos sítios de absorção (Figura 15B). O Hg é absorvido por transportadores da família ZIP de baixa afinidade, os mesmos que transportam Cu, Zn, Fe e Mn (Natasha *et al.* 2020). Dependendo da sua biodisponibilidade no solo, o Hg pode causar, além da competição, o maior acúmulo de Fe no sistema radicular (Figura 15C), o que se traduz em uma maior absorção deste metal bem como de Hg, resultando na menor absorção de Cu (Chen *et al.* 2012; Azevedo e Rodrigues, 2012).

Figura 12 – Concentração de nitrogênio (A), fósforo (B), potássio (C), cálcio (D), magnésio (E) e enxofre (F) na parte aérea de *Brachiaria decumbens* em função das doses de mercúrio no solo. Resultados expressos como médias, onde as barras de erro representam o erro padrão da média.

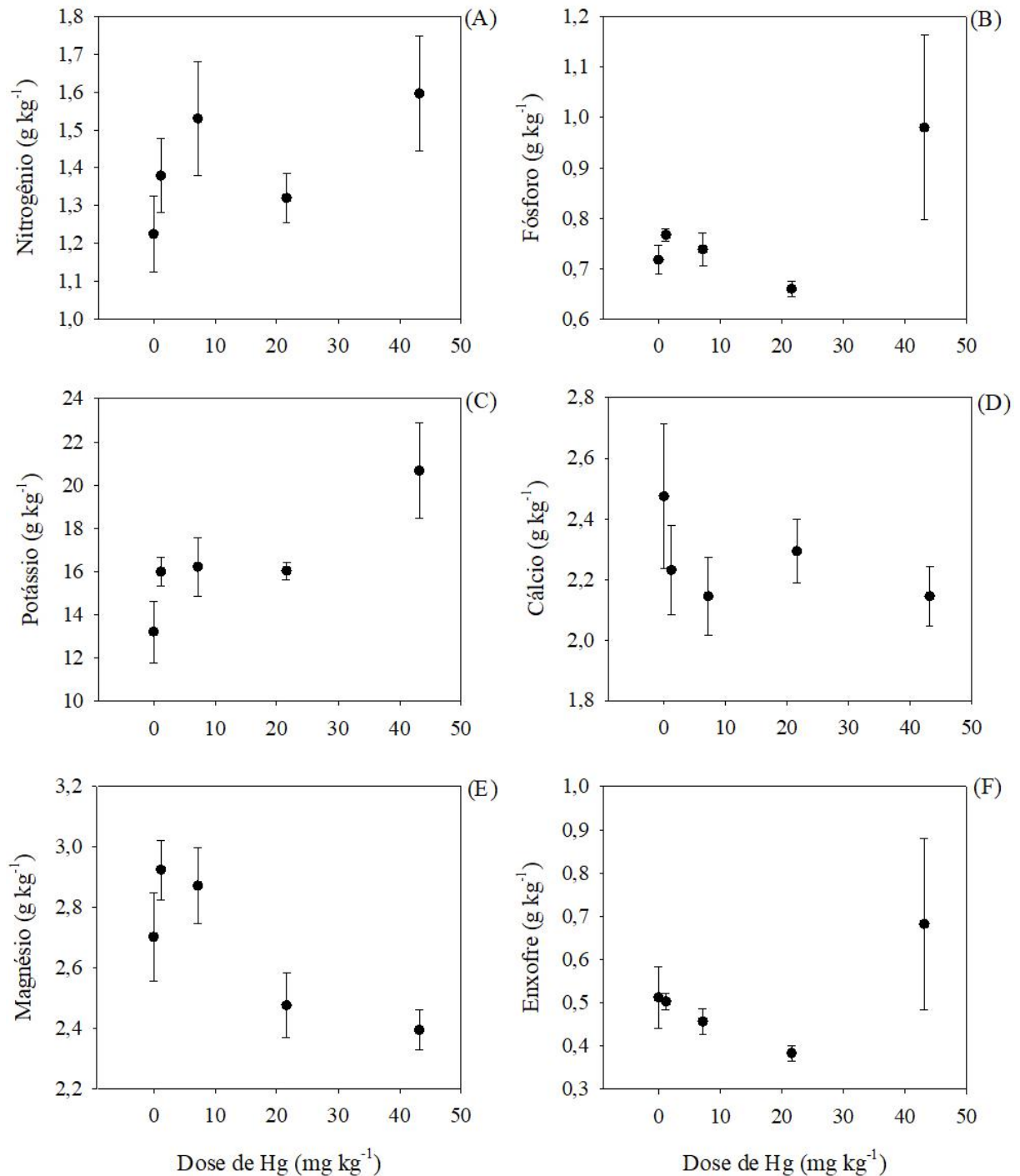


Figura 13 – Concentração de boro (A), cobre (B), ferro (C), manganês (D) e Zinco (E) na parte aérea de *Brachiaria decumbens* em função das doses de mercúrio no solo. Resultados expressos como médias, onde as barras de erro representam o erro padrão da média.

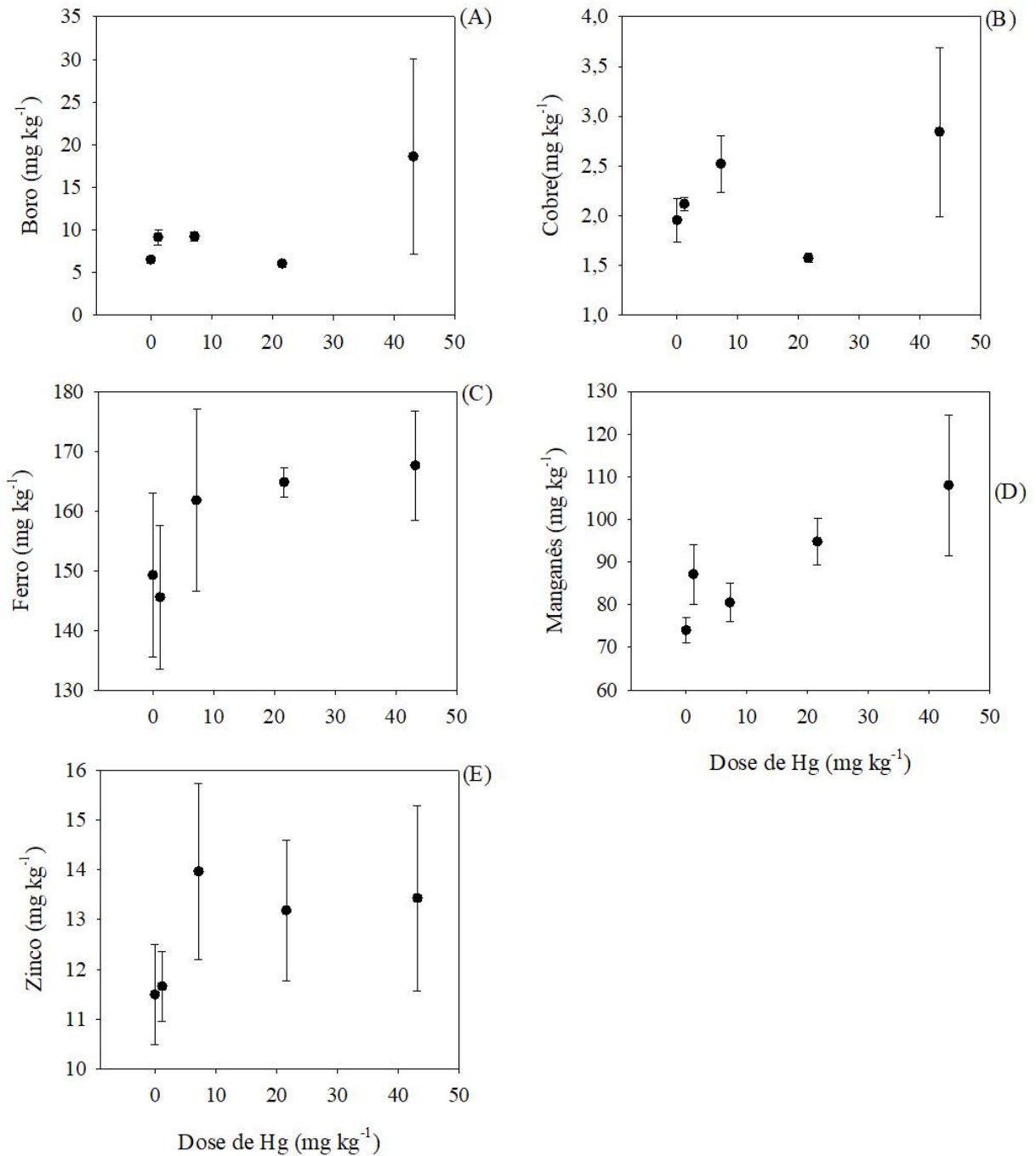


Figura 14 – Concentração de nitrogênio (A), fósforo (B), potássio (C), cálcio (D), magnésio (E) e enxofre (F) no sistema radicular de *Brachiaria decumbens* em função das doses de mercúrio no solo. Resultados expressos como médias, onde as barras de erro representam o erro padrão da média.

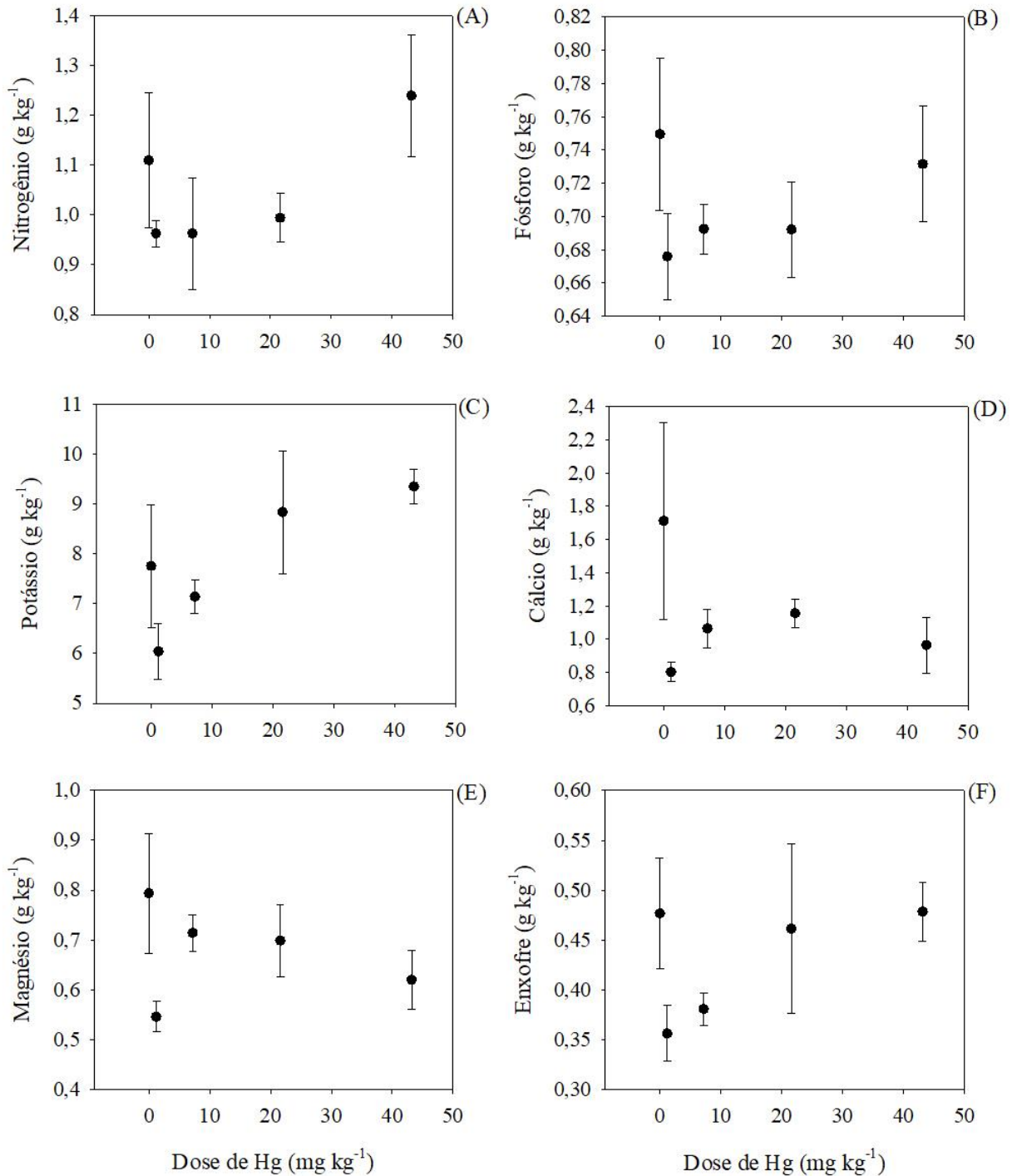
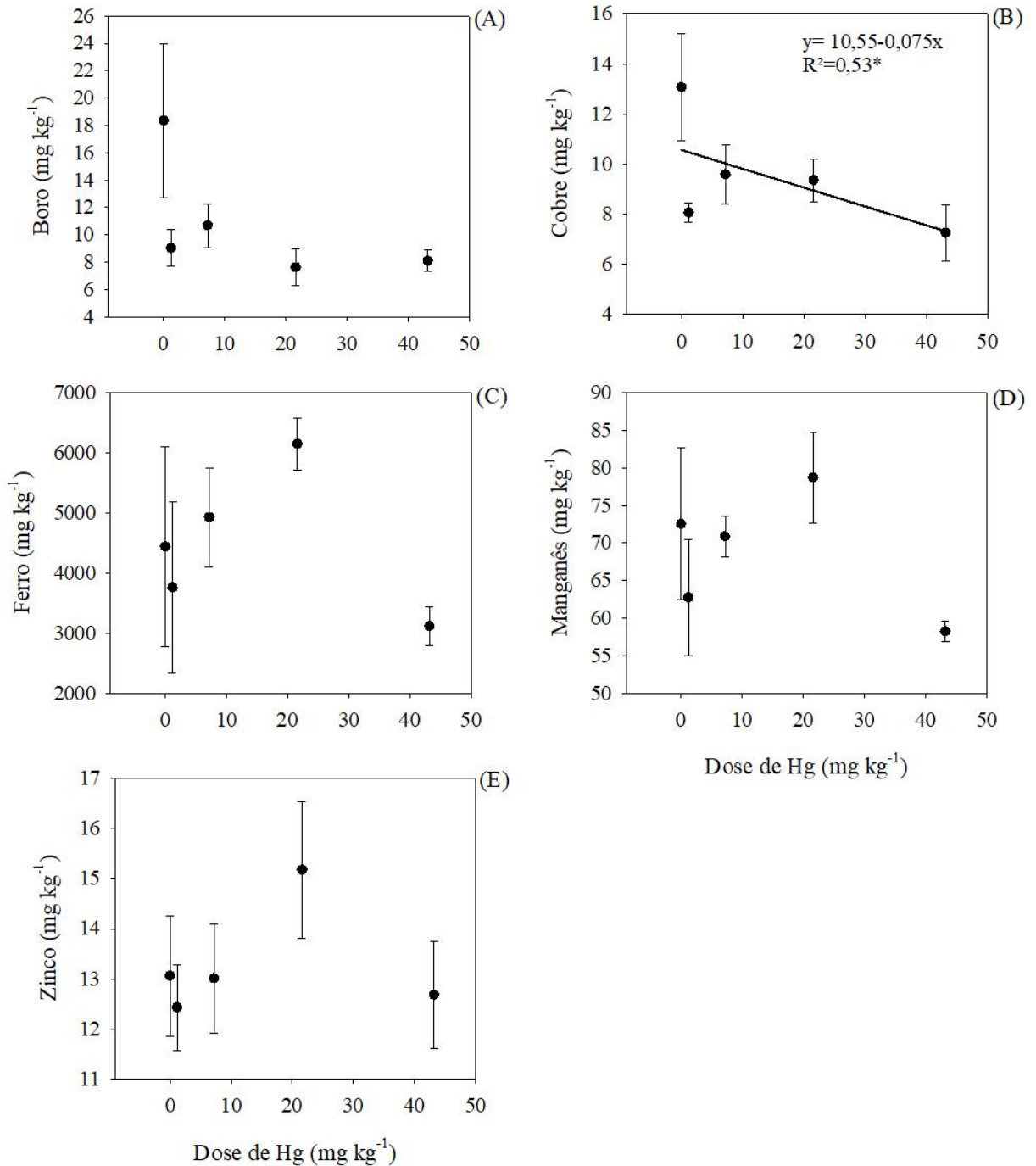


Figura 15 – Concentração de boro (A), cobre (B), ferro (C), manganês (D) e Zinco (E) no sistema radicular de *Brachiaria decumbens* em função das doses de mercúrio no solo. Resultados expressos como médias, onde as barras de erro representam o erro padrão da média.



#### 4.2.4 Efeito do mercúrio no teor de clorofila, fluxo fotossintético, concentração interna de CO<sub>2</sub> e trocas gasosas.

Resultados significativos foram observados para o teor de clorofila. O efeito das doses de Hg nas plantas de *B. decumbens* influenciaram negativamente o teor de clorofila, onde a cada miligrama de Hg, o teor de clorofila foi reduzido em 0,14 unidades SPAD (Figura 17A). A dose de Hg de 43,2 mg kg<sup>-1</sup> foi a mais afetada, sofrendo reduções dos teores de clorofila em 25% em relação ao tratamento controle.

Cargnelutti *et al.* (2006) observaram que a redução do teor de clorofila aumentou de acordo com a elevação da dose de Hg em *Cucumis sativus*. Sitarska *et al.* (2023) mostraram que durante a exposição ao Hg, *Salvinia natans* apresentou os menores teores de clorofila em relação ao tratamento controle. O Hg livre no citosol danifica as organelas, causando danos ao aparato fotossintético (Shiyab *et al.* 2009). Conforme apontado por Chen *et al.* (2008), o Hg causou perda da forma celular, diminuição dos espaços intercelulares e encolhimento do feixe vascular em *Pteris vittata*, além da redução significativa do número de cloroplastos quando exposta por sete dias a uma dose de Hg de 16,7 mg kg<sup>-1</sup>.

É relatado na literatura que o Hg causa danos aos cloroplastos, afetando diretamente a fotossíntese da planta (Chen *et al.* 2009). No entanto, os resultados do teor de clorofila obtidos indicam que a *B. decumbens* pode limitar o transporte de Hg a parte aérea da planta, retendo-o no sistema radicular, possivelmente através de mecanismos como a redução da concentração no citosol por quelação, compartimentalização no vacúolo e fixação do Hg na parede celular das raízes (Chen *et al.* 2012; Rodrigues *et al.* 2016). Em resumo, o teor de clorofila foi pouco afetado, no entanto, o fluxo fotossintético foi reduzido significativamente.

As doses de Hg influenciaram significativamente o fluxo fotossintético da *B. decumbens* (Figura 17B), onde a cada miligrama de Hg adicionado ao solo, o fluxo fotossintético foi reduzido em 0,65 µmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. As plantas expostas à dose de 43,2 mg L<sup>-1</sup> de Hg sofreram a maior redução no fluxo fotossintético, estando próxima a 88% em comparação ao tratamento controle.

O estresse por Hg pode inibir a atividade da protoclorofilida oxidoredutase, que é responsável pela síntese da clorofila (Lenti *et al.* 2002). De acordo com Tang *et al.* (2023), o Hg causou reduções significativas nos conteúdos de clorofila a e b em 49% e 28%, respectivamente, em plantas de *Zea mays*. Os autores relataram ainda que o Hg, em conjunto com estresse hídrico imposto a cultura, causou a desintegração dos cloroplastos. Deng *et al.*

(2013) observaram que o teor de clorofila a e b foi reduzido pela exposição de plantas de *Microsorium pteropus* ao Hg.

O Hg pode substituir elementos como Mn, K e Mg em determinadas estruturas, sendo o Mg essencial para que o processo fotossintético ocorra. A competição do Hg com o Mg pode substituí-lo na molécula de clorofila, provocando sua inativação e subsequente destruição (Azevedo e Rodrigues, 2012; Chen *et al.* 2012; Gupta e Chandra, 1998), resultando em menor capacidade fotossintética nas plantas de *B. decumbens*.

A concentração interna de CO<sub>2</sub> variou significativamente conforme as doses de Hg aplicadas (Figura 17C). A cada miligrama de Hg adicionado ao solo, a concentração interna de CO<sub>2</sub> foi reduzida em 7,52  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}^{-1}$ . A dose de 43,2 mg L<sup>-1</sup> resultou em uma redução de 76%, enquanto as demais doses causaram diminuições de 20 a 22% em comparação ao controle (Figura 17C). A condutância estomática também foi afetada de forma significativa, apresentando uma queda de 91% na dose de 43,2 mg L<sup>-1</sup>. As doses de 1,2; 7,2 e 21,6 mg L<sup>-1</sup> de Hg foram reduzidas em 50, 78 e 81%, respectivamente (Figura 17D). Quanto à transpiração, a presença de Hg impactou as trocas gasosas, com uma redução de 0,02 mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> para cada miligrama de Hg adicionado (Figura 17E), o que representa uma queda significativa nas trocas gasosas da planta, influenciando negativamente o processo fotossintético e o crescimento da planta.

De acordo com o decréscimo do fluxo fotossintético e a concentração intercelular de CO<sub>2</sub>, provocado pela influência do Hg nas trocas gasosas das plantas, a eficiência de carboxilação, parâmetro relacionado à capacidade da enzima Rubisco (Ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase) de fixar o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) durante o processo de fotossíntese (Taiz *et al.* 2017), também foi significativamente reduzida. A cada miligrama de Hg adicionado ao solo a eficiência de carboxilação foi reduzida em 0,02  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$  (Figura 18A). A eficiência de uso da água e a eficiência intrínseca de uso da água não apresentaram diferenças significativas (Figura 18 B-C).

A transpiração é essencial para o desenvolvimento da planta, pois através de um gradiente de potencial gerado, a água em conjunto com os nutrientes minerais é levada a parte aérea e distribuída através dos vasos do xilema (Taiz *et al.* 2017). No entanto, são relatados na literatura os diversos danos as células das plantas induzidos por EPTs, incluindo a redução no número de estômatos das folhas (Farooq *et al.* 2020; Gu *et al.* 2007). A redução do número de estômatos e o fechamento estomático provocados pelo Hg prejudicou o desenvolvimento da *B.*



*decumbes*, impedimento a entrada de CO<sub>2</sub> no ciclo de Calvin-Benson, reduzindo a fixação de carbono e o crescimento adequado das plantas (Taiz *et al.* 2017).

De acordo com Lima *et al.* (2021) a exposição de *Avena sativa* a doses de Hg de 40 e 80 mg kg<sup>-1</sup> provocaram reduções na transpiração em aproximadamente 37%. Em espécies florestais, Teixeira *et al.* (2018) observaram que tanto a concentração de Hg na atmosfera quanto no solo afeta negativamente a condutância estomática das plantas. Em *Oryza sativa*, a exposição a 5 mg kg<sup>-1</sup> de Hg em condições elevadas de CO<sub>2</sub> reduziu a condutância estomática em 60% em relação ao controle (Mao *et al.* 2021).

Figura 17 – A) Teor de clorofila (SPAD), B) Fluxo fotossintético (A), C) Concentração interna de CO<sub>2</sub> (ci), D) Condutância estomática (gs) e E) Transpiração (E), de *Brachiaria decumbens* em função das doses de mercúrio no solo. Resultados expressos como médias, onde as barras de erro representam o erro padrão da média.

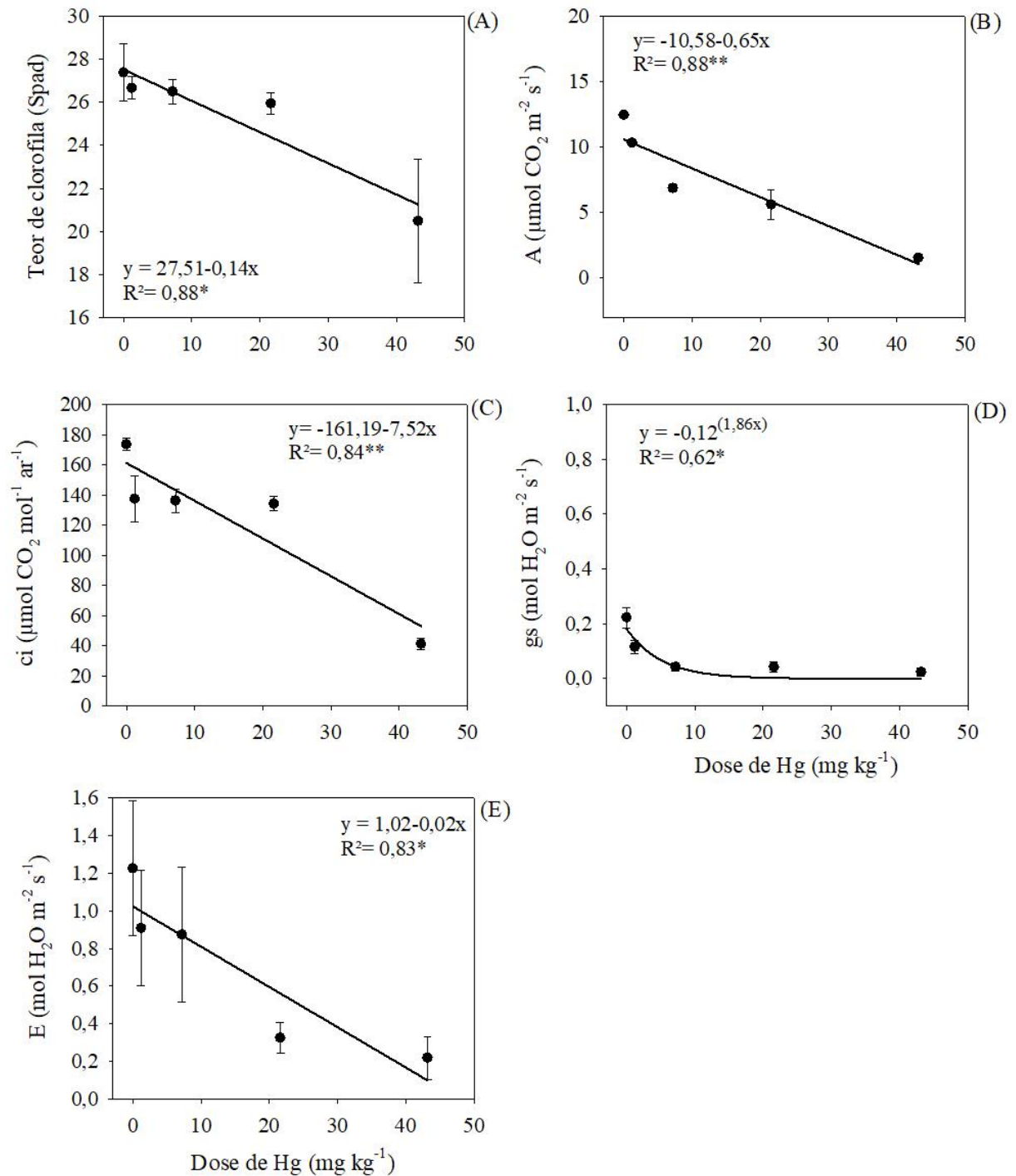
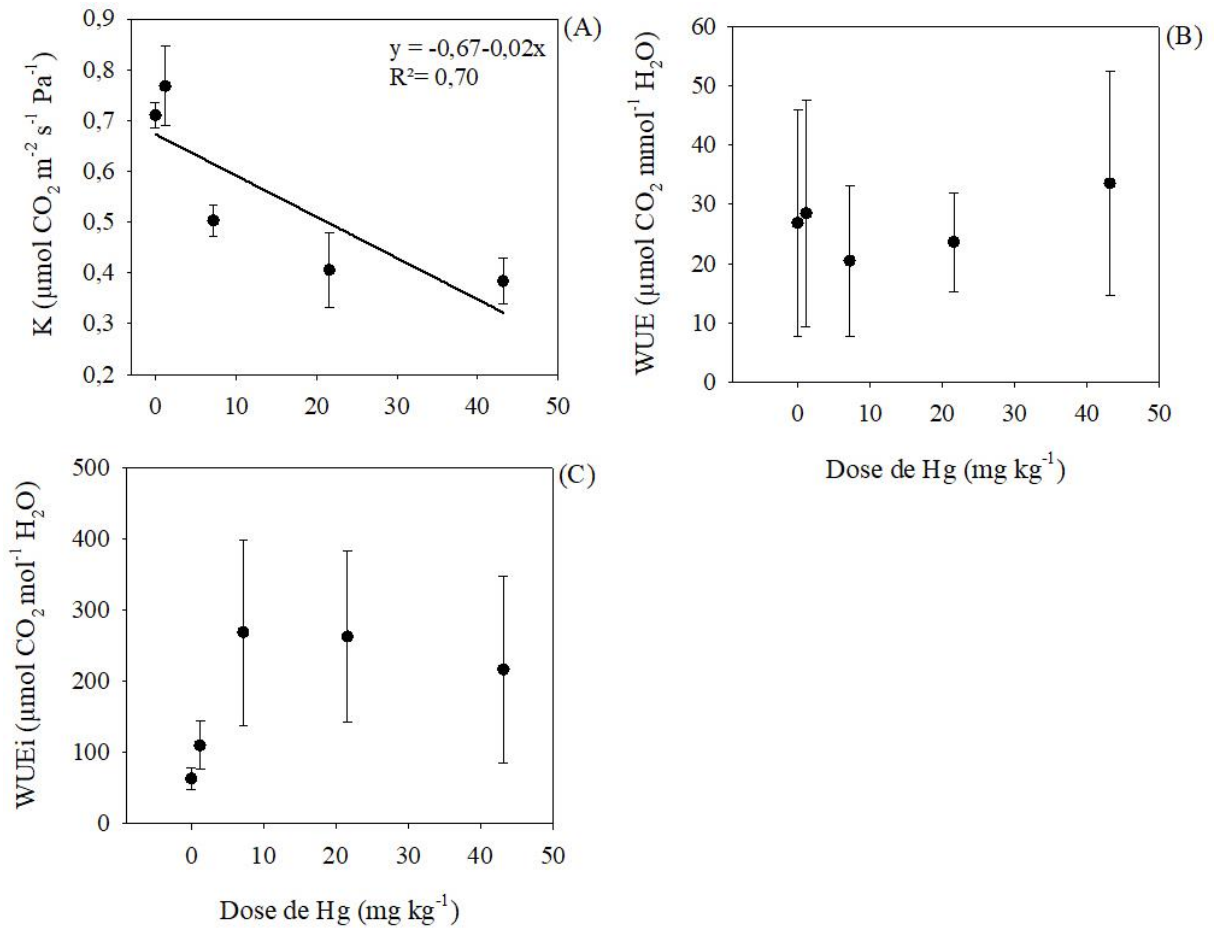


Figura 18 – A) Eficiência de carboxilação (k), B) eficiência de uso da água (WUE) e C) eficiência intrínseca de uso da água (WUEi), de *Brachiaria decumbens* em função das doses de mercúrio no solo. Resultados expressos como médias, onde as barras de erro representam o erro padrão da média.



## 5 CONCLUSÕES

Em altas concentrações de Hg, a germinação das sementes de *B. decumbens*, bem como o desenvolvimento das plântulas foi reduzido. Até a dose de 7,2 mg L<sup>-1</sup> de Hg, resultados satisfatórios de germinação e crescimento das plântulas foram observados.

A atividade da SOD, PO, EST e MDH foi mais expressiva nas doses de 21,6; 43,2 e 86,4 mg L<sup>-1</sup>. Apenas a CAT, apresentou redução da atividade em todas as doses de Hg a que as sementes foram submetidas.

O efeito do Hg presente no solo reduziu o perfilhamento, número de folhas, teor de clorofila, fluxo fotossintético, concentração interna de CO<sub>2</sub>, condutância estomática e transpiração das plantas de *B. decumbens*, reduzindo o crescimento das plantas e induzindo distúrbios fisiológicos. As plantas expostas a dose de Hg de 86,4 mg kg<sup>-1</sup> morreram pela toxidez induzida do contaminante.

A partir dos dois estudos conduzidos podemos concluir que a *B. decumbens* consegue sobreviver a doses de Hg de até 43,2 mg kg<sup>-1</sup>. Portanto, esta gramínea pode ser utilizada para revegetação de áreas contaminadas com teores de Hg próximos deste valor.

## REFERÊNCIAS

- ABDELGAWAD, H. *et al.* C3 and C4 plant systems respond differently to the concurrent challenges of mercuric oxide nanoparticles and future climate CO<sub>2</sub>. **Science of The Total Environment**, Egypt, v. 749, 2020.
- ADREES, M. *et al.* O efeito do excesso de cobre no crescimento e na fisiologia de importantes culturas alimentares: uma revisão. **Ciência Ambiental e Pesquisa sobre Poluição**. v. 22, p. 8148-8162, 2015.
- AHMAD, M. S. A.; ASHRAF, M.; HUSSAIN, M. Phytotoxic effects of nickel on yield and concentration of macro- and micro-nutrients in sunflower (*Helianthus annuus* L.) achenes. **Journal of Hazardous Materials**, Faisalabad, v. 185, p. 1295-1303, 2011.
- AHAMMAD, S. J.; SUMITHRA, S.; SENTHILKUMAR, P. Mercury uptake and translocation by indigenous plants. **RASĀYAN Journal of Chemistry**, India, v. 11, 2018.
- AINA, R. *et al.* Thiol-peptide level and proteomic changes in response to cadmium toxicity in *Oryza sativa* L. roots. **Environmental and Experimental Botany**, Milano, v. 59, p. 381-392, 2007.
- ALFENAS, A. C. **Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microrganismos**. 2 ed. Viçosa: Ed. UFV, 2006.
- ALLOWAY, B. J. Heavy metals in soils: trace metals and metalloids in soils and their bioavailability. **Netherlands: Springer Netherlands**, p. 614, 2013.
- ATABAYEVA, S. Heavy Metals Accumulation Ability of Wild Grass Species from Industrial Areas of Kazakhstan. **Phytoremediation**, Kazaquistão, 2016.
- AWA, S. H.; HADIBARATA, T. Removal of Heavy Metals in Contaminated Soil by Phytoremediation Mechanism: A Review, **Water Air Soil Pollut**, Malaysia v. 231, n. 47, 2020.
- AZEVEDO, R.; RODRIGUEZ, E. Phytotoxicity of mercury in plants: a review. **Journal of Botany**, London, v. 2012, p. 1-6, 2012.
- BAE, J. *et al.* Seed germination test for heavy metal phytotoxicity assessment. **Canadian Journal of Plant Science**, Canada, v. 94, p. 1519-1521, 2014.
- BAE, J.; BENOIT, D. L.; WATSON, A. K. Effect of heavy metals on seed germination and seedling growth of common ragweed and roadside ground cover legumes. **Environmental Pollution**, Canada, v. 213, p. 112-118, 2016.
- BEGUM, N.; AHANGER, M. A.; ZHANG, L. AMF inoculation and phosphorus supplementation alleviates drought induced growth and photosynthetic decline in *Nicotiana tabacum* by up-regulating antioxidant metabolism and osmolyte accumulation. **Environmental and Experimental Botany**, China, v. 176, 2020.
- BENEDITO, S. K. *et al.* Zinc determination in common beans by pXRF: An easy and versatile calibration strategy applied to biofortification studies. **Journal of Food Composition and Analysis**, Lavras, v. 137, 2025.

- BEZINI, E. *et al.* Effect of Some Heavy Metals on Seed Germination of *Medicago arborea* L. (Fabaceae). **Agriculturae Conspectus Scientificus**, Biskra, v. 84, p. 357-364, 2019.
- BOECHAT, C. L. *et al.* Heavy Metals and Nutrients Uptake by Medicinal Plants Cultivated on Multi-metal Contaminated Soil Samples from an Abandoned Gold Ore Processing Site. **Water Air Soil Pollut**, Bom Jesus, v. 227, n. 392, 2016.
- BOENING, D. W. Ecological effects, transport, and fate of mercury: a general review. **Chemosphere**, United State, v. 40, p. 1335-1351, 2000.
- BOUCHAMA, K.; ROUABHI, R.; DJEBAR, M. R. Cadmium Phytotoxicity on Seed Germination, Early Growth and the Differential Antioxidant Response of Guaiacol Peroxidase in *Phragmites australis* Seedling Organs. **Polish Journal of Environmental Studies**, Annaba, v. 32, 2023.
- BERTTIOL, W. *et al.* **Entendendo a matéria orgânica do solo em ambiente tropical e subtropical**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA. 1. ed. 2023.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Regras para Análise de Sementes**. 1. ed. Brasília, 2009.
- BUSCAROLI, A. An overview of indexes to evaluate terrestrial plants for phytoremediation purposes (Review). **Ecological Indicators**, Ravenna, v. 82, p. 367-380, 2017.
- BRIAT, J. F.; LEBRUN, M. Plant responses to metal toxicity. **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences**, France, v. 322, p. 43-54, 1999.
- CAI, K.; SONG, Z. Bioconcentration, Potential Health Risks, and a Receptor Prediction Model of Metal(loid)s in a Particular Agro-Ecological Area. **Applied Sciences**, China, v. 9, 2019.
- CALGAROTO, N. S. *et al.* Antioxidant system activation by mercury in *Pfaffia glomerata* plantlets. **Biomaterials**, Santa Maria, v. 23, p. 295–305, 2010.
- CANTARELLA, H. *et al.* **Boletim 100: Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. Instituto Agrônomo, Campinas, 2022.
- CAMPOS, A. D.; SILVEIRA, E. M. L. Metodologia para determinação da peroxidase e da polifenol oxidase em plantas. **Embrapa**, Pelotas, 2003.
- CARDOSO A. Á. *et al.* Seed imbibition and germination of *Plathymenia reticulata* Benth. (Fabaceae) affected by mercury: possible role of aquaporins. **Acta Bot Brasilica**, Viçosa, v. 29, p. 285–291, 2015.
- CARGNELUTTI, D. *et al.* Mercury toxicity induces oxidative stress in growing cucumber seedlings. **Chemosphere**, Santa Maria, v. 65, p. 999-1006, 2006.
- CHEN, J.; YANG, Z. M. Mercury toxicity, molecular response and tolerance in higher plants. **Biomaterials**, China, v. 25, p. 847–857, 2012.
- CHEN, J. *et al.* Bioaccumulation and physiological effects of mercury in *Pteris vittata* and *Nephrolepis exaltata*. **Ecotoxicology**, Mississippi, v. 18, p. 110-121, 2009.

CHEN, J. *et al.* Phytoremediation of heavy metal/metalloid-contaminated soils. **Nova Science Publishers**, New York, p. 181–260, 2009b.

CHEN, Y. T.; WANG, Y.; YEH, K. C. Role of root exudates in metal acquisition and tolerance. **Current Opinion in Plant Biology**, Taiwan, v. 39, p. 66–72, 2017.

COBBETTE, C.; GOLDSBROUGH, P. Phytochelatins and metallothioneins: Roles in Heavy Metal Detoxification and Homeostasis. **Annual Review of Plant Biology**, Parkville, v. 53, p. 159-182, 2002.

COMPANHIA AMBIENTAL DE DO ESTADO DE SÃO PAULO. Divisão de Toxicologia Humana e Saúde Ambiental. **Mercúrio e seus composto**, 2012. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/>

COMTE, I. *et al.* Impacts of Land Uses on Mercury Retention in Long-Time Cultivated Soils, Brazilian Amazon. **Water Air Soil Pollut**, Montreal, v. 224, 2013.

CONESA, H. M. *et al.* Dynamics of metal tolerant plant communities development in mine tailings from the Cartagena-La Unión Mining District (SE Spain) and their interest for further revegetation purposes. **Chemosphere**, Zürich, v. 68, p. 1180-1185, 2007.

CRISTALDI, A. *et al.* Phytoremediation of contaminated soils by heavy metals and PAHs. A brief review. **Environmental Technology & Innovation**, Catania v. 8, p. 309-326, 2017.

CUI, L. *et al.* Accumulation and translocation of 198 Hg in four crop species. **Environmental Chemistry**, Guiyang, v. 33, p. 334-340, 2014.

DAI, Z. H. *et al.* Roles of phytohormones in mitigating abiotic stress in plants induced by metal(loid)s As, Cd, Cr, Hg, and Pb. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, Hangzhou, v. 53, p. 1310–1330.

DE, J.; DASH, H. R.; DAS, S. Mercury Pollution and Bioremediation - A Case Study on Biosorption by a Mercury-Resistant Marine Bacterium. **Microbial Biodegradation and Bioremediation**, Yerevan, p. 137-166, 2014.

DEMIDCHIK, V. Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology. **Environmental and Experimental Botany**, Minsk, v. 109, p. 212-228, 2015.

ECKLEY, C. S. *et al.* The assessment and remediation of mercury contaminated sites: A review of current approaches. **Science of The Total Environment**, Seattle, v. 707, 2020.

ESTEBAN, E. *et al.* Short and long-term uptake of Hg in white lupin plants: Kinetics and stress indicators. **Environmental and Experimental Botany**, Madrid, v. 62, p. 316-322, 2008.

ESTEVEZ, G. D. *et al.* Do tailings from the Mariana, MG (Brazil), disaster affect the initial development of millet, maize, and sorghum? **Environmental Science and Pollution Research**, Alfenas, v. 27, p. 38662-38673, 2020.

EETEKIN, E. N. *et al.* Effects of Some Heavy Metals on Germination and Seedling Growth of Sorghum. **Journal Of Agriculture and Nature**, v. 23, 2020.

- DENG, C. *et al.* Toxic effects of mercury on PSI and PSII activities, membrane potential and transthylakoid proton gradient in *Microsorium pteropus*. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, China, v. 127, p. 1-7, 2013.
- FAROOQ, A. *et al.* Cadmium Partitioning, Physiological and Oxidative Stress Responses in Marigold (*Calendula calypso*) Grown on Contaminated Soil: Implications for Phytoremediation. **Bull Environ Contam Toxicol**, Pakistan, v. 105, p. 270–276, 2020.
- FARQUHAR, G. D.; SHARKEY, T. D. Stomatal Conductance and Photosynthesis. **Annual review of plant biology**, Canberra, v. 33, p. 317-345, 1982.
- FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. ExpDes: Um pacote R para ANOVA e projetos experimentais. **Matemática Aplicada**, Alfenas, v. 9, 2014.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. **Global assessment of soil pollution: Report**. p. 846, 2021.
- FREITAS, C. D. T. *et al.* Class III plant peroxidases: From classification to physiological functions. **International Journal of Biological Macromolecules**, Fortaleza, v. 263, 2024.
- FUJII, H.; VERSLUES, P. E.; ZHU, J. K. Identification of Two Protein Kinases Required for Absciscic Acid Regulation of Seed Germination, Root Growth, and Gene Expression in *Arabidopsis*. **The Plant Cell**, California, v. 19, p. 485-494, 2007.
- FUJIMAKI, S. *et al.* Tracing Cadmium from Culture to Spikelet: Noninvasive Imaging and Quantitative Characterization of Absorption, Transport, and Accumulation of Cadmium in an Intact Rice Plant. **Plant Physiology**, Akita, v. 152, p. 1796-1806, 2010.
- GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, India, v. 48, p. 909-930, 2010.
- GUPTA, M.; CHANDRA, P. *et al.* Bioaccumulation and toxicity of mercury in rooted-submerged macrophyte *Vallisneria spiralis*. **Environmental Pollution**, Índia, v. 103, p. 327-332, 1998.
- GAO, T. *et al.* Effects of Heavy Metal Stress on Physiology, Hydraulics, and Anatomy of Three Desert Plants in the Jinchang Mining Area, China. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, China, v. 19, 2022.
- GHORI, N. H. *et al.* Heavy metal stress and responses in plants. **International Journal of Environmental Science and Technology**, Izmir v. 16, p. 1807–1828, 2019.
- GOMES, B. L. C. *et al.* Análise temporal da exposição ao mercúrio na população ribeirinha da Amazônia: revisão integrativa. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 13, n. 5, 2021.
- GUO, Z. *et al.* Effects of Heavy Metals on Stomata in Plants: A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, Kunming, v. 24, 2023.
- GU, J. *et al.* Cadmium accumulation and its effects on growth and gas exchange in four populus cultivars. **Acta Biologica Cracoviensia**, Tianjin, v. 49, p. 7-14, 2007.
- GWOREK, B.; DMUCHOWSKI, W.; BACZEWSKA-DĄBROWSKA, A. H. Mercury in the terrestrial environment: a review. **Environmental Sciences Europe**, Warsaw, v. 32, n. 128, 2020.



HASSINEN, V. H. *et al.* Plant metallothioneins – metal chelators with ROS scavenging activity? **Plant Biology**, Kuopio, v. 13, 2019.

HUANG, M. *et al.* Heavy metals in wheat grain: Assessment of potential health risk for inhabitants in Kunshan, China. **Science of The Total Environment**, Beijing, v. 405, p. 54-61, 2008. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.07.004>

HUANG, J. *et al.* Self-protection of cytosolic malate dehydrogenase against oxidative stress in Arabidopsis. **Journal of Experimental Botany**, Brussels, v. 69, p. 3491-3505, 2017.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS. **PRODES - Taxa consolidada de desmatamento na Amazônia em 2022/2023 é de 9.064 km<sup>2</sup>**. Brasília, 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/inpe/pt-br/assuntos/ultimas-noticias/taxa-consolidada-de-desmatamento-na-amazonia-em-2022-2023-e-de-9-064-km2>

INTERNATIONAL ORGANIZATIONS FOR STANDARDIZATION – (ISO). **Qualidade do solo: Determinação dos efeitos de poluentes na flora do solo - parte 2: efeitos do solo contaminado na emergência e crescimento inicial de plantas superiores**. 2. ed. ISO 11269-2, 2012.

ISSAKA, S.; ASHRAF, M. A. Impact of soil erosion and degradation on water quality: a review. **Geology, Ecology, and Landscapes**, China, v. 1, 2017. Doi: <https://doi.org/10.1080/24749508.2017.130105>

JAMAL, S. N.; LQBAL, Z.; ATHAR, M. Evaluation of Two Wheat Varieties for Phytotoxic Effect of Mercury on Seed Germination and Seedling Growth. **Agriculturae Conspectus Scientific**, Pakistan, v. 71, n. 2, p. 41-44, 2006.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace Elements in Soils and Plants**. 4. ed. United States of America: Ed. Taylor & Francis Group, 2011.

KALINHOFF, C.; CALDERÓN, N. M. Mercury Phytotoxicity and Tolerance in Three Wild Plants during Germination and Seedling Development. **Plants**, Ecuador, v.11, 2022.

KANWAL, A. *et al.* Effect of industrial wastewater on wheat germination, growth, yield, nutrients and bioaccumulation of lead. **Scientific Reports**, Pakistan, v.10, 2020.

KER, J. C. *et al.* **Pedologia: Fundamentos**. 1. ed. Viçosa: Ed. UFV, 2015.

KRANNER, I.; COLVILLE, L. Metals and seeds: Biochemical and molecular implications and their significance for seed germination, **Environmental and Experimental Botany**, United Kingdom v. 72, p. 93-105, 2011.

KOSAKIVSKA, I. V. *et al.* Molecular mechanisms of plant adaptive responses to heavy metals stress. **Cell Biology International**, Kyiv, v. 45, p. 258-272, 2021.

KOVACS, H. *et al.* Solubility analysis and disposal options of combustion residues from plants grown on contaminated mining area. **Environmental Science and Pollution Research**, Miskolc, v. 20 p. 7917-7925, 2013.

KUMAR, A.; SHARMA, S. S. Effect of Mercury on Seed Germination, Growth Parameters and Biochemical Characteristics of Indian Mustard (*Brassica Juncea* L.) Cultivars.

**International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, Shimla, v. 9 p. 1492-1502, 2020.

KUMARI, V. V. *et al.* Plant Nutrition: An Effective Way to Alleviate Abiotic Stress in Agricultural Crops. **International Journal of Molecular Sciences**, India, v. 23, n. 8519, 2022.

LABORIAU, L. G. Seeds germination. **Washington: OEA**. p. 174, 1983.

LABOURIAU, L. G.; Valadares, M. E. B. On the germination of seeds *Calotropis procera* (Ait.) Ait.f. **Academia Brasileira de Ciências**, v. 48, p. 263-284, 1976.

LAFETÁ, B. O. *et al.* Fitotoxicidade do mercúrio sobre a qualidade fisiológica em sementes de saboneteira (*Sapindus saponaria* L.) submetidas à escarificação mecânica. **Caderno de ciências agrárias**, São João Evangelista, v. 11, 2019.

LAMHAMDI, M.; BAKRIM A.; AARAB, A. *et al.* Lead phytotoxicity on wheat (*Triticum aestivum* L.) seed germination and seedlings growth. **Plant Biology Pathology**. v. 334, p. 118-126, 2011.

LENTI, K.; FODOR, F.; BODDI, B. Mercury inhibits the activity of the NADPH: protochlorophyllide oxidoreductase (POR). **Photosynthetica**, Hungary, v. 40, p. 145–151, 2002.

LIU, Z.; TRAN, K-Q. A review on disposal and utilization of phytoremediation plants containing heavy metals. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Chongqing, v. 226, 2021.

LIMA, F. R. D. *et al.* Critical mercury concentration in tropical soils: Impact on plants and soil biological attributes. **Science of The Total Environment**, Lavras, v. 666, p. 472-479, 2019.

LIMA, F. R. D. *et al.* Evaluation of mercury phytoavailability in Oxisols. **Environmental Science and Pollution Research**, Lavras, v. 26, p. 483-491, 2019.

LIMA, F. R. D. *et al.* Physiological effects of mercury-contaminated Oxisols on common bean and oat. **Environmental Science and Pollution Research**, Lavras, v. 28, p. 11279-11288, 2021.

LIU, J. J.; Wei, Z.; Li, J. H. Effects of copper on leaf membrane structure and root activity of maize seedling. **Botanical Studies**, Shanghai, v. 55, n. 47, 2014.

LIU, Z. *et al.* A review on phytoremediation of mercury contaminated soils. **Journal of Hazardous Materials**, Chongqing, v. 400, 2020.

LUO, Y. *et al.* Effect of different direct revegetation strategies on the mobility of heavy metals in artificial zinc smelting waste slag: Implications for phytoremediation. **Chemosphere**, Guizhou, v. 286, 2022.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. **Crop Science**, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.

MAKAROVA, A. S.; NIKULINA, E.; FEDOTOV, P. Induced Phytoextraction of Mercury. **Separation & Purification Reviews**, Moscow, v. 51, p. 174-194, 2022.

- MAO, Q. *et al.* Elevated CO<sub>2</sub> and soil mercury stress affect photosynthetic characteristics and mercury accumulation of rice. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Chongqing, v. 208, 2021.
- MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence - a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, n. 345, 2000.
- MEHLICH, A. Determination of P, Ca, Mg, K, Na, and NH<sub>4</sub>. **North Carolina Soil Test Division**, Raleigh, North Carolina, 1953.
- MELLENDEZ-PEREZ, J. J. *et al.* Soil and biomass mercury emissions during a prescribed fire in the Amazonian rain forest. **Atmospheric Environment**, Campinas, v. 96, p. 415-422, 2014.
- MELO, R. F. *et al.* Potential of four herbaceous forage species for phytoremediation of a soil contaminated with arsenic. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, 2009.
- MOOSAVI, S. A. *et al.* Effects of Some Heavy Metals on Seed Germination Characteristics of Canola (*Barassica napus*), Wheat (*Triticum aestivum*) and Safflower (*Carthamus tinctorious*) to Evaluate Phytoremediation Potential of These Crops. **Journal of Agricultural Science**, Iran, v. 4, 2012.
- MOUKHTARI, A. E. *et al.* How Silicon Alleviates the Effect of Abiotic Stresses During Seed Germination: A Review. **Jornal Plant Growth Regul**, Paris, v. 42, p. 3323–3341, 2023.
- MOURATO, M. P. *et al.* Effect of Heavy Metals in Plants of the Genus Brassica. **International Journal of Molecular Sciences**, Lisboa, v. 16, p. 17975-17998, 2015.
- MUCCIFORA, S.; Bellani, L. M. Effects of copper on germination and reserve mobilization in Vicia sativa L. seeds. **Poluição ambiental**, Siena, v. 179, p. 68-74, 2013.
- MUHAMMAD, Z. I. *et al.* Effect of Mercury on Seed Germination and Seedling Growth of Mungbean (*Vigna radiata* L.). **Journal of Applied Sciences and Environmental Management**, Pakistan, v. 19, n. 2, 2015.
- NATASHA, M. S. *et al.* A critical review of mercury speciation, bioavailability, toxicity and detoxification in soil-plant environment: Ecotoxicology and health risk assessment. **Science of The Total Environment**, Pakistan, v. 711, 2020.
- NEGRETE, J. M. *et al.* Mercury uptake and effects on growth in *Jatropha curcas*. **Journal of Environmental Sciences**, Monteria, v. 48, p. 120-125, 2016.
- NELSON, D. L.; Cox, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 6. ed. New York: Ed. Artmed, 2014.
- OLIVEIRA, M. L. F. Efeito do magnésio (Mg<sup>+2</sup>) na amenização da toxidez por zinco (Zn<sup>2+</sup>) em plantas ectomicorizadas. **Natureza online**, Vila Velha, v. 9, p. 117-123, 2011.
- OMAKA, N. O. *et al.* Comparison of the extraction efficiencies of four different solvents used in trace metal digestion of selected soils within Abakaliki, Nigeria. **Journal of Applied Sciences and Environmental Management**, Nigeria v. 19, n. 2, 2015.
- O'NEILL, M. A. *et al.* Rhamnogalacturonan ii: structure and function of a borate cross-linked cell wall pectic polysaccharide. **Annual Review of Plant Biology**, Athens, v. 55, 2004.

- OXBOROUGH, K.; BAKER, N. R. Resolving chlorophyll a fluorescence images of photosynthetic efficiency into photochemical and non-photochemical components calculation of qP and Fv/Fm-; without measuring Fo. **Photosynthesis Research**, Colchester v. 54, p. 135-142, 1997.
- PACIULLO, D. S. C. *et al.* Tecnologia e custo de produção de *Brachiaria decumbens* para uso sob pastejo. **Embrapa**, Juiz de Fora, 2016.
- PATRA, M. *et al.* Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. **Environmental and Experimental Botany**, Calcutta, v. 52, p. 199-223, 2004.
- PATRA, D. K. *et al.* Poaceae plants as potential phytoremediators of heavy metals and eco-restoration in contaminated mining sites. **Environmental Technology & Innovation**, India, v. 21, 2021.
- PATRA, M.; SHARMA, A. Mercury toxicity in plants. **The Botanical Review**, Calcutta, v. 66, p. 379-422, 2000.
- PATNAIK, A.; MOHANTY, B. K. Toxic effect of mercury and cadmium on germination and seedling growth of *Cajanus cajan* L. (pigeon pea). **Annals of Biological Research**, India, v. 4, n. 3, p. 123-126, 2013.
- Pena, L. B.; Azpilicueta, C. E.; Gallego, S. M. Sunflower cotyledons cope with copper stress by inducing catalase subunits less sensitive to oxidation. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, Buenos Aires, v. 25, p. 125-129, 2011.
- PENHA, J. G. *et al.* **Procedimentos para quantificação de elementos-traço por espectrofotometria de absorção atômica em matrizes de interesse ambiental**. Lavras: Ed. UFLA, 2017.
- PRODANOVIC, O. *et al.* Effect of cadmium stress on antioxidative enzymes during the germination of Serbian spruce [*Picea omorika* (Pan) Purkyně]. **African Journal of Biotechnology**, Serbia, v. 11, n. 52, 2012.
- R CORE TEAM. A LANGUAGE AND ENVIRONMENT FOR STATISTICAL COMPUTING. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, 2023. Disponível em: <https://www.R-project.org/>.
- RABÊLO, F. H. S. *et al.* Are Grasses Really Useful for the Phytoremediation of Potentially Toxic Trace Elements? A Review. **Frontiers in Plant Science**, Piracicaba, v. 12, 2021.
- RABÊLO, F. H. S. **Biodisponibilidade de cádmio em Latossolo Vermelho e sua relação com a tolerância de *Brachiaria decumbens* e *Panicum maximum* utilizando *Noccaea caerulescens* como modelo**. 2017. Tese (Doutorado em Ciência do solo) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.
- RAMAZAN, S. *et al.* Combined gas exchange characteristics, chlorophyll fluorescence and response curves as selection traits for temperature tolerance in maize genotypes. **Photosynthesis Research**, India, v. 150, p. 213-225, 2021.

RASBAND, W. S. **Image J: Image Processing and Analysis in Java**. Available from the United State National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, 1997. Disponível em: <<http://rsb.info.nih.gov/ij/>>.

REZAEI, M. *et al.* Effect of HgCl<sub>2</sub> on the germination of hardened rapeseed. **Technical Journal of Engineering and Applied Sciences**, v. 3, n. 13, p. 1162-1166, 2013.

RODRIGUES, A. C. D. *et al.* Mecanismos de Respostas das Plantas à Poluição por Metais Pesados: Possibilidade de Uso de Macrófitas para Remediação de Ambientes Aquáticos Contaminados. **Revista Virtual de Química**, Seropédica, v. 8, n. 1, p. 262-276, 2016.

RIYAZUDDIN, R. *et al.* A Comprehensive Review on the Heavy Metal Toxicity and Sequestration in Plants. **Biomolecules**, Hungary, v. 12, n. 43, 2022.

RODRÍGUEZ-ALONSO, J. *et al.* Effects of mercury on the germination and growth of *Quercus ilex* L. seedlings. **Environmental Science and Pollution Research**, Madrid, v. 26, p. 30930-30940, 2019.

ROSSI, C.; LIMA, G. P. P. Cádmio e a atividade de peroxidase durante a germinação de sementes de feijoeiro. **Scientia Agricola**, Botucatu, v. 58, p. 197-199, 2001.

RUCIŃSKA-SOBKOWIAK, R. Water relations in plants subjected to heavy metal stresses. **Acta Physiology Plant**, Poznań, v. 38, n. 257, 2016.

RUDAKOVA, A. S. *et al.* Isozymic analysis of esterases in mature seeds of hexaploid soft wheat (*triticum aestivum* L.). **Agricultural Biology**, v. 51, n. 3, p. 327-334, 2016.

SAHU, G. K.; Upadhyay, S.; Sahoo, B. B. Mercury induced phytotoxicity and oxidative stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) plants. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, India, v. 18, p. 21-31, 2012.

SÁNCHEZ-REINOSO, A.; ÁVILA-PEDRAZA, E. A.; RESTREPO, H. Uso de biocarbón en la agricultura. **Acta Biológica Colombiana**, Colômbia, v. 25, p. 327-338, 2020.

SANTOS, H. G. *et al.* **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 5. ed. Brasília: Ed. Embrapa Informação Tecnológica, 2018.

SARADADEVI, R. *et al.* Root biomass in the upper layer of the soil profile is related to the stomatal response of wheat as the soil dries. **Functional Plant Biology**, Perth, v. 43, p. 62-74, 2015.

SENEVIRATNE, M. *et al.* Heavy metal-induced oxidative stress on seed germination and seedling development: a critical review. **Environ Geochem Health**, Nugegoda, v. 41, p. 1813-1831, 2019.

SENGAR, R. S. *et al.* Physiological and metabolic effect of mercury accumulation in higher plants system. **Toxicological & Environmental Chemistry**, India, v. 92, p. 1265-1281, 2010.

SEW, Y. S. *et al.* Loss of Mitochondrial Malate Dehydrogenase Activity Alters Seed Metabolism Impairing Seed Maturation and Post-Germination Growth in Arabidopsis. **Plant Physiology**, Crawley, v. 171, p. 849-863, 2016.

- SHARMA, S. S.; DIETZ, K-J. The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance. **Trends in Plant Science**, Shimla, v. 14, p. 43-50, 2009.
- SHARMA, S. K.; KUMAR, J. Role of biomolecules in sensing, signal transducing and acclimation in plants against frost induced low temperature stress - A Review. **International Research Journal of Engineering and Technology**, India, v. 2, p. 2187-2207, 2015.
- SHIYAB, S. *et al.* Phytotoxicity of mercury in Indian mustard (*Brassica juncea* L.). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Starkville, v. 72, p. 619-625, 2009.
- SILVA, F. C. *et al.* **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília: Ed. Embrapa Informação Tecnológica, 2009.
- SILVA, D. R. *et al.* Why is *Brachiaria decumbens* Stapf. a common species in the mining tailings of the Fundão dam in Minas Gerais, Brazil? **Environmental Science and Pollution Research**, Brasil, v. 29, p. 79168-79183, 2022.
- SILVA, R. R. *et al.* Convenção de Minamata: análise dos impactos socioambientais de uma solução em longo prazo. **Saúde em debate**, Santos, v. 41, 2017.
- SIMON, L. Stabilization of metals in acidic mine spoil with amendments and red fescue (*Festuca rubra* L.) growth. **Environ Geochem Health**, Hungary, v. 27, p. 289–300, 2005.
- SITARSKA, M. *et al.* Phytoremediation of mercury from water by monocultures and mixed cultures pleustophytes. **Journal of Water Process Engineering**, Breslávia, v. 52, 2023.
- SLADKOVSKA, T. *et al.* A Review of Research on the Use of Selected Grass Species in Removal of Heavy Metals. **Agronomy**, Wroclaw, v. 12, 2022.
- SOFO, A. *et al.* Ascorbate Peroxidase and Catalase Activities and Their Genetic Regulation in Plants Subjected to Drought and Salinity Stresses. **International Journal of Molecular Sciences**, Italy, v. 16, p. 13561-13578, 2015.
- TAIZ, L. *et al.* **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Ed. Artmed, 2017.
- TANG, B. *et al.* Mercury accumulation response of rice plant (*Oryza sativa* L.) to elevated atmospheric mercury and carbon dioxide. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Changsha, v. 224, 2021.
- TANG, Y. *et al.* Water deficit aggravated the inhibition of photosynthetic performance of maize under mercury stress but is alleviated by brassinosteroids. **Journal of Hazardous Materials**, China, v. 443, 2023b.
- TEIXEIRA, D. C.; LACERDA, L. D.; SILVA-FILHO, E. M. Foliar mercury content from tropical trees and its correlation with physiological parameters in situ. **Environmental Pollution**, Niteroi, v. 242, p. 1050-1057, 2018.
- THEODOULOU, F. L.; EASTMOND, P. Seed storage oil catabolism: a story of give and take. **Current Opinion in Plant Biology**, United Kingdom, v. 15, p. 322-328, 2012.
- TOZZI, H. H.; SOUZA, P. R. M. F.; TAKAKI, M. Efeito tóxico do mercúrio na germinação de sementes de duas espécies de asteraceae (*galinsoga parviflora* cav. e *bidens pilosa* l.). 2008.

- TUTEJA, N. *et al.* Genotoxic stress in plants: Shedding light on DNA damage, repair and DNA repair helicases. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, Índia, v. 681, p. 134-149, 2009.
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - USEPA. **Method 3051a. Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils**. United State Environmental Protection Agency, 2007.
- UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME – UNEP. **Global Mercury Assessment**. 2018. Disponível em: <https://www.unep.org/resources/publication/global-mercury-assessment-2018>
- ULLRICH, S. M; TANTON, T. W; ABDRAHITOVA, S. A. Mercury in the Aquatic Environment: A Review of Factors Affecting Methylation. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, United Kingdon, v. 31, p. 241-293, 2001.
- VERMA, S.; DUBEY, R. S. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. **Plant Science**, India, v. 164, p. 645-655, 2003.
- Wang, J. *et al.* Remediation of mercury contaminated sites – A review. **Journal of Hazardous Materials**, China, v. 221, p. 1-18, 2012.
- WANG, S. *et al.* The Binding Ability of Mercury (Hg) to Photosystem I and II Explained the Difference in Its Toxicity on the Two Photosystems of *Chlorella pyrenoidosa*. **Toxics**, China, v. 10, n. 455, 2022.
- WANG, W.; VINOCUR, B.; ALTMAN, A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. **Planta**, Rehovot, v. 218, p. 1-14, 2003.
- YANG, H. *et al.* Effects of Nitrogen Application Rate and Leaf Age on the Distribution Pattern of Leaf SPAD Readings in the Rice Canopy. **PLOS ONE**, Hangzhou, v. 9, n. 2, 2014.
- YANG, T.; POOVAIAH, B. W. Calcium/calmodulin-mediated signal network in plants. **Trends in Plant Science**, Pullman, v. 8, p. 505-512, 2003.
- YANG, S. *et al.* Heavy metal accumulation and phytostabilization potential of dominant plant species growing on manganese mine tailings. **Frontiers of Environmental Science & Engineering**, China, v. 8, p. 394-404, 2014.
- YANG, Y. *et al.* Response of photosynthesis to different concentrations of heavy metals in *Davidia involucrata*. **PLOS ONE**, Nanchong, v. 15, 2020.
- ZEFERINO, M. C. C. A. **Ação do mercúrio na germinação de sementes de *melanoxylon brauna schott.* (fabaceae-caesalpinoideae)**, 2021. Dissertação, (Mestrado em ciência florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2021.
- ZHANG, H. *et al.* Toxic effects of heavy metal Cd and Zn on chlorophyll, carotenoid metabolism and photosynthetic function in tobacco leaves revealed by physiological and proteomics analysis. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Heilongjiang, v. 202, 2020.
- ZHANG, S. *et al.* Cadmium induction of lipid peroxidation and effects on root tip cells and antioxidant enzyme activities in *Vicia faba L.* **Ecotoxicology**, China, v. 18, p. 814-823, 2009.

ZHANG, Y. *et al.* The impact of land use changes and erosion process on heavy metal distribution in the hilly area of the Loess Plateau, China. **Science of The Total Environment**, China, v. 718, 2020.