

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

ALLAN ROCHA DE FREITAS

**MORFOLOGIA, PROPAGAÇÃO E INIBIDORES DE GERMINAÇÃO DO
MARACUJAZEIRO DOCE E ANÁLISE DE FITOTOXIDEZ DO LODO DE ESGOTO**

ALEGRE, ES

JULHO, 2016

ALLAN ROCHA DE FREITAS

**MORFOLOGIA, PROPAGAÇÃO E INIBIDORES DE GERMINAÇÃO DO
MARACUJAZEIRO DOCE E ANÁLISE DE FITOTOXIDEZ DO LODO DE ESGOTO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Produção Vegetal, na linha de pesquisa em Biotecnologia e Ecofisiologia do Desenvolvimento de Plantas.

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Lopes.

Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo Sobreira Alexandre.

ALEGRE, ES

JULHO, 2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

F866m Freitas, Allan Rocha de, 1989-
Morfologia, propagação e inibidores de germinação do maracujazeiro doce e análise de fitotoxidez do lodo de esgoto / Allan Rocha de Freitas. – 2016.
133 f. : il.

Orientador: José Carlos Lopes.

Coorientador: Rodrigo Sobreira Alexandre.

Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias.

1. Passiflora alata. 2. Bioacumulação. 3. Morfologia. 4. Germinação. 5. Mutagenicidade. 6. Toxidez. I. Lopes, José Carlos. II. Alexandre, Rodrigo Sobreira. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias e Engenharias. IV. Título.

CDU: 63

ALLAN ROCHA DE FREITAS

**MORFOLOGIA, PROPAGAÇÃO E INIBIDORES DE GERMINAÇÃO DO
MARACUJAZEIRO DOCE E ANÁLISE DE FITOTOXIDEZ DO LODO DE ESGOTO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Produção Vegetal, na linha de pesquisa em Biotecnologia e Ecofisiologia do Desenvolvimento de Plantas.

Aprovada em 12 de julho de 2016

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Tercio da Silva de Souza
Instituto Federal do Espírito Santo

Prof. Dr. Adésio Ferreira
Universidade Federal do Espírito Santo

Prof^a. Dr^a. Adriana M. Á. da S. Conforti
Universidade Federal do Espírito Santo

Prof. Dr. Rodrigo Sobreira Alexandre
Universidade Federal do Espírito Santo

Prof. Dr. José Carlos Lopes
Universidade Federal do Espírito Santo

.....

OFEREÇO

À minha mãe, Lúcia, que foi sempre a minha principal fonte de inspiração, ensinando-me assiduamente sobre a importância da honestidade, do bom caráter, da dedicação em fazer sempre o melhor e do zelo e atenção pelas pessoas, que são as maiores preciosidades que conquistamos na vida.

DEDICO

À minha esposa Lidiane, aos meus avós Liquinha, Glorinha, Anita e José e à minha bisavó Maria por serem pessoas tão especiais e grandes exemplos para mim.

“Aqueles que passam por nós não vão sós,
não nos deixam sós. Deixam um pouco de si,
levam um pouco de nós”.

Antoine de Saint-Exupéry

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela infinita graça e misericórdia. Por conduzir meus passos, me sustentar até aqui e conceder-me a oportunidade de conhecer e conviver com pessoas tão especiais durante a caminhada da vida;

À Universidade Federal do Espírito Santo e ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias pela oportunidade;

À Lidiane Espíndula, pela amizade, companheirismo, ajuda, paciência e amor;

Ao professor José Carlos Lopes pela gentil oportunidade de trabalhar ao seu lado, pela orientação, confiança, generosidade, amizade e ensinamentos, que serão eternos;

Ao professor Rodrigo Sobreira Alexandre pela dedicação, orientação, paciência, amizade, ensinamentos e competência profissional que inspiram todos aqueles que estão à sua volta;

Ao professor, grande amigo e padrinho de casamento Miele Tallon Matheus (*para sempre*) por ter sido um dos principais responsáveis e motivadores da minha formação acadêmica;

Às professoras Tatiana Tavares Carrijo (UFES), Tatiana da Silva Souza (UFES), Adriana Madeira Alvares da Silva (UFES) e aos professores Marihus Altoé Baldotto (UFV), Paulo César Cavatte (UFES) e Tércio da Silva de Souza (IFES) pelo apoio, sugestões, análises e contribuições nas diversas áreas que foram exploradas nesta pesquisa;

Aos amigos que estão e aos que já passaram pelo Laboratório de Sementes (UFES), pela contribuição, convívio tão agradável e companheirismo sempre: Alice, Arêssa, Carla, Carlos, Diego, Janaína, Joyce, Khetrin, Lucimara, Ludymila, Manoel, Melissa, Nohora, Patrícia, Paulinha, Pedro, Rômulo, Simone, Verônica, Zé Maria, e especialmente Nathália, Iasmini, Liana, Aristhotelis, Miltão, Luan e Rafael que participaram de forma mais ativa dos trabalhos desenvolvidos;

Aos amigos de trabalho (Idaf - Lúna-ES), pelo auxílio e companheirismo;

Às minhas “outras” mães Zélia e Zezé e suas respectivas famílias, ao Presunto, Felipe, Matheus, Carlos, Carla e Isabela, pelo amor expressado, pela amizade e por abrirem as portas de suas casas nos momentos em que precisei;

À secretaria da Pós-Graduação (PPGPV/CCAUE-UFES) pelo auxílio incontestável;

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram para que este trabalho fosse realizado.

BIOGRAFIA

Allan Rocha de Freitas, filho de Lúcia Rocha de Oliveira e Argilando de Freitas (*para sempre*), nasceu em Afonso Cláudio, estado do Espírito Santo, no dia 20 de fevereiro de 1989.

Cursou o ensino fundamental na Escola Estadual de Ensino Médio e Fundamental “São Jorge”, no município de Brejetuba-ES, e concluiu o ensino médio e Técnico em Agropecuária na Escola Agrotécnica Federal de Alegre-ES, em 2006.

Em 2006, ingressou-se no Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, na cidade de Alegre-ES, graduando-se em Agronomia em 2011.

Em 2011, ingressou-se no Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, obtendo o título de Mestre em Produção Vegetal em 2013.

Em 2013, ingressou-se no Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, na Linha de Pesquisa Biotecnologia e Ecofisiologia do Desenvolvimento de Plantas, do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, com obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal em 12 de julho de 2016.

FREITAS, Allan Rocha de. Universidade Federal do Espírito Santo. Julho de 2016. MORFOLOGIA, PROPAGAÇÃO E INIBIDORES DE GERMINAÇÃO DO MARACUJAZEIRO DOCE E ANÁLISE DE FITOTOXIDEZ DO LODO DE ESGOTO. Orientador: Prof. Dr. José Carlos Lopes. Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo Sobreira Alexandre.

RESUMO

O maracujazeiro doce (*Passiflora alata* Curtis) é uma planta herbácea, em geral trepadeira, que apresenta folhas subcoriáceas, flores solitárias, axilares, perfumadas e frutos com polpa sucosa de sabor doce e agradável. Tradicionalmente, os pomares comerciais desta espécie são estabelecidos por mudas obtidas de sementes, sendo comum o relato de baixa porcentagem de germinação, o que pode estar associado aos mecanismos de dormência. No Brasil, o tratamento do esgoto industrial tem como consequência a grande produção de resíduo sólido, o lodo de esgoto, que é um produto decorrente do tratamento de efluentes sanitários, seja de origem doméstica ou industrial, com elevado conteúdo de matéria orgânica, composição química e biológica. O uso do lodo apresenta-se eficiente para o crescimento das plantas. No entanto, apresenta indícios de acúmulo de metais pesados no solo e na planta, além de ter potencial de impacto na saúde humana ao entrar na cadeia alimentar, por bioacumulação. Na pesquisa foram utilizadas sementes de *P. alata* provenientes de frutos coletados a partir de 15; 30; 45; 60; 75; e 85 dias após a antese. Avaliaram-se os extratos das sementes sobre a germinação de *Lactuca sativa* L. Foram determinadas as características químicas do lodo de esgoto: As, Ba, Cd, Ca, Pb, Cu, Cr, S, Mg, Mn, Hg, Mo, N, Ni, K, Se, Na, Zn, P, C orgânico e MO. Posteriormente, avaliaram-se a mutagenicidade e o acúmulo de metais pesados nas plantas tratadas com o lodo. O estágio de maturação do fruto interfere na qualidade fisiológica das sementes. A utilização do extrato do embrião das sementes de maracujá na germinação de sementes de alface determina uma menor porcentagem de germinação. O uso do lodo de esgoto eleva a concentração de elementos essenciais e matéria orgânica do solo e afeta negativamente a germinação das sementes de maracujá doce.

Palavras-chave: *Passiflora alata* Curtis; bioacumulação; morfologia; germinação; mutagenicidade; toxidez.

FREITAS, Allan Rocha de. Universidade Federal do Espírito Santo. Julho de 2016. MORPHOLOGY, PROPAGATION AND GERMINATION INHIBITORS OF SWEET PASSION FRUIT AND ANALYSIS OF THE PHYTOTOXICITY OF SEWAGE SLUDGE. Advisor: Prof. Dr. José Carlos Lopes. Co-advisor: Prof. Dr. Rodrigo Sobreira Alexandre.

ABSTRACT

The sweet passion fruit (*Passiflora alata* Curtis) is a herbaceous plant, in general climbing plants, which features subcoriaceous leaves, solitary flowers, axillary, fragrant and fruit with succulent pulp sweet and pleasant taste. Traditionally, commercial orchards of this species are established for seedlings obtained from seeds, reporting low percentage of germination, which can be associated to dormancy mechanisms. In Brazil, the treatment of industrial sewage results in the major production of solid residue, sewage sludge, which is a product resulting from the treatment of wastewater, domestic or industrial origin, with high organic matter content, chemical and biological composition. The use of sludge has to be efficient in the growth of plants. However, it features heavy metal accumulation of evidence in soil and plant, as well as having potential impact on human health entering the food chain, for bioaccumulation. *P. alata* seeds were used from fruits collected from 15; 30; 45; 60; 75; and 85 days from anthesis. Extracts from seeds on germination *Lactuca sativa* L. The chemical characteristics of sewage sludge were determined: As, Ba, Cd, Ca, Pb, Cu, Cr, S, Mg, Mn, Hg, Mo, N, Ni, K, S, Na, Zn, P, C and organic MO. Subsequently the mutagenicity and the accumulation of heavy metals in plants with the use of sludge were evaluated. The fruit maturation stage interferes with the physiological quality of seeds. The use of embryo extract of passion fruit seeds on lettuce seed germination determines the lowest percentage of germination. The use of sewage sludge increases the concentration of essential elements and soil organic matter and negatively affects the germination of sweet passion fruit seeds.

Keywords: *Passiflora alata* Curtis; bioaccumulation; morphological description; germination; mutagenicity; toxicity.

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Figura 1. Espacialização da temperatura média (°C) e da precipitação mensal (mm) e zoneamento agroclimático para o maracujazeiro (*Passiflora* spp.), segundo Borges; Lima (2009), no estado do Espírito Santo elaborado com auxílio de técnicas de Sistemas de Informações Geográficas.....24

CAPÍTULO I

Figura 1. Morfologia do caule, da folha e da flor de *P. alata*. A) Caule; B) Botão floral I; C) Botão floral II; D) Botão floral III; E) Folha; F) Flor I; G) Flor II; H) Androginóforo I; I) Androginóforo II; J) Androginóforo III; K) Fruto. CL - Caule; BA - Bainha; BR - Bráctea; GV – Gavinha; PD - Pedúnculo; PC - Pecíolo; LB - Limbo; NP - Nervura principal; NS - Nervura secundária; CC - Cálice; CR - Corona; SP - Sépala; PT - Pétala; AN - Androginóforo; ES - Estame; ET - Estigma; OV - Ovário.....57

Figura 2. Morfologia dos frutos fechados e abertos de *P. alata* em estádios de maturação. 15 (A e G); 30 (B e H); 45 (C e I); 60 (D e J); 75 (E e K); e 85 dias (F e L). ME - Mesocarpo; EN - Endocarpo; MU - Mucilagem.59

Figura 3. Morfologia de sementes e de plântulas de *P. alata*. A) Sementes e endosperma; B) Cotilédone foliáceo; C) Raiz primária; D) Eixo hipocótilo radicular; E) Hipocótilo verde e curvo, raízes principais e secundárias; F) Início da perda da curvatura do hipocótilo; G) Cotilédones expandidos e epicótilo desenvolvido. DS: Dias após a sementeira; EM - Embrião; CO - Cotilédone; HR - Hipocótilo radicular; RP - Raiz primária; HI - Hipocótilo; RS - Raiz secundária; CO - Cotilédones; AH - Alça do hipocótilo; PR - Protófilo; GA - Gema apical; EP – Epicótilo60

Figura 4. Curva de embebição de sementes de *P. alata*.62

CAPÍTULO II

Figura 1. Tamanho dos frutos de *P. alata* colhidos em estádios de maturação de 15, 30, 45, 60, 75 e 85 dias após a antese.....73

Figura 2. Box-Plot da porcentagem de germinação (A), índice de velocidade de germinação (B), massa fresca (C) e massa seca (D) de plântulas oriundas de sementes de *P. alata* em diferentes estádios de maturação dos frutos pelo teste de Kruskal-Wallis.....74

Figura 3. Teste do tetrazólio (%) em sementes de *P. alata* em diferentes estádios de maturação do fruto. Legenda: 1- Branca: parte do eixo embrionário ou região de translocação de reservas descoloridas ou embrião completamente descolorido, caracterizando tecido morto; 2 – Rosa: tecidos com aspecto normal e firme, viáveis e vigorosos; 3 - Vermelha intensa: apresentando tecidos flácidos, caracterizando tecido morto.....76

Figura 4. Porcentagem de estacas enraizadas (A), número de raiz (B), comprimento da maior raiz (C); volume da raiz (D) e massa seca de raiz (E) de estacas *P. alata*, em função das concentrações de ácido indol-3-butírico (AIB) e ácido bórico (H_3BO_3).....77

CAPÍTULO III

Figura 1. Concentração de compostos fenólicos totais em sementes inteiras e embriões de *P. edulis* e *alata*.....90

CAPÍTULO IV

Figura 1. pH e ce (condutividade elétrica) das soluções em função das concentrações de lodo de esgoto.....103

Figura 2. Box-Plot da porcentagem de germinação (A), pelo teste de Kruskal-Wallis, e gráficos do índice velocidade de germinação (IVG) e da curva de crescimento radicular, análise de regressão (B) de *L. sativa* em diferentes concentrações de lodo de esgoto.....104

Figura 3. Germinação (%), índice de velocidade de germinação de sementes e massa seca (mg plântula⁻¹) de *P. alata* em diferentes concentrações de lodo de esgoto.....106

Figura 4. Box-Plot dos índices mitótico (A), aberrações cromossômicas (B) e mutagênico (C) de células de <i>L. sativa</i> , em função de diferentes concentrações de lodo de esgoto.....	108
--	-----

CAPÍTULO V

Figura 1. Diâmetro (mm), SS (°Brix), espessura do mesocarpo (mm), peso (g) e números de frutos por planta de maracujazeiro doce cultivados em solo puro e tratado com lodo de esgoto.....	124
---	-----

Figura 2. Concentração de As e Ba em folhas e frutos de maracujazeiro doce cultivados em solo puro e tratado com lodo de esgoto.....	125
--	-----

Figura 3. Concentração de Cd, Cr e Pb em folhas e frutos de maracujazeiro doce cultivados em solo puro e tratado com lodo de esgoto.....	126
--	-----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO III

Tabela 1. Germinação (GER), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da raiz (CR), comprimento da parte aérea (CPA), massa fresca (MF), massa seca (MS) e plântulas anormais (PA) de sementes de alface em extratos de *P. alata*.....88

Tabela 2. Análise química, condutividade elétrica (CE) e pH de soluções de extratos de sementes de *P. alata*.....89

CAPÍTULO IV

Tabela 1. Propriedades químicas, microbiológicas, fracionamento e purificação do carbono orgânico do lodo de esgoto.....101

Tabela 2. Divisão mitótica (%/divisão) de células meristemáticas de *L. sativa* em função de diferentes concentrações do lodo de esgoto.....107

Tabela 3. Frequência de núcleos condensados, micronúcleos, c-metáfase, cromossomo pegajoso, cromossomo perdido e ponte em células meristemáticas de *L. sativa* em função de diferentes concentrações de lodo de esgoto.....109

CAPÍTULO V

Tabela 1. Propriedades químicas e orgânicas do lodo de esgoto.....122

Tabela 2. Valores médios da composição química do solo puro e do solo tratado com calcário e lodo de esgoto após 21 meses.....123

SUMÁRIO

RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xii
LISTA DE TABELAS.....	xv
INTRODUÇÃO GERAL.....	19
Referências.....	20
REVISÃO BIBIOGRÁFICA.....	23
1. Maracujazeiro doce (<i>Passiflora alata</i> Curtis).....	23
2. Lodo de esgoto.....	27
3. Toxicidade de metais pesados em vegetais e animais.....	30
3.1. Efeito mutagênico dos metais pesados às plantas.....	32
3.2. Efeito dos metais pesados à saúde humana.....	34
Referências	36
CAPÍTULO I.....	51
Caracterização morfológica do ramo, frutos, sementes e plântulas de <i>Passiflora alata</i> Curtis.	51
RESUMO.....	52
1. Introdução.....	53
2. Material e Métodos.....	54
3. Resultados e Discussão.....	56
4. Conclusões.....	63

5. Agradecimentos.....	63
6. Referências.....	63
CAPÍTULO II.....	68
Propagação sexuada e assexuada de <i>Passiflora alata</i> Curtis.....	68
RESUMO.....	69
1. Introdução.....	70
2. Material e Métodos.....	71
3. Resultados e Discussão.....	73
4. Conclusões.....	79
5. Agradecimentos.....	79
6. Referências.....	79
CAPÍTULO III.....	83
Germinação de sementes de alface em extratos de sementes de <i>Passiflora alata</i> Curtis.....	83
RESUMO.....	84
1. Introdução.....	85
2. Material e Métodos.....	87
3. Resultados e Discussão.....	87
4. Conclusões.....	91
5. Agradecimentos.....	91
6. Referências.....	91

CAPÍTULO IV	95
Germinação, citotoxicidade e mutagenicidade do lodo de esgoto em <i>Lactuca sativa</i> L. e <i>Passiflora alata</i> Curtis	95
RESUMO.....	96
1. Introdução.....	97
2. Material e Métodos.....	98
3. Resultados e Discussão.....	101
4. Conclusões.....	111
5. Agradecimentos.....	111
6. Referências.....	111
CAPÍTULO V	117
Metais pesados em folhas e frutos de <i>Passiflora alata</i> Curtis cultivada em lodo de esgoto	117
RESUMO.....	118
1. Introdução.....	119
2. Material e Métodos.....	120
3. Resultados e Discussão.....	121
4. Conclusões.....	128
5. Agradecimentos.....	128
6. Referências.....	128
CONSIDERAÇÕES FINAIS	133

INTRODUÇÃO GERAL

As espécies do gênero *Passiflora* compreendem um grupo de plantas trepadeiras bastante comuns em florestas tropicais, sendo importantes no que se refere às relações com as plantas que as sustentam quanto ao fornecimento de recursos à fauna. De forma geral, caracterizam-se por apresentar gavinhas axilares, nectários, folhas alternas normalmente simples, coroa filamentosa nas flores, coroa de estaminódios, gineceu e androceu com base comum (androgínóforo) e sementes ariladas (FEUILLET, 2004; TOKUOKA, 2012).

A *Passiflora alata* Curtis (maracujazeiro doce) é considerada uma espécie promissora em função do sabor doce, frutos com polpa sucosa, flores ornamentais e preços elevados no mercado comercial (ALEXANDRE et al., 2009; NICOLINI et al., 2012). A tradicional prática para produção de mudas na fruticultura baseia-se na utilização de sementes, no entanto, um dos grandes problemas enfrentados pelos produtores de maracujazeiro encontra-se em sua propagação, em que são observados frequentes relatos de desuniformidade e baixa germinação das sementes (OSIPI et al., 2011; FREITAS et al., 2015).

O entendimento do processo de germinação e a caracterização do vigor e da viabilidade de frutos e sementes podem ser auxiliados por trabalhos que envolvam suas análises morfológicas (MATHEUS; LOPES, 2007). Logo, a partir da caracterização morfológica será possível prover subsídios à germinação e identificação dos primeiros estádios de desenvolvimento de *P. alata*; analisar possíveis anormalidades em suas sementes e plântulas e fornecer suporte aos testes de germinação e vigor realizados em laboratório; propor e adequar métodos para produção de mudas de alta qualidade e rápida germinação; obter informações sobre o armazenamento, viabilidade e métodos de semeadura, sendo fatores importantes para o entendimento da biologia da espécie e dentro dos biomas.

Entre os fatores que influenciam a produção de mudas, a escolha do substrato é fundamental, na qual deve apresentar propriedades químicas, físicas e microbiológicas adequadas. Atualmente são utilizados substratos comerciais e compostos inorgânicos e orgânicos, inclusive de produção local ou regional, na composição de misturas, a exemplo, da vermiculita, fibra de coco, casca de *pinnus*, palha de café, bagaço de cana, lodo de esgoto, entre outros.

Decorrente do tratamento de efluentes sanitários, seja de origem doméstica ou industrial, o lodo de esgoto é o resíduo sólido que apresenta diversidade em sua composição química e biológica, variando de acordo com o método de estabilização e tratamento utilizado (KELESSIDIS; STASINAKIS, 2012). Essa diversidade de elementos químicos e o alto teor de matéria orgânica potencializam o uso do lodo de esgoto na agricultura (GROTTO et al., 2013; FREITAS et al., 2015), principalmente considerando sua aplicação em solos de regiões tropicais, onde os mesmos apresentam-se geralmente em estágio avançado de intemperismo, com predomínio na fração argila de óxidos de ferro e alumínio e caulinita, que possuem baixa capacidade de troca catiônica (NASCIMENTO et al., 2014).

O efeito tóxico de contaminantes ambientais, como os metais pesados, pode ser observado a partir de ensaios que avaliam os danos citogenéticos, em que é avaliada a atividade de enzimas relacionadas à biotransformação (SAKURAGUI et al., 2013; SALES et al., 2013). Nesse contexto, diversos autores afirmam que alterações no índice de divisão celular indicam níveis de poluentes ambientais potencialmente citotóxicos, podendo ocasionar alterações no DNA, o que compromete processos essenciais no metabolismo do organismo (HOSHINA; MARIN-MORALES, 2009; SINGH et al., 2009).

O enriquecimento e a disponibilidade nutricional para absorção das plantas com a aplicação do lodo de esgoto nos solos apresentam evidentes reflexos na produtividade, podendo ser igual e superior à adubação química (RIBEIRINHO et al., 2012; ZUBA JUNIO et al., 2012; FREITAS et al., 2015). Todavia, existe a preocupação quanto ao acúmulo de metais pesados no solo, decorrente do uso do lodo de esgoto, podendo ser absorvido pelas plantas, que serão consumidas por seres que compõem a cadeia alimentar.

Referências

ALEXANDRE, R. S.; BRUCKNER, C. H.; LOPES, J. C. Seleção de matrizes e comportamento do maracujazeiro quanto aos métodos de propagação. In: ALEXANDRE, R. S.; BRUCKNER, C. H.; LOPES, J. C. **Propagação do maracujazeiro: aspectos morfológicos, fisiológicos e genéticos**. EDUFES, Alegre, BR. 2009. p. 15-24.

FEUILLET, C. Passifloraceae (*Passion Flower Family*). In: SMITH, N.; MORI, S. A.; HENDERSON, A.; STEVENSON, D. W.; HEALD, S. V. (Eds.) **Flowering plants of the Neotropics**. Princeton - Oxford: Princeton University Press & New York Botanical Garden. 2004. 594p.

FREITAS, A. R.; LOPES, J. C.; ALEXANDRE, R. S.; VENANCIO, L. P.; ZANOTTI, R. F. Emergência e crescimento de mudas de maracujá doce em função de lodo de esgoto e luz. **Comunicata Scientiae**, v. 6, n. 2, p. 234-240, 2015.

GROTTO, D.; CARNEIRO, M. F. H.; SAUER, E.; GARCIA, S. C., MELO, W. J.; BARBOSA J. R. F. Evaluation of biochemical and redox parameters in rats fed with corn grown in soil amended with urban sewage sludge. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 95, n. 3, p. 188-194, 2013.

HOSHINA, M. M.; MARIN-MORALES, M. A. Micronucleus and chromosome aberrations induced in onion (*Allium cepa*) by a petroleum refinery effluent and by river water that receives this effluent. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, n. 8, p. 2090-2095, 2009.

KELESSIDIS, A.; STASINAKIS, A. S. Comparative study of the methods used for treatment and final disposal of sewage sludge in European countries. **Waste Management**, v. 32, n. 6, p. 1186-1195, 2012.

MATHEUS, M. T.; LOPES, J. C. Morfologia de frutos, sementes e plântulas e germinação de sementes de *Erythrina variegata* L. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 3, p. 8-15, 2007.

NASCIMENTO, A. L.; SAMPAIO, R. A.; ZUBA JUNIO, G. R.; CARNEIRO, J. P.; FERNANDES, L. A.; RODRIGUES, M. N. Teores de metais pesados no solo e em girassol adubado com lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, n. 3, p. 294-300, 2014.

NICOLINI, J. T.; BIDO, G. S.; ZONETTI, P. C. Efeito do extrato aquoso de *Passiflora edulis* Sims sobre a germinação e crescimento inicial de alface. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v. 5, n. 1, p. 191-203, 2012.

OSIPI, E. A. F.; LIMA, C. B.; COSSA, C. A. Influência de métodos de remoção do arilo na qualidade fisiológica de sementes de *Passiflora alata* Curtis. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. especial, p. 680-685, 2011.

RIBEIRINHO, V. S.; MELO, W. J.; SILVA, D. H.; FIGUEIREDO, L. A.; MELO, G. M. P. Fertilidade do solo, estado nutricional e produtividade de girassol, em função da aplicação de lodo de esgoto. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, n. 2, p. 166-173, 2012.

SAKURAGUI, M. M.; PAULINO, M. G.; PEREIRA, C. D. S.; CARVALHO, C.S.; SADAUSKAS-HENRIQUE, H.; FERNANDES, M. M. Integrated use of antioxidant enzymes and oxidative damage in two fish species to assess pollution in man-made hydroelectric reservoirs. **Environmental Pollution**, v. 178, p.41-51, 2013.

SALES, C. R. G.; RIBEIRO, R. V.; SILVEIRA, J. A. G.; MACHADO, E. C.; MARTINS, M. O.; LAGOA, A. M. M. A. Superoxide dismutase and ascorbate peroxidase improve the recovery of photosynthesis in sugarcane plants subjected to water deficit and low substrate temperature. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 73, p. 326-336, 2013.

SINGH, B. N.; SINGH, B. R.; SINGH, R. L.; PRAKASH, D.; SINGH, D. P.; SARMA, B. K.; UPADHYAY, G.; SINGH, H. B. Polyphenolics from various extracts/fractions of red onion (*Allium cepa*) peel with potent antioxidant and antimutagenic activities. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, n. 6, p. 1161-1167, 2009.

TOKUOKA, T. Molecular phylogenetic analysis os Passifloraceae sensu lato (*Malpighiales*) based on plastid and nuclear DNA sequences. **Plant Research**, v. 125, p. 487-497, 2012.

ZUBA JUNIO, G. R.; SAMPAIO, R. A.; SANTOS, G. B.; NASCIMENTO, A. L.; CARNEIRO, J. P.; SANTOS, L. D. T.; FERNANDES, L. A. Produção de milho adubado residualmente com composto de lodo de esgoto e fosfato de Gafsa. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 16, n. 12, p. 1289-1297, 2012.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Maracujazeiro doce (*Passiflora alata* Curtis)

A fruticultura tornou-se nas últimas décadas como um dos setores de maior destaque do agronegócio brasileiro. A variedade de espécies, o desenvolvimento tecnológico e o aumento produtivo em todo o país foram os principais fatores que resultaram na maior expressividade econômica. Em 2015 a produção brasileira no seguimento de aproximadamente 43 milhões de toneladas e, por consequência, gerou cerca de 5,6 milhões de empregos para mão de obra (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2016).

Dentre as frutíferas de grande expressão, o maracujazeiro apresenta produção nacional de 900 mil toneladas e produtividade média de 15 t ha^{-1} . O estado do Espírito Santo encontra-se entre os cinco maiores produtores do país com produção de 48 mil toneladas e produtividade de 24 t ha^{-1} (IBGE, 2015). A maior área de cultivo do maracujazeiro encontra-se na região Norte, onde é classificada por produtores e profissionais do setor agropecuário como áreas de solos arenosos e de topografia plana a levemente ondulada que proporciona manejo mecanizado adequado. A partir da espacialização dos dados de temperaturas média e precipitação pluviométrica dos últimos 25 anos, disponibilizados na página do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), foi elaborado um mapa de zoneamento agroclimático (Figura 1). Observa-se que o estado do Espírito Santo apresenta elevada aptidão para a produção da cultura nas regiões litorâneas e sul, sendo inapta apenas para pequenas áreas onde as temperaturas menores de 18 °C são verificadas com maior frequência durante o ano. Diante do potencial produtivo e da demanda quanto ao consumo de frutas no mercado interno e externo, os resultados evidenciam o potencial do Espírito Santo em relação ao plantio e cultivo em novas áreas.

Zoneamento agroclimático do maracujazeiro para estado do Espírito Santo

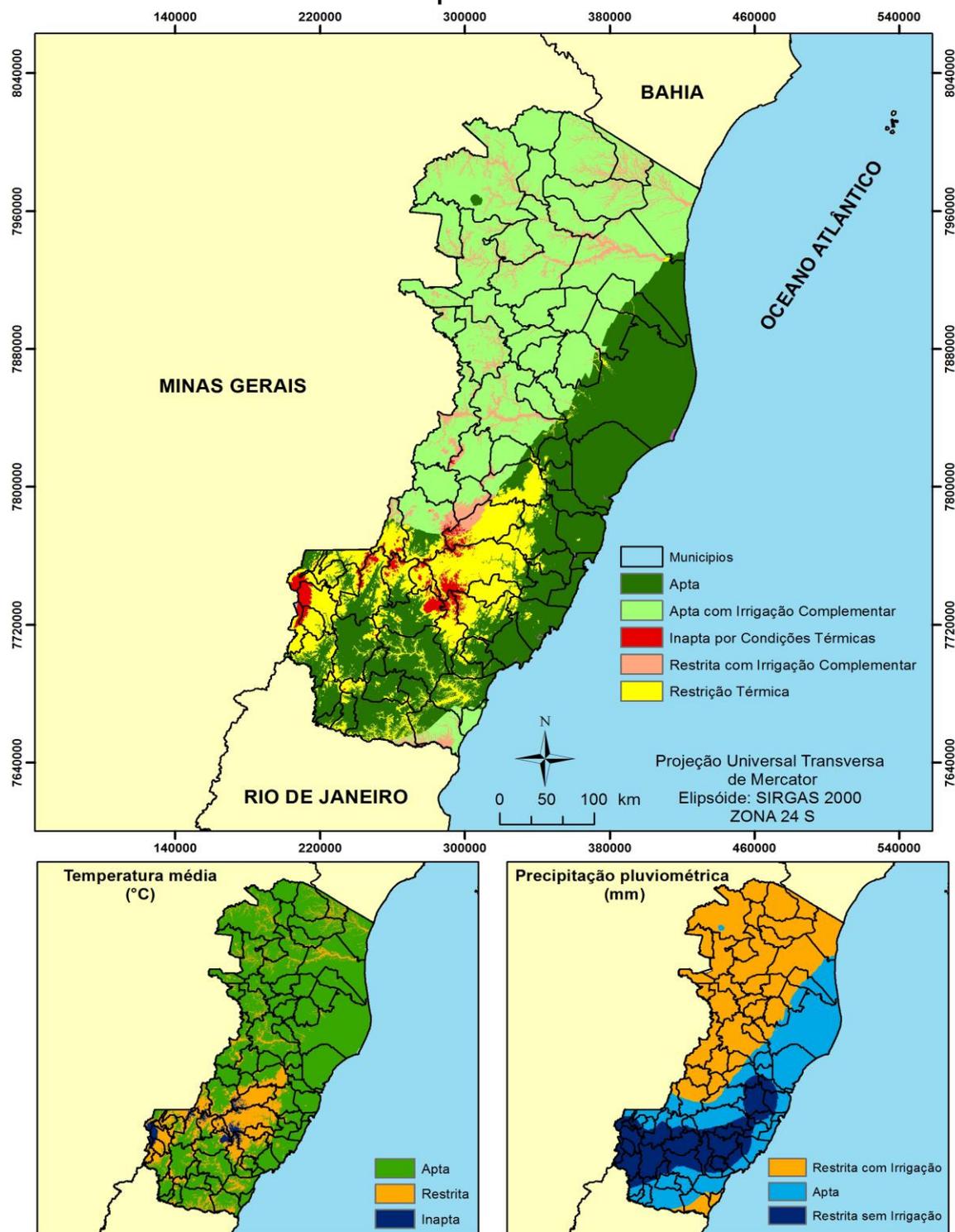


Figura 1. Espacialização da temperatura média (°C) e da precipitação mensal (mm) e Zoneamento agroclimático para o maracujazeiro (*Passiflora spp.*), segundo Borges; Lima (2009), no estado do Espírito Santo, elaborado com auxílio de técnicas de Sistemas de Informações Geográficas. Fonte: elaborada pelo autor.

A família Passifloraceae é caracterizada por agrupar 18 gêneros e 630 espécies (OCAMPO et al., 2007). O gênero *Passiflora* reúne mais de 530 espécies, sendo o mais explorado em cultivos. Seus representantes são encontrados em diversas regiões do planeta, principalmente nas Américas Central e do Sul (ULMER; MACDOUGAL, 2004; CERVI, 2006; SOUZA; HOPKINS, 2011; PACHECO et al., 2012; CUTRI et al., 2013). No Brasil, estima-se a existência de 142 espécies nativas do gênero, sendo 83 endêmicas do país (BFG, 2015).

As espécies do gênero *Passiflora* compreendem um grupo de plantas trepadeiras bastante comum em florestas tropicais, sendo importantes no que se refere às relações com as plantas que as sustentam quanto ao fornecimento de recursos alimentares. De forma geral, caracterizam-se por apresentar gavinhas axilares, nectários, folhas alternas normalmente simples, corona filamentosa nas flores, coroa de estaminódios, gineceu e androceu com base comum (androgínóforo) e sementes ariladas (FEUILLET, 2004; TOKUOKA, 2012). Algumas são de difícil identificação, pela variação morfológica que apresentam, enquanto outras são distintas por caracteres tênues, havendo limitações em função de diversas características morfológicas e diferenças anatômicas (SÁNCHEZ et al., 1999). Concordando com essa afirmação, autores relatam que estudos de táxons de *Passifloras* baseiam-se nas características de suas estruturas vegetativas, que apresentam alto nível de complexidade, em função da subdivisão taxonômica em subgêneros e das particularidades (CUTRI et al., 2013; FARIAS et al., 2016). Além disso, as características morfológicas da espécie podem ser alteradas em função da condição em que a planta é submetida, e com isso, o grande número de espécies pode estar associado à ligação entre a plasticidade morfológica e a sua diversidade (RAMAIYA et al., 2014).

Caracterizada como uma espécie não-climatérica (MANICA, 2005), o gênero apresenta algumas espécies com maior consumo e produção agrícola como a *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. (maracujazeiro amarelo), que se destaca entre as espécies mais cultivadas, pesquisada e de maior interesse econômico no Brasil. Todavia, o elevado número de espécies silvestres com potenciais agrônômicos, farmacêuticos e ornamentais, tem despertado interesse em novas pesquisas, havendo destaque para a *Passiflora alata* Curtis, que atualmente é considerada como promissora em função do sabor doce, frutos com polpa sucosa, flores ornamentais e preços elevados no mercado comercial (ALEXANDRE et al.,

2009; NICOLINI et al., 2012). Além disso, *P. alata* contribui como uma importante alternativa para usos de variabilidade genética no melhoramento das espécies cultivadas comercialmente (ATAÍDE et al., 2012).

O cultivo de *Passifloras* é considerado uma importante alternativa de produção agrícola em pequena e larga escala, sendo efetuado de forma simples e eficaz quanto à implantação do pomar, aos tratamentos culturais e ao processo de colheita (FURLANETO et al., 2014). Para a maioria dos produtores, a prática mais comum para a propagação e produção de mudas das espécies é a utilização de sementes. No entanto, isso confere alta variabilidade genética exigida na produção de frutos, a qual está diretamente relacionada à autoincompatibilidade, podendo expressar em diferentes características morfológicas (ALEXANDRE et al., 2009; FREITAS et al., 2015). Além disso, para a espécie *P. alata*, existem relatos de baixo percentual de germinação (OSIPI et al., 2011; FREITAS et al., 2015; FREITAS et al., 2016).

Fenômenos como a imaturidade do embrião, a presença de hormônios inibidores e a maturação do tegumento durante o desenvolvimento da semente são fatores associados à baixa germinação ou estado de dormência (BEWLEY; BLACK, 1994; LOPES et al., 2007). Vários autores relatam dificuldades na germinação das sementes de muitas espécies após sua completa maturação, o que é atribuído ao fenômeno, exógeno ou endógeno, conhecido como dormência (LOPES et al., 2005a; LOPES et al., 2007; LOPES et al., 2008).

A maturação das sementes compreende as transformações morfológicas, fisiológicas e funcionais que se processam no óvulo fecundado, culminando com o peso máximo de matéria seca, estágio em que a semente atinge também maior capacidade germinativa e vigor (POPINIGIS, 1985). Além disso, conhecer o estágio de maturação torna-se importante quanto à conservação do poder germinativo das sementes, sendo que fatores como sua natureza e condições de ambiente afetam a germinação (LOPES et al., 2005a; LOPES et al., 2006). Sabe-se que a composição química das sementes é variável entre espécies, dessa forma, substâncias inibidoras de diferentes categorias químicas, podem ser encontradas em diferentes níveis, interferindo no processo germinativo (BEWLEY; BLACK, 1994). Dessa forma, a influência no desenvolvimento do embrião das sementes pode ser atribuída à ação de compostos ativadores ou inibidores do sistema enzimático, podendo favorecer a atividade da auxina (NEVES et al., 2013; PAIVA NETO et al., 2014; DIAS et al., 2015). Esses compostos presentes na estrutura das sementes atuam retendo o

oxigênio, dificultando a transferência de energia necessária para íon transporte, e dessa forma, seu suprimento ao embrião durante a germinação (MARCOS FILHO, 2005).

Diante das dificuldades encontradas com a utilização da propagação sexuada, o método assexuado tem sido considerado uma possível alternativa para a propagação mais eficiente e segura (ALBURQUERQUE JUNIOR et al., 2013; GURUNG et al., 2015), podendo apresentar-se como tecnologia simples e de baixo custo para a produção de mudas de maior qualidade, pela capacidade de perpetuar melhores clones, e contribuir para a implantação de pomares tecnicamente superiores aos formados pela propagação sexuada, devido à menor variabilidade genética.

A estaquia, processo de propagação de plantas pelos órgãos vegetativos, é empregada para algumas espécies de *Passifloras* (ALBUQUERQUE JUNIOR et al., 2013; GURUNG et al., 2015). Todavia, faz-se necessário estudar e padronizar a qualidade das estacas a serem levadas a campo, a partir de técnicas eficientes e viáveis economicamente, para a obtenção de mudas uniformes e sadias.

Fatores como a época da retirada das estacas, a umidade, a temperatura e a intensidade de luz devem ser observados no processo de produção de mudas por estacas (RUGGIERO; MARTINS, 1987). Além disso, para obtenção de maior número de estacas enraizadas e da maior qualidade das mesmas, é necessário um equilíbrio entre promotores e inibidores, para que ocorra o processo de iniciação radicular por um balanço hormonal endógeno, como as auxinas, giberelinas e citocininas, e exógenos, como o uso de reguladores de crescimento, como AIB (ácido indolbutírico), que podem elevar o teor de auxina no tecido (PASQUAL et al., 2001; SOUSA et al., 2013; YANG et al., 2014). O uso exógeno de fitorreguladores e outras substâncias relacionadas ao enraizamento podem apresentar diferentes respostas em função da espécie trabalhada (ARAÚJO et al., 2010).

2. Lodo de esgoto

O significativo crescimento da população brasileira, o constante desenvolvimento de áreas urbanas e o aumento da produção industrial têm elevado a produção de resíduos domésticos e industriais e, por consequência, aumentado a produção de efluentes sanitários que são destinados nos afluentes, sendo um dos principais motivos de poluição da água. A situação se agrava ainda mais ao associar

o problema de escassez de água que a população de muitas regiões brasileiras tem enfrentado nos últimos anos.

Diante da busca de estratégias visando atender a crescente demanda por água de boa qualidade para consumo e redução da carga orgânica nos afluentes, muitos investimentos têm sido destinados ao tratamento de efluentes urbanos a partir da instalação de estações de tratamento de esgoto (ETEs), pelas empresas de saneamento ambiental (LIMA et al., 2011). Todavia, a problemática nas cidades faz com que seja necessário o gerenciamento dos resíduos ao final dos processos, sendo um dos principais desafios quanto à destinação final da quantidade gerada (MAAS, 2010; SCHIRMER, 2012).

O processo de tratamento dos efluentes domésticos tem como consequência a geração de um resíduo com alto conteúdo de matéria orgânica e diferentes composições químicas e biológicas, variando de acordo com o método de estabilização e tratamento utilizado (KELESSIDIS; STASINAKIS, 2012), denominado lodo de esgoto. Estima-se que a produção de lodo no Brasil seja de aproximadamente 220 mil toneladas de massa seca por ano (IBGE, 2010) e ao considerar que apenas 30% da população urbana têm seu esgoto devidamente coletado e tratado, estima-se que esse resíduo produzido seja ainda maior e que ainda haja um elevado potencial de poluição diretamente nos afluentes. Schowanek et al. (2004) observaram que mesmo após a separação da parte sólida e líquida do esgoto nas estações de tratamento, a água despejada e tratada nos recursos hídricos é acompanhada de sais, íons, microrganismos patogênicos, materiais orgânicos e inorgânicos em suspensão ou dissolvidos, além de precipitados de fósforo e biomassa microbiana. Os compostos inorgânicos, como os metais pesados, são os componentes mais preocupantes, devido ao potencial tóxico que podem apresentar (PETRIE et al., 2015).

O principal objetivo do tratamento do lodo de esgoto é gerar um produto mais estável em menor volume para facilitar seu manuseio e, conseqüentemente, reduzir os custos nos processos subsequentes chamados de pós-tratamento ou higienização, visando melhorar e permitir sua destinação final (CORRÊA et al., 2007), que é feita por processos físicos, químicos e biológicos. Usualmente, o tratamento do lodo, após a sua geração, inclui uma ou mais etapas, como o adensamento: redução de umidade (redução de volume); estabilização: redução de matéria orgânica (redução de sólidos voláteis); condicionamento: preparação para a

desidratação (principalmente mecânica); desidratação: redução adicional de umidade (redução de volume); disposição final: destinação final dos subprodutos; e controle de patógenos. O acúmulo do lodo de esgoto no ambiente tem despertado o interesse em desenvolver pesquisas que proponham alternativas viáveis dentro dos parâmetros ecológicos e econômicos quanto à sua utilização. Práticas ambientais de aproveitamento do resíduo como reutilização industrial, incineração e, principalmente, o uso no meio agrícola como fertilizantes para as plantas têm sido estudadas nos últimos anos a fim de reduzir o impacto por sua deposição, considerando os altos teores de matéria orgânica, concentrações de macronutrientes e micronutrientes e pela efetiva disponibilidade desses nutrientes para as plantas (LOPES et al., 2005b; KELESSIDIS; STASINAKIS, 2012; GROTTTO et al., 2013; NASCIMENTO et al., 2014a).

Lopes et al. (2005b) verificaram que plantas de alface apresentaram maior crescimento quando utilizado substrato enriquecido com lodo de esgoto. Boechat et al. (2014) concluíram que o lodo de esgoto doméstico beneficiou o crescimento de pinhão-manso. Caldeira et al. (2014), em estudo com *Acacia mangium*, observaram que em solos compostos por lodo de esgoto, as plantas apresentaram maiores médias dentre as variáveis de crescimento avaliadas. Similarmente, Freitas et al. (2015), ao estudarem o comportamento de plantas de maracujazeiro doce em solos tratados com lodo de esgoto, observaram maior crescimento das plantas cultivadas com uso do resíduo.

A diversidade de elementos químicos e o alto teor de matéria orgânica potencializam o uso do lodo de esgoto na agricultura, principalmente considerando sua aplicação em solos de regiões tropicais, onde os mesmos apresentam-se, geralmente, em estágio avançado de intemperismo, com predomínio na fração argila de óxidos de ferro e alumínio e caulinita, que possuem baixa capacidade de troca catiônica (NASCIMENTO et al., 2014a). O enriquecimento e a disponibilidade nutricional para absorção das plantas com a aplicação do lodo de esgoto nos solos apresentam evidentes reflexos na produtividade, podendo ser igual ou superior à adubação química (RIBEIRINHO et al., 2012; ZUBA JUNIO et al., 2012; FREITAS et al., 2015).

Apesar desses benefícios com a aplicação do resíduo, a presença de metais pesados pode interferir negativamente, apresentando efeito tóxico (NASCIMENTO et al., 2014b). Durante o processo de tratamento dos efluentes, muitos compostos

orgânicos, de diversas fontes originárias, podem se ligar às partículas sólidas e se concentrar em níveis elevados nos solos, acarretando efeitos negativos ao serem absorvidos pelas plantas, percolados e acumulados nos perfis do solo (GOTHWAL; SHASHIDHAR, 2014; PETRIE et al., 2015; SUBEDI; KANNAN, 2015).

Em virtude da possibilidade de contaminação dos solos, dos afluentes, das plantas e dos animais, a partir do uso do lodo de esgoto na agricultura, sem os devidos cuidados técnicos com relação a sua estabilidade, composição química e biológica para maior segurança, em 29 de agosto de 2006, entrou em vigor a mais recente legislação brasileira que regulamenta a utilização de lodo de esgoto na agricultura. A Resolução nº 375 do Conselho Nacional do Meio Ambiente – Conama (BRASIL, 2006), limita as quantidades máximas de substâncias inorgânicas e orgânicas presentes no lodo de esgoto, na qual estão indicados os critérios e os procedimentos para seu uso adequado tomando como base a elevação de pH, acúmulo de metais pesados no solo e quantidade de nitrogênio disponível. A Resolução foi elaborada para elevar o controle da utilização do lodo na agricultura de forma apropriada e relacionando as condições ambientais, as sociais, as econômicas e as culturas a serem exploradas (LIMA et al., 2011).

3. Toxidez de metais pesados em vegetais e animais

Apesar dos benefícios nas características físicas e químicas do solo e no crescimento das plantas com a aplicação do lodo de esgoto (FREITAS et al., 2015), existem riscos ambientais quanto à toxicidade a partir do seu uso intenso, mesmo em baixas concentrações (GOMES et al., 2013; MAGNA et al., 2014; VIEIRA et al., 2015). O elevado teor de matéria mineral e metais pesados apresentam indícios da toxidez que o lodo pode causar à saúde humana ao entrar na cadeia alimentar por bioacumulação (SINGH; AGRAWAL, 2008; LI et al., 2012; MAGNA et al., 2014; NASCIMENTO et al., 2014b; BERILLI et al., 2015; LOBO; GRASSI FILHO, 2015). Para a utilização desse resíduo é necessário conhecer suas características químicas, observar se as concentrações dos elementos se enquadram dentro da legislação dos órgãos ambientais de cada região e as consequências na fauna e na flora (BRASIL, 2006).

Segundo Malavolta (1994), os metais pesados são elementos que possuem peso específico maior do que 5 g. cm^{-3} ou número atômico maior do que 20. Bard; Zoski (2000) afirmam que os metais pesados diferenciam-se dos compostos

orgânicos tóxicos, por acumularem-se nos componentes do ambiente onde manifestam sua toxicidade e por serem absolutamente não-degradáveis. É importante ressaltar que muitos elementos considerados metais pesados são micronutrientes de extrema importância para o desenvolvimento e o metabolismo vegetal, nos quais estão presentes em metaloproteínas (NAGAJYOTI et al., 2010), proteínas que possuem sítios para ligação de metais. Essas proteínas podem ter sua função inibida ao ocorrer substituição do seu cofator por outro metal pesado, o que leva a perda da função fisiológica da enzima e alteração do metabolismo da planta (KOSOVÁ et al., 2011). Alguns metais desempenham importantes papéis na nutrição de plantas, como cobre (Cu) e zinco (Zn), enquanto outros exercem efeitos deletérios sobre vários componentes da biosfera, como cádmio (Cd), chumbo (Pb), arsênio (As), mercúrio (Hg) e selênio (Se) (KABATA-PENDIAS; MUKHERJEE, 2007; AUGUSTO et al., 2014).

A exposição das plantas em altas concentrações de metais pesados pode ocasionar o acúmulo nas plantas através da absorção. Esta bioacumulação nos tecidos vegetais é variável para cada espécie em função de sua especificação química, solubilidade, condição física e química do solo (KABATA-PENDIAS, 2011; GU et al., 2012; SONG et al., 2014), podendo limitar o crescimento e o desenvolvimento pela inibição de processos fisiológicos, como transpiração e respiração (NAGAJYOTI et al., 2010; TAIZ; ZEIGER, 2013). Berton (2000) afirma que as concentrações dos metais pesados variam nos diferentes tecidos da planta e, em geral, os grãos contêm concentração menor do que as partes vegetativas da planta. Analisando o acúmulo de metais pesados em seis espécies de hortaliças folhosas, sobre solo tratado com lodo de esgoto, Chang et al. (2014) verificaram que o Cd apresenta elevada capacidade de transferência de solo para as plantas. Pesquisadores observaram que o Ba presente em solos contaminados pode ser translocado com facilidade e acumulado em folhas de espécies vegetais (CHANG et al., 2009; LI et al., 2011).

Os metais pesados presentes nas soluções de resíduos em contato com o solo e afluentes têm capacidade de ficar retidos no solo, solubilizarem-se na água, podendo atingir o lençol freático e apresentarem indícios de contaminação pelas nascentes. Nessas condições podem afetar a biota, sendo incorporados ao longo da cadeia alimentar e, conseqüentemente, podem causar danos também à saúde humana (KHAN et al., 2005). Uma das principais formas de contaminação com

metais pesados pelos seres vivos é pela ingestão de alimentos, tornando-se uma via de disseminação e bioacumulação extremamente danosa e direta (PANDEY; SHARMA, 2002; CHAPIN; CREASY, 2012; GONZÁLEZ-WELLER et al., 2013), podendo até atingir o sistema nervoso, órgãos hepáticos (fígado e rins) e sistema endócrino.

3.1. Efeito mutagênico dos metais pesados às plantas

O acúmulo de metais nos organismos pode levar a efeitos mutagênicos devido à sua capacidade de induzir danos genéticos (CARITÁ; MARIN-MORALES, 2008; LEME; MARIN-MORALES, 2008). Diante desta afirmação, faz-se necessário identificar os elementos que são reativos com o DNA em proteínas visando assegurar as características e a qualidade ambiental (LEME; MARIN-MORALES, 2009).

Em espécies vegetais, a toxidez de substâncias pode ser observada a partir de ensaios que quantificam parâmetros morfológicos e citogenéticos, sendo esses usados cotidianamente em laboratórios para determinar o potencial fitotóxico, citotóxico, genotóxico e mutagênico de produtos químicos, substâncias complexas como extratos de plantas, dejetos industriais e águas contaminadas, nas quais é analisada a atividade de enzimas relacionadas à biotransformação (SAKURAGUI et al., 2013; SALES et al., 2013; FELICIDADE et al., 2014). Nesse contexto, diversos autores afirmam que alterações no ciclo de divisão celular podem indicar potenciais poluentes ambientais que ocasionam alterações no DNA, o que compromete processos essenciais no metabolismo do organismo (HOSHINA; MARIN-MORALES, 2009; SINGH et al., 2009).

A presença e a concentração de metais pesados em contato com as plantas podem ter como consequências distúrbios fisiológicos tais como:

As - suas formas pentavalentes competem em reações enzimáticas com os grupos fosfato, durante o processo de fosforilação oxidativa. A arsenólise é um fenômeno caracterizado pelo bloqueio da síntese de ATP a partir da interação do arsênio com a gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (BALDISSARELLI, 2010). A concentração de arsênio nas rotas metabólicas também afeta negativamente a respiração celular após alterar o metabolismo de NAD e NADH, e com a redução dos níveis de NADH ocorre déficit na produção celular de ATP e aumento na produção de peróxido de hidrogênio, ocasionando a produção de espécies reativas

de oxigênio (HORVÁTH et al., 2007; RAHMAN et al., 2007; BALDISSARELLI, 2010; OOH et al., 2014; DEMIDCHIK, 2015);

Ba - é um elemento ainda pouco estudado em solos tratados com lodo de esgoto. Naturalmente ele se apresenta associado junto a outros elementos em forma de sulfato e o carbonato de Ba (BaSO_4 e BaCO_3) (LIMA et al., 2012). Semelhante ao Pb e Cd, o Ba é considerado tóxico aos seres vivos mesmo em baixas concentrações e apresenta alta capacidade de acúmulo em plantas e animais (OLIVEIRA et al., 2008; RODRIGUES et al., 2010);

Cd - destaca-se por assemelhar-se com características químicas de elementos essenciais como Zn^{2+} e Ca^{2+} , sendo absorvido pelos transportadores de cátions e por apresentar ampla especificidade de substrato, havendo acúmulo principalmente no sistema radicular (GRATÃO et al., 2008; GUIMARÃES et al., 2008). A presença desse elemento nas plantas pode causar mudanças morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e estruturais, podendo diminuir o crescimento, reduzir a taxa de fotossíntese e provocar alterações tanto enzimáticas quanto metabólicas. No entanto, os efeitos do Cd nas plantas variam em função do tempo de exposição ao metal (OLIVEIRA et al., 2001). Além de interferir em funções celulares como as proteínas que inibem atividades essenciais e estimulam o acúmulo de peróxido de hidrogênio (SCHÜTZENDÜBEL et al., 2001; METWALLY et al., 2003);

Pb - Em sua forma catiônica Pb^{2+} é absorvido pelas plantas por razão de sua semelhança com os metais essenciais, sendo de fácil translocação nas plantas (SILVA et al., 2007). Elevadas concentrações de Pb interferem na divisão celular e inibem a extensão do sistema radicular, ocasionando a redução no crescimento da planta, a partir da diminuição do processo respiratório causado pela redução na assimilação de CO_2 , interferindo negativamente no metabolismo do Ca e na inativação enzimática (ADRIANO, 2001; TAIZ; ZEIGER, 2013);

Cr – O Cr é um elemento estável e não é considerado um elemento essencial à nutrição das plantas (MONTEMÓR; MARÇAL, 2009). Seu transporte é realizado por carregadores de outros elementos essenciais como o do Fe e P. (SHANKER et al., 2005). A presença no solo pode estar na forma de Cr^{4+} , solúvel e móvel, ou de Cr^{+3} , onde apresenta baixa mobilidade e maior predomínio nos solos (ASTDR, 2000; MACEDO et al., 2009). Ambos os estados de oxidação do Cr são considerados tóxicos às plantas. Além disso, o estado Cr^{+6} presente no solo apresenta elevado

potencial tóxico e permeabilidade na membrana celular (KABATA-PENDIAS, 2011). A influência do Cr pode ser observada sobre a germinação das sementes em função da oxidação da membrana e ocorrência de hidrólise de proteínas e do amido, e sobre o menor crescimento do sistema radicular das plantas (SHANKER et al., 2005).

3.2. Efeito dos metais pesados à saúde humana

Trabalhos demonstram que plantas cultivadas com altas concentrações de metais pesados podem oferecer risco à saúde humana devido ao acúmulo de substâncias em suas estruturas (MARTINS et al., 2003; LOPES et al., 2005b; RANGEL et al., 2006). Dessa forma, a inalação de metais pesados pode apresentar efeito negativo e afetar o equilíbrio endócrino.

São definidos como desreguladores endócrinos os agentes e as substâncias químicas exógenas capazes de causar efeitos adversos à saúde, podendo interferir no sistema endócrino dos seres vivos (CHANG et al., 2009). Esse sistema é responsável pelo controle do grande número de funções biológicas do corpo, sendo constituído por glândulas e tecidos que secretam substâncias químicas no organismo (LINTELMANN et al., 2003; GHISELLI; JARDIM, 2007).

O aumento de ocorrências de cânceres, puberdade precoce e danos aos órgãos reprodutores dos seres humanos despertam o interesse em estudos, em razão do aumento de acúmulo de resíduos, que podem ter disfunções do sistema reprodutivo e endócrino (ARGEMI et al., 2005; SWAN et al., 2007). De acordo com Santamarta (2001), os desreguladores endócrinos interferem nos mecanismos fisiológicos substituindo, bloqueando ou diminuindo os hormônios do corpo e assim alterando as funções endócrinas. Os hormônios, após serem produzidos, entram na circulação sanguínea e percorrem todo o organismo (FERREIRA, 2003), no qual são segregados pelos órgãos do corpo. Esses hormônios têm funções de regular, mesmo à distância, outros órgãos (LINTELMANN et al., 2003).

Autores afirmam que a exposição em ambiente com presença de metais pesados pode causar distúrbios nos sistema endócrino e manifestações de algumas doenças, sendo:

As - no organismo humano o As é rapidamente excretado pelo fígado e pelos rins, que funcionam como verdadeira usina de eliminação de excesso, tanto para o arsênio inorgânico quanto para o orgânico (SANTOS et al., 2003). Sua

metabolização após ingerido resulta na excreção de As metilado pelos rins e seus efeitos adversos sobre a saúde são variados e vão desde lesões da pele até quadros clínicos graves dos sistemas gastrintestinal, circulatório periférico e nervoso (DANTAS et al., 2012);

Ba - seu acúmulo nos seres humanos pode ocasionar dores abdominais, diarreia, vômitos, ansiedade, astenia, náuseas, agitação, sudorese, tremores, fibrilação muscular, hipertonia dos músculos da face e pescoço, dificuldade respiratória, arritmia cardíaca, desordens nervosas, caracterizadas por sensações anormais e alucinações sensoriais de membros inferiores e superiores e crises convulsivas (TUBINO; SIMONI, 2007);

Cd - a exposição e inalação de substâncias com elevada concentração de Cd favorece a formação de câncer de próstata, acúmulo no pâncreas e testículos (PATNAIK, 2002). Além disso, pode afetar os pulmões e causar danos crônicos aos rins, os quais, depois da exposição prolongada, são considerados órgãos críticos (MUNIZ; OLIVEIRA-FILHO, 2006);

Cr - a presença do Cr em altas concentrações no ambiente é extremamente nociva à saúde em sua forma Cr^{6+} , podendo causar problemas como dermatite irritativa e alérgica, corrosão da mucosa nasal, asma bronquial, câncer de pulmão e danos renais (MUNIZ; OLIVEIRA-FILHO, 2006). Se ingerido em maiores concentrações, o metal pode competir com o Fe pela ligação com a transferrina, proteína responsável pelo transporte de ferro recém-absorvido (TRUMBO et al., 2001);

Pb - pode acumular-se na tireoide, nos testículos e nos ovários, reduzindo a qualidade do esperma e hipotireoidismo decorrente de alterações funcionais da hipófise (TEVES, 2001; MOREIRA; MOREIRA, 2004);

Hg - este metal foi encontrado com maior facilidade, principalmente até a última década do século XX. Todavia, após estudos específicos, foram observados indícios de consequências negativas quanto à exposição e contato com o homem. Teves (2001) afirma sobre a influência do Hg, quanto à interferência no ciclo menstrual irregular, menores ovulações, acúmulo no pâncreas, testículos e próstata. Além disso, Azevedo (2003) verificou a relação de abortos espontâneos, natimortos, Síndrome de Paralisia Cerebral, danos ao cerebelo em filhos de mães que consumiram peixes contaminados com metilmercúrio (AZEVEDO, 2003).

4. Referências

ADRIANO, D. C. **Trace elements in terrestrial environments biogeochemistry, bioavailability, and risks of metals**. 2.ed., New York: SPRINGER, 2001. 867p.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY – ASTDR. **Toxicological profile for chromium**. Atlanta: U. S. Departamento f Health & Human Services, 2000. 582p.

ALBUQUERQUE JUNIOR, C. L.; DANNER, M. A.; KANIS, L. A.; DESCHAMPS, C.; ZANETTE, F.; FARIAS, P. M. Enraizamento de estacas semilenhosas de maracujazeiro amarelo (*Passiflora actinia* Hook). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6, sup. 1, p. 3663-3668, 2013.

ALEXANDRE, R. S.; BRUCKNER, C. H.; LOPES, J. C. Seleção de matrizes e comportamento do maracujazeiro quanto aos métodos de propagação. In: ALEXANDRE, R. S.; BRUCKNER, C. H.; LOPES, J. C. **Propagação do maracujazeiro**: aspectos morfológicos, fisiológicos e genéticos. EDUFES, Alegre, BR. 2009. p. 15-24.

ARAÚJO, F. P.; MOUCO, M. A. C.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Substratos e concentrações de ácido indolibutírico no enraizamento de estacas de *Passiflora cincinnata* Mast. **Magistra**, v. 22, n. 1, p. 21-27, 2010.

ARGEMI, F.; CIANNI, N.; PORTA, A. Disrupción endócrina: perspectivas ambientales y salud pública. **Acta Bioquímica Clínica Latino America**, v. 39, n. 3, p. 291-300, 2005.

AUGUSTO, A. S.; BERTOLI, A. C.; CANNATA, M. G.; CARVALHO, R.; BASTOS, A. R. R. Bioacumulação de metais pesados em *Brassicajuncea*: relação de toxicidade com elementos essenciais. **Revista Virtual Química**, v. 6, n. 5, p. 1221-1236, 2014.

AZEVEDO, F. A. **Toxicologia do mercúrio**. São Carlos: RIMA, 2003, 292 p.

BALDISSARELLI, L. A. **Efeitos do arsênio sobre as atividades ectonucleotídicas e parâmetros comportamentais em peixe zebra (Daniorerio)**. 2010. 72f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular). Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

BARD, A. J.; ZOSKI, C. G. Voltammetric retrospective. **Analytical Chemistry**, v. 72, n. 9, p. 364-352, 2000.

BERILLI, S. S.; BERILLI, A. P. C. G.; CARVALHO, A. J. C.; FREITAS, S. J.; CUNHA, M.; FONTES, P. S. F. Níveis de cromo em mudas de café conilon desenvolvidas em substrato com lodo de curtume como adubação alternativa. **Coffee Science**, v. 10, n. 3, p. 320-328, 2015.

BERTON, R. S. Riscos de contaminação do agrossistema com metais pesados. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. (Ed.). **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. p. 259-268.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds**: physiology of development and germination. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.

BOECHAT, M. L.; RIBEIRO, M. O.; RIBEIRO, L. O.; SANTOS, J. A. G.; ACCIOLY, A. M. A. Lodos de esgoto doméstico e industrial no crescimento inicial e qualidade de mudas de pinhão-manso. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 1, p. 782-791, 2014.

BORGES, A. L.; LIMA, A. A. Maracujazeiro. In: CRISÓSTOMO, L. A.; NAUMOV, A. (Org.). **Frutíferas tropicais do Brasil**: adubando para alta produtividade e qualidade. International Potash Institute/Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, BR. 2009. p.166-180.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente - Conama. 2006. Resolução, N° 375: **Define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências.**, 167 ed. Diário Oficial Da União, Brasília, p. 25.

CALDEIRA, M. V. W.; FAVALESSA, M.; GONÇALVES, E. O.; DELARMEINA, W.M.; SANTOS, F.E.V.; VIERA, M. Lodo de esgoto como componente de substrato para produção de mudas de *Acacia mangium* Wild. **Comunicata Scientiae**, n. 5, v. 1, p. 34-43, 2014.

CARITÁ, R.; MARIN-MORALES, M.A. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. **Chemosphere**, v. 72, n. 5, p. 722-725, 2008.

CERVI, A. C. O. Gênero *Passiflora* L. (Passifloraceae) no Brasil, espécies descritas após o ano de 1950. **Adumbrationes ad Summae Editionem**, v. 16, n. 1, p. 1-5, 2006.

CHANG, C. Y.; YU, H. Y.; CHEN, J. J.; LI, F. B.; ZHANG, H. H.; LIU, C. P. Accumulation of heavy metals in leaf vegetables from agricultural soils and associated potential health risks in the Pearl River Delta, South China. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 188, n. 3, p. 1547-1560, 2014.

CHANG, H. S.; CHOO, K. H.; CHO, S. J. The methods of identification, analysis, and removal of endocrine disrupting compounds (EDCs) in water. **Journal of Hazardous Materials**, v. 172, n. 1, p. 1-12, 2009.

CHAPIN, R. E.; CREASY, D. M. Assessment of circulating hormones in regulatory toxicity studies II. Male reproductive hormones. **Toxicologic Pathology**, v. 40, n. 7, p. 1063-1078, 2012.

CORRÊA, R. S.; FONSECA, Y. M. F.; CORRÊA, A. S. Produção de biossólido agrícola por meio da compostagem e vermicompostagem de lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 11, n. 4, p. 420-426, 2007.

CUTRI, L.; NAVE, N.; AMI, M. B.; CHAYUT, N.; SAMACH, A.; DORNELAS, M. C. Evolutionary, genetic, environmental and hormonal-induced plasticity in the fate of organs arising from axillary meristems in *Passiflora* spp. **Mechanisms of Development**, v. 130, n. 3, p. 61-69, 2013.

DANTAS, G. N.; SANTAROSA, B. P.; CAGNINI, D. Q.; CAVALCANTI, R. M.; CHIACCHIO, S. B.; GONÇALVES, R. C.; CORREA, F. R.; BORGES, A. S. Intoxicação aguda por metano arsonato ácido monossódico em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 12, p. 1239-1245, 2012.

DEMIDCHIK, V. Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. **Environmental and Experimental Botany**, v. 109, n. 1, p. 212-228, 2015.

DIAS, M. A.; DIAS, D. C. F. S.; BORGES, E. E. L.; DIAS, L. A. S. Qualidade e compostos fenólicos em sementes de mamão alterados pela colheita e maturação dos frutos. **Ciência Rural**, v. 45, n. 4, p. 737-743, 2015.

FARIAS, V.; MARANHO, L. T.; MUSHNER, V. C.; SOFFIATTI, P. Anatomia foliar de *Passiflora* subgênero *Decaloba* (Passifloraceae): implicações taxonômicas. **Rodriguésia**, v. 67, n. 1, p. 29-43, 2016.

FELICIDADE, I.; LIMA, J. D.; PESARINI, J. R.; MONREAL, A. C. D.; MANTOVANI, M. S.; RIBEIRO, L. R.; OLIVEIRA, R. J. Mutagenic and antimutagenic effects of aqueous extract of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) on meristematic cells of *Allium cepa*. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, n. 4, p. 9986-9996, 2014.

FERREIRA, C. P. **Bioquímica Básica**. 5.ed. São Paulo: MNP, 2003, 453p.

FEUILLET, C. Passifloraceae (Passion Flower Family). In: SMITH, N.; MORI, S. A.; HENDERSON, A.; STEVENSON, D. W.; HEALD, S. V. (Eds.) **Flowering plants of the Neotropics**. Princeton - Oxford: Princeton University Press & New York Botanical Garden. 2004. 594p.

FREITAS, A. R.; LOPES, J. C.; ALEXANDRE, R. S.; VENANCIO, L. P.; ZANOTTI, R. F. Emergência e crescimento de mudas de maracujá doce em função de lodo de esgoto e luz. **Comunicata Scientiae**, v. 6, n. 2, p. 234-240, 2015.

FREITAS, A. R.; LOPES, J. C.; MENGARDA, L. H. G.; ZANOTTI, R. F.; VENANCIO, L. P. Allelopathic effect of *Passiflora alata* Curtis extracts on seed germination. **Comunicata Scientiae**, v. 7, p. 1, p. 129-132, 2016.

FURLANETO, F. P. B.; ESPERANCINI, M. S. T.; MARTINS, A. N.; OKAMOTO, F. VIDAL, A. A.; BUENO, O. C. Análise energética do novo sistema de produção de maracujá amarelo na região de Marília-SP. **Ciência Rural**, v. 44, n. 2, p. 235-240, 2014.

GHISELLI, G.; JARDIM, W. F. Interferentes endócrinos no ambiente. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 695-706, 2007.

GOMES, A. C. S.; LINDINO, C. A.; GONÇALVES JR., A. C.; GOMES, G. D. Determinação de Cd, Cr e Pb no leite e na alimentação bovina do Brasil. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 72, n. 3, p. 211-218, 2013.

GONZÁLEZ-WELLER, D.; RUBIO, C.; GUTIÉRREZ, Á. J.; MESA, J. M. C.; GIRONÉS, C. R.; OJEDA, A. B.; HARDISSON, A. Dietary intake of barium, bismuth, chromium, lithium, and strontium in a Spanish population (Canary Islands, Spain). **Food and Chemical Toxicology**, v. 62, n. 2, p. 856-868, 2013.

GOTHWAL, R.; SHASHIDHAR, T. Antibiotic pollution in the environment: a review. **Clean – Soil, Air, Water**, v. 42, n. 1, p. 1-11, 2014.

GRATÃO, P. L.; MONTEIRO, C. C.; ANTUNES, A. M.; PERES, L. E. P.; AZEVEDO, R. A. Acquired tolerance of tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Micro-Tom) plants to cadmium-induced stress. **Annals of Applied Biology**, v. 153, n. 3, p. 321-333, 2008.

GROTTO, D.; CARNEIRO, M. F. H.; SAUER, E.; GARCIA, S. C.; MELO, W. J.; BARBOSA J. R. F. Evaluation of biochemical and redox parameters in rats fed with corn grown in soil amended with urban sewage sludge. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 95, n. 3, p. 188-194, 2013.

GU, C.; BAI, Y.; TAO, T.; CHEN, G.; SHAN, Y. Effect of sewage sludge amendment on heavy metal uptake and yield of Ryegrass seedling in a Mudflat soil. **Journal of Environmental Quality**, v. 42, n. 2, p. 421-428, 2012.

GUIMARÃES, M. D. A.; SANTANA, T. A.; SILVA, E. V.; ZENZEN, I. L.; LOUREIRO, M. E. Toxicidade e tolerância ao cádmio em plantas. **Revista Trópica**, v. 1, n. 3, p.58-68, 2008.

GURUNG, N.; SWAMY, G. S. K.; SARKAR, S. K. Rooting response of passion fruit cuttings under mist house and closed media sachet (CMS). **Environment and Ecology**, v. 33, n. 3, p. 1019-1021, 2015.

HORVÁTH, E.; PÁL, M.; SZALAI, G.; PÁLDI, E.; JANDA, T. Exogenous 4-hydroxybenzoic acid and salicylic acid modulate the effect of short-term drought and freezing stress on wheat plants. **Biologia Plantarum**, v. 51, n. 3, p. 480-487, 2007.

HOSHINA, M. M.; MARIN-MORALES, M. A. Micronucleus and chromosome aberrations induced in onion (*Allium cepa*) by a petroleum refinery effluent and by river water that receives this effluent. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, n. 8, p. 2090-2095, 2009.

IBGE - Instituto brasileiro de geografia e estatísticas. **Censo 2010**. Disponível em: <www.sidra.ibge.gov.br> Acesso em: 09 de junho de 2016.

IBGE - Instituto brasileiro de geografia e estatísticas. **Censo 2015**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/>> Acesso em: 19 de junho de 2016.

INMET - Instituto Nacional de meteorologia. **Dados meteorológicos**. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/>> Acesso em: 10 de junho de 2016.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soil and plants**. 4. ed.: New York: CRC Press, 2011. 467p.

KABATA-PENDIAS, A.; MUKHERJEE, A. B. **Trace elements from soil to human**. New York: SPRINGER, 2007. 450p.

KELESSIDIS, A.; STASINAKIS, A. S. Comparative study of the methods used for treatment and final disposal of sewage sludge in European countries. **Waste Management**, v. 32, n. 6, p. 1186-1195, 2012.

KHAN, R.; ISRAILI, S. H.; AHMAD, H.; MOHAN, A. Heavy metal pollution assessment in surface water bodies and its suitability for irrigation around the neyevli lignite mines and associated industrial complex, Tamil Nadu, India. **Mine Water and the Environment**, v. 24, n.1, p.155-161. 2005.

KOSOVÁ, K.; VÍTÁMVÁS, P.; PRÁŠIL, I. T.; RENAUT, J. Plant proteome changes under abiotic stress-contribution of proteomics studies to understanding plant stress response. **Journal of Proteomics**, v. 74, n. 8, p. 1301-1322, 2011.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research**, v. 682, n. 1, p. 71-81, 2009.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. Chromosome aberration and micronucleus frequencies in *Allium cepa* cells exposed to petroleum polluted water – a case study. **Mutation Research**, v. 650, n. 1, p. 80-86, 2008.

LI, G. Y.; HU, N.; DING, D. X.; ZHENG, J. F.; LIU, Y. L.; WANG, Y. D.; NIE, X. Q. Screening of plant species for phytoremediation of uranium, thorium, barium, nickel, strontium and lead contaminated soils from a uranium mill tailings repository in south China. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 86, n. 6, p. 646-652, 2011.

LI, Q.; GUO, X. Y.; XU, X. H.; ZUO, Y. B.; WEI, D. P.; MA, Y. B. Phytoavailability of copper, zinc and cadmium in sewage sludge amended calcareous soils. **Pedosphere**, v. 22, n. 1, p. 254-262, 2012.

LIMA, E. S. A.; AMARAL SOBRINHO, N. M. B.; MAGALHÃES, M. O. L.; GUEDES, J. N.; ZONTA, E. Absorção de bário por plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) e mobilidade em solo tratado com baritina sob diferentes condições de potencial redox. **Química Nova**, v. 35, n. 9, p. 1746-1751, 2012.

LIMA, M. F.; COSTA, A. F. S.; MATTOS, C. N.; COSTA, A. N. Aspectos legais de utilização do lodo de esgoto na agricultura. In: COSTA, A. N. da; COSTA, A. de F. S. (Org.), **Manual de uso agrícola e disposição do lodo de esgoto para o estado do Espírito Santo**. Vitória, ES, Incaper, c. 2, p. 19-21, 2011.

LINTELMANN, J.; KATAYAMA, A.; KURIHARA, N.; SHORE, L.; WENZEL, A. *Endocrine* disruptors in the environment. **Pure and Applied Chemistry**, v. 75, n. 5, p. 631-681, 2003.

LOBO, A. T. F.; GRASI FILHO, H. Efeito de elementos tóxicos em função do lodo de esgoto na cultura do girassol. **Revista Verde**, v. 10, n. 1, p. 136-142, 2015.

LOPES, J. C.; BONO, G. M.; ALEXANDRE, R. S.; MAIA, V. M. Germinação e vigor de plantas de maracujazeiro ‘amarelo’ em diferentes estádios de maturação do fruto, arilo e substrato. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 2, p. 1340-1346, 2007.

LOPES, J. C.; DIAS, P. C.; PEREIRA, M. D. Maturação fisiológica de sementes de quaresmeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 8, p. 811-816, 2005a.

LOPES, J. C.; LIMA, R. V.; MACEDO, C. M. P. Germinação e vigor de sementes de urucu. **Horticultura Brasileira**, v. 26, v. 1, p. 19-25, 2008.

LOPES, J. C.; RIBEIRO, L. G.; ARAÚJO, M. G.; BERALDO, M. R. B. S. Produção de alface com doses de lodo de esgoto. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 1, p. 143-147, 2005b.

LOPES, J. C.; SOARES, A. S. Estudo da maturação de sementes de carvalho vermelho (*Miconia cinnamomifolia* (Dc.) Naud.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 4, p. 623-628, 2006.

MAAS, K. D. B. **Biossólido como substrato na produção de mudas de timburi**. 2010. 46f. Dissertação de Mestrado. Cuiabá: Universidade Federal de Mato Grosso. 2010.

MACEDO, F. G.; MELO, W. J.; MERLINO, L. C. S.; RIBEIRO, M. H.; MELO, G. M. P.; CAMACHO, M. A. Acúmulo e disponibilidade de cromo, cádmio e chumbo em solos tratados com lodo de esgoto por onze anos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 1, p. 101-114, 2012.

MAGNA, G. A. M.; MACHADO, S. L.; PORTELLA, R. B.; CARVALHO, M. F. Avaliação da exposição ao Pb e Cd em crianças de 0 a 17 anos por consumo de alimentos vegetais cultivados em solos contaminados no município de Santo Amaro (BA). **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 19, n. spe, p. 3-12, 2014.

MALAVOLTA, E. **Fertilizantes e seu impacto ambiental: metais pesados, mitos, mistificação e fatos**. São Paulo: PRODUQUÍMICA, 1994, 153p.

MANICA, I.; OLIVEIRA JR., M. E. Maracujá no Brasil. In: MANICA, I.; RANCHER, A.; SANZONOWICZ, C.; ICUMA, I. M.; AGUIAR, J. L. P.; AZEVEDO, J. A.; VASCONCELLOS, M. A. S.; JUNQUEIRA, N. T. V. **Maracujá-doce: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2005. p. 11- 26.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.

MARTINS, A. L. C.; BATAGLIA, O. C.; CAMARGO, O. A.; CANTARELLA, H. Produção de grãos e absorção de Cu, Fe, Mn e Zn pelo milho em solo adubado com lodo de esgoto, com e sem calcário. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, n. 3, p. 563-574, 2003.

METWALLY, A.; FINKEMEIER, I.; GEORGI, M.; DIEZT, K, J. Alicyclic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedling. **Plant Physiology**, v. 132, n. 3, p. 272-281, 2003.

MONTEMÓR, C. H.; MARÇAL, W. S. Desempenho de bovinos da raça nelore suplementados com cromo orgânico. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 3, p. 701-708, 2009.

MOREIRA, F. R.; MOREIRA, J. C. Os efeitos do chumbo sobre o organismo humano e seu significado para a saúde. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 15, n. 2, p. 119-129, 2004.

MUNIZ, D. H. F.; OLIVEIRA-FILHO, E. C. Metais pesados provenientes de rejeitos de mineração e seus efeitos sobre a saúde e o meio ambiente. **Universitas: Ciências da Saúde**, v. 4, n. 1, p. 83-100, 2006.

NAGAJYOTI, P. C.; LEE, K. D.; SREEKANTH, T. V. M. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 8, p.199-216, 2010.

NASCIMENTO, A. L.; SAMPAIO, R. A.; ZUBA JUNIO, G. R.; CARNEIRO, J. P.; FERNANDES, L. A.; RODRIGUES, M. N. Teores de metais pesados no solo e em girassol adubado com lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, n. 3, p. 294-300, 2014a.

NASCIMENTO, A. L.; SAMPAIO, R. A.; ZUBA JUNIO, G. R.; FERNANDES, L. A.; CRUZ, S. F.; CARNEIRO, J. P.; BARBOSA, C. F.; LIMA, N. N. Atributos químicos do solo adubado com lodo de esgoto estabilizado por diferentes processos e cultivado com girassol. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 1, p. 146-153, 2014b.

NEVES, J. M. G.; SILVA, H. P.; AQUINO, C. F.; BRANDÃO, A. A.; DUARTE, R. F.; BRANDÃO JUNIOR, D. S.; SALES, N. L. P. Determinação de inibidores e superação de dormência em sementes de cutieira. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 3, n. 2, p. 121-128, 2013.

NICOLINI, J. T.; BIDO, G. S.; ZONETTI, P. C. Efeito do extrato aquoso de *Passiflora edulis* Sims sobre a germinação e crescimento inicial de alface. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v. 5, n. 1, p. 191-203, 2012.

OCAMPO, J. P.; COPPENS D'EECKENBRUGGE, G.; RESTREPO, M.; JARVIS, A.; SALAZAR, M.; CAETANO, C. Diversity of colombian Passifloraceae: biogeography and an updated list for conservation. **Biota Colombiana**, v. 8, n. 1, p. 1-45, 2007.

OLIVEIRA, J. A.; CAMBRAIA, J.; CANO, M. A. O.; JORDÃO, C. P. Absorção e acúmulo de cádmio e seus efeitos sobre o crescimento relativo de plantas de aguapé e de salvinia. **Revista de Fisiologia Vegetal**, v. 13, n. 3, p. 329-341, 2001.

OLIVEIRA, M. T. G.; ROLIM, S. B. A.; MELLO-FARIAS, P. C.; MENEGUZZI, A.; LUCTKMEIRER, C. Industrial pollution of environmental compartments in the sinos river valley, RS, Brazil: Geochemical–biogeochemical characterization and remote sensing. **Water Air Soil Pollut**, v. 192, n. 1, p. 183-198, 2008.

OOH, K-F.; ONG, H-C.; WONG, F-C.; SIT, N-W.; CHAI, T-T. High performance liquid chromatography profiling of health-promoting phytochemicals and evaluation of antioxidant, anti-lipoxygenase, iron chelating and anti-glucosidase activities of wetland macrophytes. **Pharmacognosy**, v. 10, n. 39, p. 443-455, 2014.

OSIPI, E. A. F.; LIMA, C. B.; COSSA, C. A. Influência de métodos de remoção do arilo na qualidade fisiológica de sementes de *Passiflora alata* Curtis. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. especial, p. 680-685, 2011.

PACHECO, G. R.; LUGATO, D.; VIANNA, M.; MANSUR, E. Plant regeneration, callus induction and establishment of cell suspension cultures of *Passiflora alata* Curtis. **Scientia Horticulturae**, v. 144, n. 1, p. 42-47, 2012.

PAIVA NETO, V. B.; PRANDO, F. P.; RODRIGUES, L. A.; ZUFFO, M. C. R.; LIMA, S. F. Ação inibitória do endosperma na germinação *in vitro* de embrião zigótico de pinhão manso. **Ciência Rural**, v. 44, n. 3, p. 433-438, 2014.

PANDEY, N.; SHARMA, C. P. Effect of heavy Co^{2+} , Ni^{2+} and Cd^{2+} on growth and metabolism of cabbage. **Plant Science**, v. 163, n. 1, p. 753-758, 2002.

PASQUAL, M.; CHALFUN, N. N. J.; RAMOS, J. D.; VALE, M. R.; SILVA, C. R. R. **Fruticultura comercial: propagação de plantas frutíferas**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 137p.

PATNAIK, P. **Guia geral: propriedades nocivas das substâncias químicas**. Belo Horizonte: ERGO, 2002, 546 p.

PETRIE, B.; BARDEN, R.; KASPRZYK-HORDERN, B. A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring. **Water Research**, v. 72, n. 1, p. 3-7, 2015.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. 2.ed. Brasília: AGIPLAN, 1985. 289p.

RAHMAN, M. A.; HASEGAWA, H.; RAHMAN, M. M.; ISLAM, M. N.; MAJID-MIAH, M. A.; TASMEN, A. Effect of arsenic on photosynthesis, growth and yield of five widely cultivated rice (*Oryza sativa* L.) varieties in Bangladesh. **Chemosphere**, v. 67, n. 6, p. 1072-1079, 2007.

RAMAIYA, S. D.; BUJANG, J. S.; ZAKARIA, M. H. Assessment of total phenolic, antioxidant, and antibacterial activities of *Passiflora* species. **The Scientific World Journal**, v. 2014, art. 167309, p. 10, 2014.

RANGEL, O. J. P.; SILVA, C. A.; BETTIOL, W.; DYNIA, J. F. Efeitos de aplicações de lodos de esgoto sobre os teores de metais pesados em folhas e grãos de milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, n. 3, p. 583-594, 2006.

RIBEIRINHO, V. S.; MELO, W. J.; SILVA, D. H.; FIGUEIREDO, L. A.; MELO, G. M. P. Fertilidade do solo, estado nutricional e produtividade de girassol, em função da

aplicação de lodo de esgoto. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, n. 2, p. 166-173, 2012.

RODRIGUES, S. M.; HENRIQUES, B.; SILVA, E. F.; PEREIRA, M. E.; DUARTE, A. C.; ROMKENS, P. F. A. M. Evaluation of an approach for the characterization of reactive and available pools of twenty potentially toxic elements in soils: Part I - The role of key soil properties in the variation of contaminants' reactivity. **Chemosphere**, v. 81, n. 11, p. 1549-1559, 2010.

RUGGIERO, C.; MARTINS, A. B. G. Implantação da cultura e propagação. In: RUGGIERO, C. (Ed.). **Maracujá**. Jaboticabal: Legis Summa, 1987. p. 40-57.

SAKURAGUI, M. M.; PAULINO, M. G.; PEREIRA, C. D. S.; CARVALHO, C.S.; SADAUSKAS-HENRIQUE, H.; FERNANDES, M. M. Integrated use of antioxidant enzymes and oxidative damage in two fish species to assess pollution in man-made hydroelectric reservoirs. **Environmental Pollution**, v. 178, p. 41-51, 2013.

SALES, C. R. G.; RIBEIRO, R. V.; SILVEIRA, J. A. G.; MACHADO, E. C.; MARTINS, M. O.; LAGOA, A. M. M. A. Superoxide dismutase and ascorbate peroxidase improve the recovery of photosynthesis in sugarcane plants subjected to water deficit and low substrate temperature. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 73, n. x, p. 326-336, 2013.

SANCHEZ, G.; RESTREPO, S.; DUQUE, M. C.; FREGENE, M.; BONIERBALE, M.; VERDIER, V. AFLP assessment of genetic variability in cassava accessions (*Manihot esculenta*) resistant and susceptible to the cassava bacterial blight (CBB). **Genome**, v. 42, n. 2, p. 163-172, 1999.

SANTAMARTA, J. A ameaça dos disruptores endócrinos. **Revista Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**, v. 2, n. 3, p. 368-378, 2001.

SANTOS, E. C. O.; JESUS, I. M.; BRABO, E. S.; FAYAL, K. F.; SÁ FILHO, G. C. S.; LIMA, M. O.; MIRANDA, A. M. M.; MASCARENHAS, A. S.; SÁ, L. L. C.; SILVA, A. P.; CÂMARA, V. M. Exposição ao mercúrio e ao arsênio em Estados da Amazônia: síntese dos estudos do Instituto Evandro Chagas/FUNASA. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 6, n. 2, p. 171-185, 2003.

SCHEER, M. B.; CARNEIRO, C.; BRESSAN, O. A.; SANTOS, K. G. Crescimento e Nutrição de mudas de *Lafoensia pacari* com lodo de esgoto. **Floresta e Ambiente**, v. 19, n. 1, p. 55-65, 2012.

SCHOWANEK, D.; CARR, R.; DAVID, H.; DOUBEN, P.; HALL, J.; KIRCHMANN, H.; PATRIA, L.; SEQUI, P.; SMITH, S.; WEBB, S. A risk-based methodology for deriving quality standards for organic contaminants in sewage sludge for use in agriculture: conceptual framework. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 40, n. 3, p. 227-251, 2004.

SCHÜTZENDÜBEL, A.; SCHWANZ, P.; TEICHMANN, T.; GROSS, K.; LANGENFELDHEYSE, R.; GODBOLD, D. L.; POLLE, A. Cadmium-induced changes in antioxidative systems, hydrogen peroxide content, and differentiation in scots pine roots. **Plant Physiology**, v. 127, n. 3, p. 887-889, 2001.

SHANKER, A. K.; CERVANTES, C.; LOZA-TAVERAC, H.; AVUDAINAYAGAM, S. Chromium toxicity in plants. **Environmental International**, v. 31, n. 5, p. 739-753, 2005.

SILVA, V. L.; CARVALHO, R.; FREITAS, M. P.; TORMENA, C. F.; MELO, W. C. Spectrometric and theoretical investigation of the structures of Cu and Pb/DTPA complexes. **Structural Chemistry**, v. 18, n. 5, p. 605-609, 2007.

SINGH, B. N.; SINGH, B. R.; SINGH, R. L.; PRAKASH, D.; SINGH, D. P.; SARMA, B. K.; UPADHYAY, G.; SINGH, H. B. Polyphenolics from various extracts/fractions of red onion (*Allium cepa*) peel with potent antioxidant and antimutagenic activities. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, n. 6, p. 1161-1167, 2009.

SINGH, R. P.; AGRAWAL, M. Potential benefits and risks of land application of sewage sludge. **Waste Management**, v. 28, n. 1, p. 347-358, 2008.

SONG, X. D.; XUE, X. Y.; CHEN, D. Z.; HE, P. J.; DAL, X. H. Application of biochar from sewage sludge to plant cultivation: Influence of pyrolysis temperature and biochar-to-soil ratio on yield and heavy metal accumulation. **Chemosphere**, v. 109, n. 1, p. 213-220, 2014.

SOUSA, C. M.; BUSQUET, R. N.; VASCONCELLOS, M. A. S.; MIRANDA, R. M. Effects of auxin and misting on the rooting of herbaceous and hardwood cuttings from the fig tree. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 2, p. 334-338, 2013.

SOUZA, M. A. D.; HOPKINS, M. J. G. *Passiflora fissurosa*, uma nova espécie de Passifloraceae para o Amazonas, Brasil. **Acta Amazônica**, v. 41, n. 4, p. 449-452, 2011.

SUBEDI, B.; KANNAN, K. Occurrence and fate of select psychoactive pharmaceuticals and antihypertensives in two wastewater treatment plants in New York State, USA. **Science of the Total Environment**, v. 514, n. 1, p. 273-280, 2015.

SWAN, S. H.; LIU, F.; OVERSTREET, J. W.; BRAZIL, C.; SKAKKEBAEK, N. E. emen quality of fertile US males in relation to their mothers' beef consumption during pregnancy. **Human Reproduction**, v. 22, n. 6, p. 1497-1502, 2007.

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

TEVES, M. L. U. **Lixo urbano: contaminação por resíduos de tintas e vernizes**. São Paulo: FUNDACENTRO, 2001, 124p.

TOKUOKA, T. Molecular phylogenetic analysis os Passifloraceae sensu lato (Malpighiales) based on plastid and nuclear DNA sequences. **Plant Research**, v. 125, p. 487-497, 2012.

TREICHEL, M.; KIST, B. B.; SANTOS, C. E.; CARVALHO, C.; BELING, R. R. **Anuário Brasileiro de Fruticultura**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2016. 88p.

TRUMBO, P.; YATES, A. A.; SCHLICKER, S.; POOS, M. Dietary reference intakes: vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 101, n. 3, p. 294-301, 2001.

TUBINO, M.; SIMONI, J. A. Refletindo sobre o caso celobar[®]. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 505-506, 2007.

ULMER, T.; MACDOUGAL, J. M. ***Passiflora***: Passion flowers of the World. 1. ed., Timber Press, Portland, 2004, 432p.

VIEIRA, L. R.; CORRÊA, E. S.; MORAES, B. S.; ROSSATO, M. V.; VESTENA, S. Toxicidade de cádmio em plantas. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 19, n. 2, p. 1574-1588. 2015.

YANG, M.; LIU, Y.; PAN, J.; ZHONG, Y.; LIU, S.; ZHOU, L.; LIANG, H. Effects of different substrates and rooting powder concentrations on cutting rooting of *Passiflora caerulea* Linn. **Journal of Zhongkai University of Agriculture and Engineering**, v. 27, n. 2, p. 1-4, 2014.

ZUBA JUNIO, G. R.; SAMPAIO, R. A.; SANTOS, G. B.; NASCIMENTO, A. L.; CARNEIRO, J. P.; SANTOS, L. D. T.; FERNANDES, L. A. Produção de milho adubado residualmente com composto de lodo de esgoto e fosfato de Gafsa. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 16, n. 12, p. 1289-1297, 2012.

CAPÍTULO I

**Caracterização morfológica do ramo, dos frutos, das sementes e das plântulas
de *Passiflora alata* Curtis**

Caracterização morfológica do ramo, dos frutos, das sementes e das plântulas de *Passiflora alata* Curtis

RESUMO

Algumas espécies de *Passiflora* são de difícil identificação, dado que variam morfológicamente, enquanto outras são distintas por caracteres tênues, havendo limitações em função da gama de características morfológicas e diferenças anatômicas. A *Passiflora alata* Curtis (maracujazeiro doce) tem despertado maiores estudos nos últimos anos por ser considerada uma espécie promissora em função do sabor doce dos frutos e preços elevados no mercado comercial. Objetivou-se com este estudo a caracterização morfológica da planta, frutos, sementes e plântulas de maracujazeiro doce. Foram coletados 10 frutos em seis estádios de maturação. Para análise e descrição morfológica das sementes foram utilizadas 50 subamostras, mensurando-se seu comprimento, largura, diâmetro, massas fresca e seca, umidade, peso de mil sementes e comprimento da largura e da espessura. A descrição das características da germinação foi realizada em 30 subamostras de 20 sementes. As características externas do fruto e das sementes foram descritas e fotografadas com o auxílio de uma câmera digital e as características do ramo, da folha e da flor foram descritas e ilustradas manualmente. As sementes apresentam germinação epígea e fanerocotiledonar, com percentual de germinação de aproximadamente 22% de plântulas normais. A germinação tem início no 12º dia e se estende até o 27º dia após a sementeira. A espécie apresenta modelo trifásico de embebição caracterizado como fase I, até 24 horas, fase II, de 24 a 252 horas, e fase III a partir de 264 horas.

Palavras-chave: maracujazeiro doce; botânica; desenvolvimento; Passifloracea.

1. Introdução

A família Passifloraceae é caracterizada por abarcar 18 gêneros e 630 espécies (OCAMPO et al., 2007). O gênero *Passiflora* reúne mais de 530 espécies, sendo o mais explorado em cultivos. Seus representantes são encontrados em diversas regiões do planeta, principalmente nas Américas Central e do Sul (ULMER; MACDOUGAL, 2004; CERVI, 2006; SOUZA; HOPKINS, 2011; PACHECO et al., 2012; CUTRI et al., 2013). No Brasil, estima-se a existência de 142 espécies nativas do gênero, sendo 83 endêmicas do país (BFG, 2015).

A *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. (maracujazeiro amarelo) destaca-se entre as espécies mais cultivadas, pesquisadas e de maior interesse econômico no Brasil. Todavia, o elevado número de espécies silvestres com potenciais agrônômicos, farmacêuticos e ornamentais tem despertado interesse em novas pesquisas, havendo destaque para a *Passiflora alata* Curtis (maracujazeiro doce), que atualmente é considerada como promissora, em função do sabor doce, frutos com polpa sucosa, flores ornamentais e preços elevados no mercado comercial (ALEXANDRE et al., 2009; NICOLINI et al., 2012). Além disso, *P. alata* contribui como uma importante alternativa para usos de novos genótipos no melhoramento das espécies cultivadas comercialmente (ATAÍDE et al., 2012).

As espécies de *Passiflora* caracterizam-se por apresentar gavinhas axilares, nectários, folhas alternas normalmente simples, corona filamentosa nas flores, coroa de estaminódios, gineceu e androceu com base comum (androgínóforo) e sementes ariladas (FEUILLET, 2004; TOKUOKA, 2012). Algumas espécies são de difícil identificação, porque variam morfológicamente, enquanto outras são distintas por caracteres tênues, havendo limitações em função da gama de características morfológicas e diferenças anatômicas (SÁNCHEZ et al., 1999). Concordando com essa afirmação, autores relatam que estudos de táxons da espécie baseiam-se nas características de suas estruturas vegetativas que apresentam alto nível de complexidade, em função da subdivisão taxonômica em subgêneros e das particularidades (FREITAS et al., 2011; CUTRI et al., 2013; FARIAS et al., 2016). Além disso, as características morfológicas do gênero podem ser alteradas em função da condição em que a planta é submetida (FREITAS et al., 2012). Dessa forma, o grande número de espécies pode estar associado à ligação entre a plasticidade morfológica e sua diversidade (RAMAIYA et al., 2014).

A utilização de sementes é uma prática comum na produção de mudas das espécies comerciais do gênero *Passiflora*. Isto confere alta variabilidade genética exigida na produção de frutos, a qual está diretamente relacionada à autoincompatibilidade do maracujazeiro, podendo expressar em diferentes características morfológicas (ALEXANDRE et al., 2009; FREITAS et al., 2015). Estudos demonstram que o estágio de maturação das sementes e a fenologia dos frutos são características que estão associadas à maior germinação e qualidade das mudas, como foram observados em mamoeiro (ZANOTTI et al., 2014), sabiá (NOGUEIRA et al., 2013), e maracujazeiro amarelo (BATTISTUS et al., 2014).

A caracterização morfológica das sementes, das plântulas, dos caules, das folhas, das flores e dos frutos das espécies do gênero em seus estádios de maturação subsidiar outros estudos sobre a espécie, que envolvam conhecimento sobre germinação, crescimento, anormalidades em sementes e plantas, ecológicos, mutações e melhoramento genético (FREITAS et al., 2012; SOARES et al., 2012; CARVALHO et al., 2015; MACHADO et al., 2015), podendo auxiliar no entendimento e caracterização da germinação, do vigor e da viabilidade de frutos e sementes (MATHEUS; LOPES, 2007). Considerando isso, objetivou-se com este estudo a caracterização morfológica de planta, frutos, sementes e plântulas de *P. alata*, conhecida popularmente como maracujazeiro doce.

2. Material e Métodos

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes no Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-E-UFES), em Alegre-ES. Foram analisadas sementes, plântulas, frutos e planta adulta de *P. alata*.

As plantas e os frutos avaliados foram provenientes de pomares do município de Alegre-ES. Foram coletados 10 frutos em seis estádios de maturação (15, 30, 45, 60, 75 e 85 dias após o período de antese). Os frutos recém-colhidos foram imediatamente transportados para o Laboratório. As sementes foram extraídas utilizando-se o método da cal hidratada, sendo em seguida transferidas para peneira com malha de aço de 1,5 mm, onde foram friccionadas e lavadas em água corrente para a remoção do arilo. Após a lavagem, as sementes permaneceram espalhadas sobre papel absorvente por um período de 34 horas, em ambiente sombreado e

temperatura de 25 °C, onde atingiram teor de água de 13%. Os ramos, as folhas, os frutos e as flores foram descritos com base nas características morfológicas. Para análise e descrição morfológica das sementes foram utilizadas 50 subamostras, mensurando-se seu comprimento, largura e diâmetro, com o auxílio de um paquímetro com precisão de 0,1 mm. O comprimento foi medido da base ao ápice; a largura e o diâmetro foram medidos na região mediana da semente, caracterizando-as segundo a terminologia de Pérez-Cortéz et al. (2002). Para a caracterização interna foram realizadas seções longitudinais e transversais na porção mediana das sementes com auxílio de um bisturi, analisando-as sob microscópio estereoscópico e descrevendo-as segundo os conceitos e terminologia de Vidal; Vidal (2000) e Souza (2003).

A descrição das características físicas das sementes consistiu da mensuração das massas fresca e seca, umidade e peso de mil sementes (BRASIL, 2009), além do comprimento, da largura e da espessura.

A descrição das características da germinação foi realizada em 30 subamostras de 20 sementes. Cada amostra representou um estágio do período germinativo compreendido entre o 1º e o 30º dias, considerando o início da germinação com a embebição das sementes, seguindo o padrão trifásico de absorção de água pela semente, de acordo com Bewley; Black (1994).

As sementes foram distribuídas sobre uma folha de papel Germitest[®], em placas de Petri umedecidas com quantidade de água destilada equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco e mantidas em câmaras de germinação tipo BOD à temperatura de 20-30 °C, por períodos referentes aos dias pós-semeadura, necessários para avaliação das plântulas normais. As sementes foram consideradas germinadas quando houve a protrusão da raiz primária, com comprimento $\geq 1,0$ mm, sem injúrias e aparentemente sadia. Foram consideradas plântulas normais aquelas que se apresentaram vigorosas e com todas as suas partes constituintes completas e foram analisadas a porcentagem de germinação e as características morfológicas da radícula, do hipocótilo, dos cotilédones e da gema apical, com o auxílio de um microscópio estereoscópico, segundo conceitos de Barroso et al. (1999), Vidal; Vidal (2000) e Souza (2003).

As características externas do fruto e das sementes foram descritas e fotografadas com o auxílio de uma câmera digital e as características do ramo, da folha e da flor foram descritas e ilustradas manualmente.

3. Resultados e Discussão

O caule é robusto, quadrangular, com um a quatro grupos de fibras em cada ala, e de cor verde (Figura 1 A). Esta característica é que diferencia o *P. alata* da espécie mais cultivada no Brasil, o *P. edulis*, em que o caule é pentagonal e há a presença de tricomas tectores unicelulares (BERALDO; KATO, 2010).

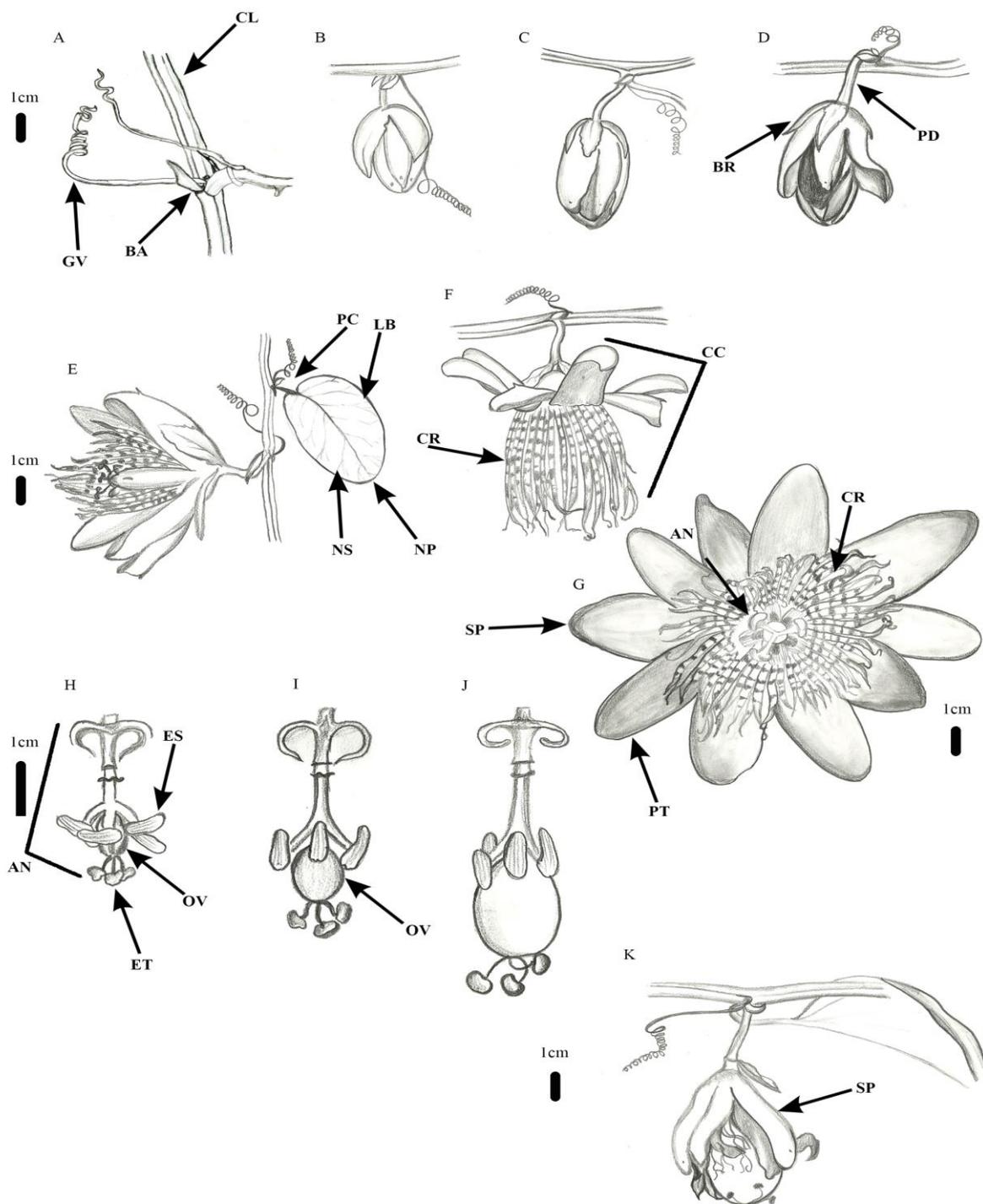


Figura 1. Morfologia do caule, da folha e da flor de *P. alata*. A) Caule; B) Botão floral I; C) Botão floral II; D) Botão floral III; E) Folha; F) Flor I; G) Flor II; H) Androgínóforo I; I) Androgínóforo II; J) Androgínóforo III; K) Fruto. Legenda: CL - Caule; BA - Bainha; BR - Bráctea; GV - Gavinha; PD - Pedúnculo; PC - Pecíolo; LB - Limbo; NP - Nervura principal; NS - Nervura secundária; CC - Cálice; CR - Corona; SP - Sépala; PT - Pétala; AN - Androgínóforo; ES - Estame; ET - Estigma; OV - Ovário. Barra: 1 cm. Imagem: Aristhotelis Tadeu Tiradentes.

Os pecíolos variam de 1-2 cm. As gavinhas axilares alcançam até 15 cm de comprimento. As folhas são ovadas ou ovado-oblongas, 5-15 x 4-9 cm, acuminadas no ápice e subcuneadas na base, margem inteira, com nervuras principais e secundárias bem definidas, reticuladas, e de cor verde (Figura 1 E). Estes resultados demonstram a diversidade morfológica das folhas de *Passiflora*, sendo verificadas em outras espécies características divergentes como folhas simples ou com cinco lóbulos, base cortada, margem serrilhada, folhas com três nervações (BERALDO; KATO, 2010; CARVALHO et al., 2015; FARIAS et al., 2016).

Os pedicelos variam de 1,5-3,0 cm. As brácteas são em número de três, verticiladas, situadas na base da flor, ovadas ou oblongo-ovadas, 2-3 x 1-2 cm, margem inteira, ápice agudo; coloração verde e membranáceas (Figura 1 D e E). As flores se formam a partir de botões florais com 2-3 cm e que se desenvolvem até atingirem entre 9-12 cm de diâmetro (Figura 1 B; C; D; e E), antes da antese. O tubo do cálice é campanulado; as sépalas variam de 3-4 x 2-2,5 cm, são oblongas e obtusas no ápice, a coloração é verde na face abaxial e carmim na adaxial. As pétalas variam de 3-4,5 x 1,5-2 cm, são oblongas, obtusas no ápice, alvas na face abaxial e carmim na face adaxial. A corona apresenta filamento em quatro séries; as duas séries exteriores são filamentosas e variam de 3-5 cm; os filamentos são subulados, bandeados de cores branca e roxa (Figura 1 F e G). O androginóforo é ereto, e possui de 1,5-2 cm; na porção mediana, aproximadamente, possui uma dilatação semelhante a dois anéis; cinco estames e três estigmas são unidos por suas bases e formando uma membrana aderente ao androginóforo junto à inserção do ovário. Os filetes dos estames são dorsifixos e as anteras são biloculares. O ovário é oblongo e gabro (Figura G; H; I; e J).

O fruto é uma baga sucosa, indeiscente, ovoide, fusiforme, de coloração verde até os 60 dias a partir da antese e de coloração amarela após esse período, a partir do qual apresenta média de 250 sementes (Figuras 1 K e 2 A-F). A partir de 60 dias após a antese, o fruto apresenta de 7-10 x 4-6- cm. O mesocarpo diminui à medida que o fruto se desenvolve, havendo retenção de água no fruto e a formação da mucilagem que reveste a semente (Figura 2 G-L). O peso dos frutos varia entre 65 e 94 gramas.

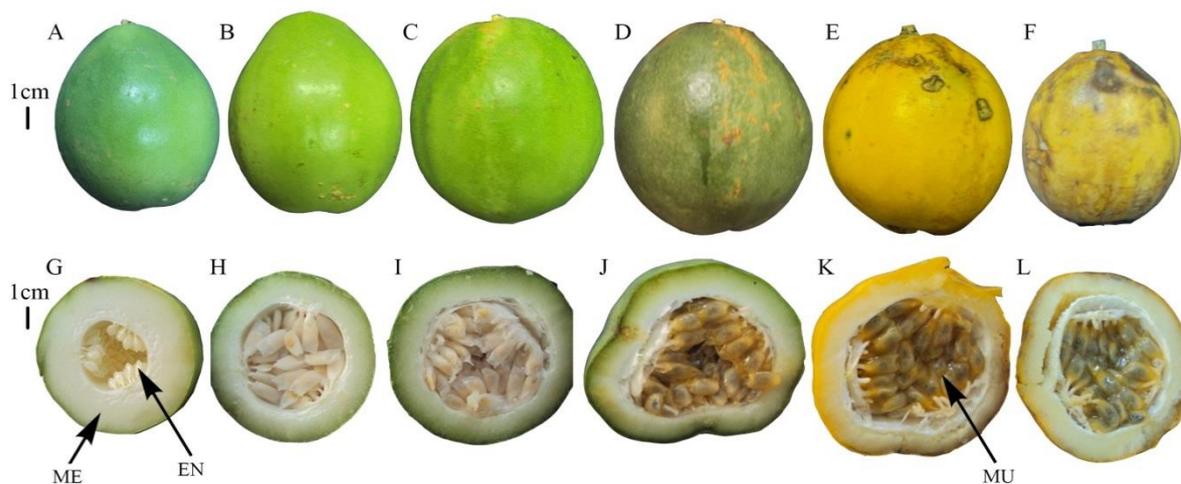


Figura 2. Morfologia dos frutos fechados e abertos de *P. alata* em estádios de maturação. 15 (A e G); 30 (B e H); 45 (C e I); 60 (D e J); 75 (E e K); e 85 dias (F e L). Legenda: ME - Mesocarpo; EN - Endocarpo; MU - Mucilagem.

As sementes são elípticas e comprimidas lateralmente, albuminosas, monocromáticas e de coloração castanho-escura; as dimensões são de aproximadamente 6,3 mm de comprimento, 4,2 mm de largura e 1,6 mm de diâmetro (Figura 3 A). O peso apresentado foi de 23,4 mg para massa fresca; 18,5 mg para massa seca, com teor de umidade de 20,94% e peso de mil sementes igual a 26,97 g. A testa é rígida e o tegumento apresenta pequenas depressões; o ápice é tridentado, sendo a projeção mediana geralmente mais conspícua em relação às demais; a base, onde se situa a micrópila, é inconspícua e aguda, sendo que a margem é estriada; e a superfície externa levemente lustrosa.

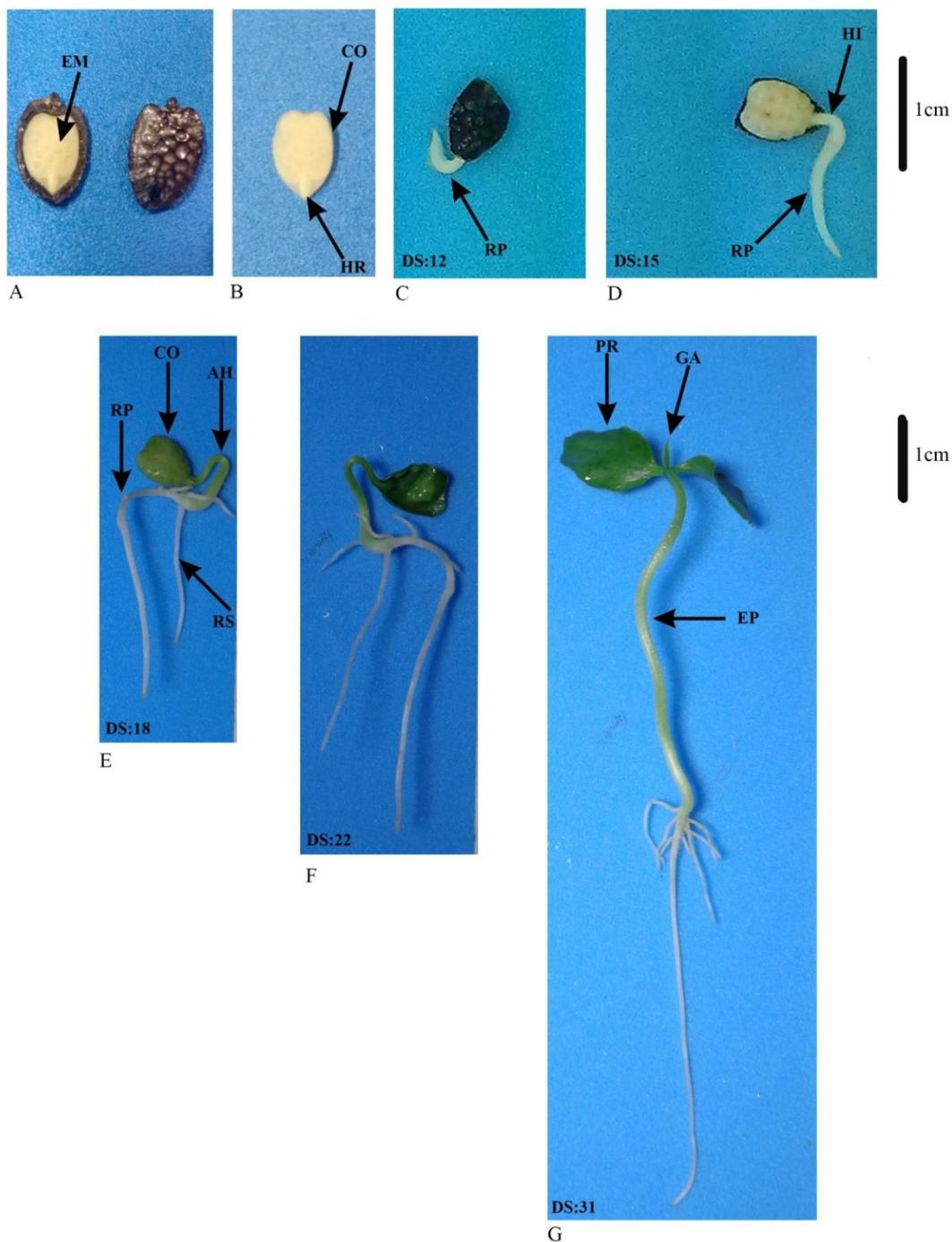


Figura 3. Morfologia de sementes e de plântulas de *P. alata*. A) Sementes e endosperma; B) Cotilédone foliáceo; C) Raiz primária; D) Eixo hipocótilo radicular; E) Hipocótilo verde e curvo, raízes principais e secundárias; F) Início da perda da curvatura do hipocótilo; G) Cotilédones expandidos e epicótilo desenvolvido. Legenda: DS: Dias após a sementeira; EM - Embrião; CO - Cotilédone; HR - Hipocótilo radicular; RP - Raiz primária; HI - Hipocótilo; RS - Raiz secundária; CO - Cotilédones; AH - Alça do hipocótilo; PR - Protófilo; GA - Gema apical; EP - Epicótilo.

O embrião cotiledonar é axial e possui eixo hipocótilo radicular de 1,5 mm de comprimento, alvo e lustroso, com a radícula direcionada para a base da semente; os cotilédones foliáceos, alvo-esverdeados quando hidratados, são opostos e ocupam cerca 1/3 da semente (Figura 3 B). O endosperma periférico envolve completamente o embrião e apresenta coloração alva com ornamentação reticulada por impressão da face interna do tegumento da semente.

As sementes apresentam germinação epígea e fanerocotiledonar, com percentual de germinação de aproximadamente 22% de plântulas normais. A germinação tem início no 12º dia e se estende até o 27º dia após a semeadura. No 12º dia após a semeadura, a raiz primária se projeta como uma pequena estrutura filiforme com aproximadamente 2,5 mm de comprimento, de coloração alvo-esverdeada (Figura 3 C). O eixo hipocótilo radicular, também de coloração alva, surge no 15º dia (Figura 3 D), fase na qual os cotilédones se desprendem do tegumento e a raiz primária apresenta cerca de 11 mm. A raiz principal é distinta do hipocótilo verde, curvo e alargado no 18º dia (Figura 3 E). O início da perda da curvatura do hipocótilo ocorre a partir do 22º dia, sendo verificadas raízes secundárias, que surgem do hipocótilo e da raiz principal (Figura 3 F). A partir deste período os cotilédones, o eixo hipocótilo radicular, o epicótilo, as raízes secundárias, o hipocótilo e o protófilo apresentam-se mais desenvolvidos. Os cotilédones foliáceos possuem formato oblongo, base arredondada, ápice obtuso, margem inteira, cerca de 1,0 cm de comprimento e 0,75 cm largura. Há uma nervura principal na base da folha onde surgem as nervuras secundárias menores. A plântula formada apresenta protófilo simples, peciolado, estipulado, com formato ovado, base arredondada, margem inteira e superfície lustrosa, com dimensões no 31º dia após a semeadura de 6,5-9 x 1,5-2,5 cm para as plântulas inteiras; e 3,5-4,5 cm de comprimento para raízes principais e um cm para raízes secundárias (Figura 3 G).

O início da germinação se dá com a absorção de água pela semente e termina com o alongamento do eixo embrionário, havendo a protrusão do embrião através do tegumento sendo o ponto crucial que identifica esse processo (BEWLEY; BLACK, 1994).

A Figura 4 apresenta as fases de embebição das sementes de *P. alata* de acordo com o padrão trifásico de absorção de água proposto por Bewley; Black (1994).

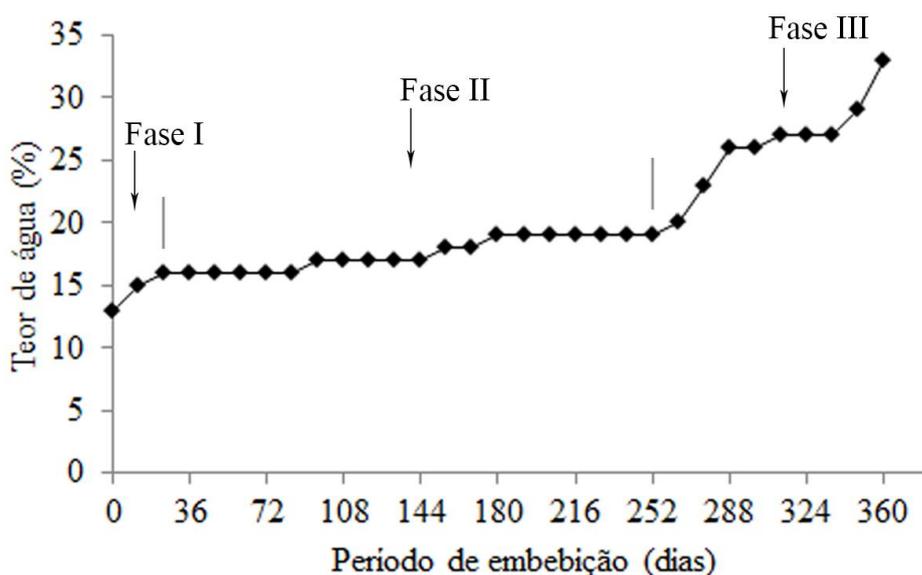


Figura 4. Curva de embebição de sementes de *P. alata*.

Antes do início do processo de embebição, as sementes de *P. alata* apresentavam teor de água de 13%, chegando a 16% após 24 horas (Figura 4). Verificou-se que entre o período de 24 a 264 horas a variação do teor de água foi de 4%, chegando ao valor máximo de 20%. Houve rápida absorção de água, seguida de estabilização, quando a velocidade foi caracterizada como a fase I, até 24 horas, do processo de embebição, e fase II, entre 24 e 252 horas, caracterizada pela estabilidade na absorção de água e intensa atividade respiratória (Figura 4). Verificou-se que as sementes apresentam permeabilidade a água e absorção em um curto período, discordando de Morley-Bunker (1980), que afirma que as sementes de espécies Passifloraceae apresentam impermeabilidade do tegumento, ocasionando dormência. A redução na absorção de água coincide com a mobilização das substâncias de reserva desdobradas da região de reserva, na fase I, para os tecidos meristemáticos. Após 264 horas há aumento na velocidade de embebição das sementes, iniciando a fase III, caracterizada como fase de absorção ativa de água pelas sementes, havendo comportamento biológico esperado com três fases bem definidas, nas quais foram observados aumento da umidade (I), estabilidade de absorção (II) e posterior aumento na velocidade de absorção e protrusão da raiz primária a partir de 288 horas (BEWLEY; BLACK, 1994). Discordando desses resultados pesquisadores caracterizaram em um menor período o processo de

embebição das sementes de *P. alata*, onde a fase I foi caracterizada com aumento do teor de água de 9,3% para 10,02% em 13 horas, a fase II com teor de água de 10,02% para 10,4% em 200 horas e, fase III com aumento na absorção da água a partir de 200 horas (FERRARI et al., 2008).

4. Conclusões

O estudo pode auxiliar na identificação e no comportamento da *P.alata* em todas as fases de seu desenvolvimento e crescimento, principalmente porque a espécie apresenta particularidades como o caule robusto e quadrangular; folhas ovadas; flores de cor verde na face abaxial e carmim na adaxial; fruto ovoide; sementes com ápice tridentado; germinação de 22% entre o 12º dia e o 27º dia após a semeadura; e modelo trifásico de embebição caracterizado como fase I, até 24 horas, fase II de 24 a 252 horas, e fase III a partir de 264 horas.

5. Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional e Desenvolvimento Científico (CNPq) pela bolsa de produtividade em pesquisa.

6. Referências

ALEXANDRE, R. S.; BRUCKNER, C. H.; LOPES, J. C. 2009. Seleção de matrizes e comportamento do maracujazeiro quanto aos métodos de propagação. In: ALEXANDRE, R. S.; BRUCKNER, C. H.; LOPES, J. C. **Propagação do maracujazeiro: aspectos morfológicos, fisiológicos e genéticos**. Edufes, Alegre. p. 15-24.

ATAÍDE, E. M.; OLIVEIRA, J. C.; RUGGIERO, C. Florescimento e frutificação do maracujazeiro silvestre *Passiflora setacea* D. C. cultivado em Jaboticabal, SP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 2, p. 377-381, 2012.

BFG (The Brazil Flora Group). Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v. 66, n. 4, p. 1085-1113, 2015.

BARROSO, G. M.; MORIM, M. P.; PEIXOTO, A. L.; ICHASO, C. L. F. **Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. UFV: Viçosa. 1999. 443p.

BATTISTUS, A. G.; FUCHS, F.; SOUZA, R. F. B.; MALAVASI, M. M.; DRANSKI, J. A. L.; RAMPIM, L.; BULEGON, L. G.; GUIMARÃES, V. F.; MORANZA, T. M.; MULLER, M. A.; LIMA, P. R. Physiological maturity of seeds and colorimetry of yellow passion fruit (*Passiflora edulis f. flavicarpa* Degener). **African Journal of Agricultural Research**, v. 9, n. 40, p. 3018-3024, 2014.

BERALDO, J.; KATO, E. T. M. Morfoanatomia de folhas e caules de *Passiflora edulis* Sims, Passifloraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 2, p. 233-239, 2010.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. Plenum Press, New York, 1994. 445p.

CARVALHO, M. A. F.; PAIVA, R.; HERRERA, R. C.; ALVES, E.; CASTRO, E. M.; PAIVA, P. D. O.; VARGAS, D. P. Indução, análises morfológicas e ultraestruturais de calos de maracujazeiro nativo. **Revista Ceres**, v. 62, n. 4, p. 340-346, 2015.

CARVALHO, M. A. F.; PAIVA, R.; HERRERA, R. C.; ALVES, E.; CASTRO, E. M.; PAIVA, P. D. O.; VARGAS, D. P. **Revista Ceres**, v. 62, n. 4, p. 340-346, 2015.

CERVI, A. C. gênero *Passiflora* L. (Passifloraceae) no Brasil, espécies descritas após o ano de 1950. **Adumbrationes ad Summae Editionem**, v. 16, n. 1, p. 1-5, 2006.

CUTRI, L.; NAVE, N.; AMI, M. B.; CHAYUT, N.; SAMACH, A.; DORNELAS, M. C. Evolutionary, genetic, environmental and hormonal-induced plasticity in the fate of organs arising from axillary meristems in *Passiflora* spp. **Mechanisms of development**, v. 130, n. 3, p. 61-69, 2013.

FARIAS, V.; MARANHO, L. T.; MUSHNER, V. C.; SOFFIATTI, P. Anatomia foliar de *Passiflora* subgênero *Decaloba* (Passifloraceae): implicações taxonômicas. **Rodriguésia**, v. 67, n. 1, p. 29-43, 2016.

FERRARI, T. B.; FERREIRA, G.; MISCHAN, M. M.; PINHO, S. Z. Germinação de sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis): fases e efeito de reguladores vegetais. **Revista Biotemas**, v. 21, n. 3, p. 65-74, 2008.

FEUILLET, C. Passifloraceae (Passion Flower Family). In: SMITH, N.; MORI, S. A.; HENDERSON, A.; STEVENSON, D. W.; HEALD, S. V. (Eds.) **Flowering plants of the Neotropics**. Princeton - Oxford: Princeton University Press & New York Botanical Garden. 2004. 594p.

FREITAS, A. R.; LOPES, J. C.; ALEXANDRE, R. S.; VENANCIO, L. P.; ZANOTTI, R. F. Emergência e crescimento de mudas de maracujá doce em função de lodo de esgoto e luz. **Comunicata Scientiae**, v. 6, n. 2, p. 234-240, 2015.

FREITAS, J. C. O.; ALMEIDA, A-A. F.; LAGO, M. F.; SOUZA, M. M.; SOUZA JÚNIOR, J. O. Características morfofisiológicas de plantas clonais de *Passiflora alata* crescidas em diferentes doses de nitrogênio e níveis de sombreamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 3, p. 859-872, 2012.

FREITAS, L. B. História evolutiva das espécies de *Passiflora* L. de ocorrência no Rio Grande do Sul: aspectos genéticos, estrutura populacional e filogenia. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 9, n.1, p. 41-47, 2011.

MACHADO, C. F.; JESUS, F. N.; LEDO, C. A. S. Divergência genética de acessos de maracujá utilizando descritores quantitativos e qualitativos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 2, p. 1129-1334, 2015.

MATHEUS, M. T.; LOPES, J. C. Morfologia de frutos, sementes e plântulas e germinação de sementes de *Erythrina variegata* L. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 3, p. 8-15, 2007.

MORLEY-BUNKER, M. J. S. Seed coat dormancy in *Passiflora* species. **Annual Journal**, v. 8, n.1, p. 72-84, 1980.

NICOLINI, J. T.; BIDO, G. S.; ZONETTI, P. C. Efeito do extrato aquoso de *Passiflora edulis* Sims sobre a germinação e crescimento inicial de alface. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v. 5, n. 1, p. 191-203, 2012.

NOGUEIRA, N. W.; RIBEIRO, M. C. C.; FREITAS, R. M. O.; MARTINS, H. V. G.; LEAL, C. C. P. Maturação fisiológica e dormência em sementes de sabiá (*Mimosa caesalpiniiifolia* Benth.). **Bioscience Journal**, v. 29, n. 4, p. 876-883, 2013.

OCAMPO, J. P.; COPPENS D'EECKENBRUGGE, G.; RESTREPO, M.; JARVIS, A.; SALAZAR, M.; CAETANO, C. Diversity of colombian Passifloraceae: biogeography and an updated list for conservation. **Biota Colombiana**, v. 8, n. 1, p. 1-45, 2007.

PACHECO, G. R.; LUGATO, D.; VIANNA, M.; MANSUR, E. Plant regeneration, callus induction and establishment of cell suspension cultures of *Passiflora alata* Curtis. **Scientia Horticulturae**, v. 144, n. 1, p. 42-47, 2012.

RAMAIYA, S. D.; BUJANG, J. S.; ZAKARIA, M. H. Assessment of total phenolic, antioxidant, and antibacterial activities of *Passiflora* species. **The Scientific World Journal**, v. 2014, art. 167309, p. 1-10, 2014.

SANCHEZ, G.; RESTREPO, S.; DUQUE, M. C.; FREGENE, M.; BONIERBALE, M.; VERDIER, V. AFLP assessment of genetic variability in cassava accessions (*Manihot esculenta*) resistant and susceptible to the cassava bacterial blight (CBB). **Genome, Ottawa**, v. 42, n. 2, p.163-172, 1999.

SÁNCHEZ, I.; ANGEL, F.; GRUM, M.; DUQUE, M. C.; LOBO, M.; TOHME, J.; ROCA, W. Variability of chloroplast DNA in the genus *Passiflora* L. **Euphytica**, v. 106, n. 1, p. 15-26, 1999.

SOARES, W. S.; RÊGO, M. M.; RÊGO, E. R.; BARROSO, P. A.; NASCIMENTO, K. S.; FERREIRA, K. T. Estabelecimento in vitro e micropropagação de maracujá silvestre (*Passiflora foetida* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n.1, p. 138-142, 2012.

SOUZA, L. A. **Morfologia e anatomia vegetal**: célula, tecidos, órgãos e plântula. Uepg: Ponta Grossa, 2003. 259p.

SOUZA, M. A. D.; HOPKINS, M. J. G. *Passiflora fissurosa*, uma nova espécie de Passifloraceae para o Amazonas, Brasil. **Acta Amazônica**, v. 41, n. 4, p. 449-452, 2011.

TOKUOKA, T. Molecular phylogenetic analysis of Passifloraceae sensu lato (Malpighiales) based on plastid and nuclear DNA sequences. **The Botanical Society of Japan and Springer**, v. 125, n.1, p. 487-497, 2012.

ULMER, T.; MACDOUGAL, J. M. **Passiflora**: Passion flowers of the World. 1. ed., Timber Press, Portland 2004, 432p.

VIDAL, W. N.; VIDAL, M. R. R. **Botânica**: organografia. 4.ed. UFV: Viçosa. 2000. 114p.

ZANOTTI, R. F.; DIAS, D. C. F. S.; BARROS, R. S.; SILVA, L. J.; SEKITA, M. C. Germination of "Solo" papaya seeds treated with plant hormones. **Journal of Seed Science**, v. 36, n. 1, p. 94-99, 2014.

CAPÍTULO II

Propagação sexuada e assexuada de *Passiflora alata* Curtis

Propagação sexuada e assexuada de *Passiflora alata* Curtis

RESUMO

O maracujazeiro doce é uma passifloraceae, cujos frutos são consumidos, preferencialmente, *in natura*, no entanto, apresentam grande potencial para a indústria. Seu método de propagação mais recomendado é o seminífero, mas suas sementes apresentam baixa porcentagem de germinação. Objetivou-se estudar os métodos de propagação sexuada e assexuada em *Passiflora alata* Curtis, pela análise da qualidade fisiológica das sementes nos diferentes estádios de maturação e o enraizamento das estacas tratadas com diferentes concentrações de ácido indol-3-butírico (AIB) e o ácido bórico (H_3BO_3). Os frutos foram identificados e coletados após 15; 30; 45; 60; 75; e 85 dias da antese, as sementes extraídas manualmente, beneficiadas, escarificadas, tratadas com GA_3 500 mg L^{-1} , e mantidas em câmara de germinação, sob temperatura de 20-30 °C, fotoperíodo de 8 horas, por 60 dias. No enraizamento foram utilizadas estacas com 15 cm de comprimento e quatro mm de diâmetro tratadas por imersão de suas bases em concentrações de 0; 500; 1000; 1500; e 2000 mg L^{-1} de AIB e 0; 100; 200; 400; e 800 mg L^{-1} de H_3BO_3 . O estágio de maturação do fruto interfere na qualidade fisiológica das sementes de *P. alata*. A maior capacidade rizogênica das estacas é encontrada naquelas tratadas com 1500 mg L^{-1} de AIB e 400 mg L^{-1} de H_3BO_3 .

Palavras-chave: enraizamento; estágio de maturação; geminação; maracujazeiro doce.

1. Introdução

As Passifloraceae compreendem um grupo de plantas trepadeiras bastante comuns em florestas tropicais, sendo importantes no que se refere às relações com as plantas que as sustentam quanto ao fornecimento de recursos à fauna. Além disso, têm elevada produção de frutos e boa aceitação para consumo de seus frutos *in natura*.

As pesquisas com maracujazeiros estão amplamente dirigidas às espécies comumente cultivadas, principalmente, a *Passiflora edulis* Sims *f. flavicarpa* Deg., (maracujazeiro amarelo). No entanto, existem várias espécies silvestres com potencial agrônômico, como a *P. alata* (maracujazeiro doce). Nos últimos anos a espécie tem sido expandida em seu cultivo em virtude da aceitação no mercado consumidor e dos elevados preços de venda.

A utilização de sementes é uma prática comum na produção de mudas das espécies comerciais do gênero *Passiflora*, o que confere alta variabilidade genética exigida na produção de frutos, já que apresentam como característica a autoincompatibilidade. Todavia, há frequentes relatos de desuniformidade e baixa germinação das sementes de algumas espécies como o maracujazeiro doce (OSIPI et al., 2011; FREITAS et al., 2015). A imaturidade do embrião, a presença de hormônios inibidores e a maturação do tegumento durante o desenvolvimento da semente são fatores associados à baixa germinação ou estado de dormência (BEWLEY; BLACK, 1994; LOPES et al., 2005).

O estágio de maturação das sementes e a fenologia dos frutos estão associados à maior germinação e qualidade da mudas como observados em jaboticabeira (ALEXANDRE et al., 2006), sabiá (NOGUEIRA et al., 2013), maracujazeiro amarelo (BATTISTUS et al., 2014), mamoeiro (ZANOTTI et al., 2014) e pimenteira (GONÇALVES et al., 2015).

Diante das dificuldades encontradas com a utilização da propagação sexuada, a estaquia apresenta-se como método alternativo para algumas espécies de *Passifloras* (ALBUQUERQUE JUNIOR et al., 2013; GURUNG et al., 2015). Entretanto, faz-se necessário otimizar a qualidade e a quantidade de estacas a serem levadas a campo, para cada espécie estudada. A qualidade, ao evitar a transmissão de doenças por partes vegetativas, a exemplo da antracnose, verrugose, bacteriose e viroses e a quantidade, tomando cuidado para que sejam

produzidas mudas de diversas matrizes comerciais selecionadas e, não de uma única matriz, em função de serem alógamas por excelência. Isso demonstra a viabilidade do emprego da estaquia na obtenção de mudas uniformes em que cada espécie apresenta condições específicas para o enraizamento, variabilidade de reservas armazenadas nos tecidos e sensibilidade desses tecidos em responder a estímulos exógenos (SOUSA et al., 2013; YANG et al., 2014).

Objetivou-se estudar os métodos de propagação sexuada e assexuada em *P. alata*, pela análise da qualidade fisiológica das sementes nos diferentes estádios de maturação e o enraizamento das estacas tratadas com diferentes concentrações de ácido indol-3-butírico (AIB) e ácido bórico (H_3BO_3).

2. Material e Métodos

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Tecnologia e Análise de Sementes e em câmara de nebulização do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE-UFES), em Alegre-ES. As plantas de *P. alata* utilizadas como matrizes para a coleta de frutos e estacas foram provenientes de um pomar, em primeiro ano de produção, localizado na Ponte da Braúna, distrito de Rive, município de Alegre - ES, 20° 45'S e 41° 29'W e altitude de 138 m.

No método sexuada após a antese os frutos foram identificados e coletados após 15; 30; 45; 60; 75; e 85 dias. As sementes foram extraídas manualmente, beneficiadas por friccionadas em peneiras de arame com cal virgem para auxiliar a extração do arilo e secas à sombra sobre papel de filtro. Antes da semeadura, as sementes foram escarificadas com auxílio de uma lixa número 100, imersas em solução de hipoclorito de sódio a 50% por dois minutos e em álcool 70% por dois minutos e imersas em solução de ácido giberélico (GA_3), 500 mg L⁻¹, durante 24 horas. A semeadura foi realizada em rolos de papel tipo Germitest[®], com três folhas, que foram umedecidos com volume de água destilada, na quantidade equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco. Os rolos foram mantidos em câmara de germinação do tipo BOD, climatizadas a 20-30 °C, e fotoperíodo de 8 horas, por 60 dias.

As variáveis analisadas foram germinação (%); índice de velocidade de germinação, calculado conforme Maguire (1962): $IVG = G1/D1 + \dots + Gn/Dn$, em que:

IVG = índice de velocidade de germinação; G1= número de sementes germinadas no primeiro dia após a semeadura... Gn = número de sementes germinadas 'n' dias após a semeadura; D1 = um dia após a semeadura... Dn = 'n' dias após a semeadura; massa fresca e massa seca das plântulas, em que as plântulas de cada parcela foram embaladas separadamente em sacos de papel tipo kraft e mantidas em estufa com circulação forçada de ar a 70 °C até a obtenção de massa constante. A massa seca foi mensurada em balança analítica (0,0001 g), e os resultados expressos em mg plântula⁻¹) e o teste de tetrazólio, em que as sementes de *P. alata* que não germinaram foram cortadas transversalmente e imersas em solução de 2-3-5 triphenyl-tetrazolium a 1%, no escuro, por 24 h., e foram analisadas com auxílio de Lupa. No teste de tetrazólio (DELOUCHE et al, 1976), os embriões foram classificados de acordo com sua coloração (Branca - parte do eixo embrionário ou região de translocação de reservas descoloridas ou embrião completamente descolorido, caracterizando tecido morto; Rosa - tecidos com aspecto normal e firme, viáveis e vigorosos; Vermelha intensa - apresentando tecidos flácidos, caracterizados como tecidos mortos).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com seis estádios de maturação dos frutos (15; 30; 45; 60; 75; e 85 dias após a antese) e, quatro repetições de 25 sementes.

No método assexuado, as estacas com 15 cm de comprimento e quatro mm de diâmetro foram confeccionadas a partir das matrizes que produziram os frutos. As estacas foram mantidas com dois nós, e duas folhas com seus limbos reduzidos à metade de seu comprimento, e suas bases foram cortadas em bisel simples. Foi feita assepsia das estacas sendo imersas em solução de hipoclorito de sódio (50%) durante um minuto.

Posteriormente, as estacas foram submetidas em dois diferentes tratamentos por imersão de suas bases, sendo o primeiro em concentrações de 0; 500; 1000; 1500; e 2000 mg L⁻¹ de AIB (ácido indolbutírico), diluído em solução alcoólica a 50% e o segundo em concentrações de 0; 100; 200; 400; e 800 mg L⁻¹ de H₃BO₃ (ácido bórico) diluído em água destilada. As estacas foram plantadas em substrato plantmax[®], disposto em bandejas de polietileno preto, com 32 células cada. Mantidas em câmara de nebulização intermitente sob tela de poliolefina com 50% de luminosidade e regime de irrigação ativado a cada cinco minutos por 10 segundos.

O tempo de permanência na câmara de nebulização foi de 60 dias, sendo avaliados: estacas vivas (%), estacas enraizadas (%), número de raízes por estaca, comprimento da maior raiz (cm estaca^{-1}), volume de raízes ($\text{cm}^3 \text{estaca}^{-1}$) e massa seca de raízes (mg estaca^{-1}), número de brotos e de folhas velhas por estaca.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com dois tratamentos em cinco concentrações de AIB e em cinco concentrações de H_3BO_3 , com quatro repetições, de 16 estacas cada. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade e à análise de variância, sendo analisado através do uso de regressão, para estacas, e uso do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, para sementes, por meio do software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2013).

3. Resultados e Discussão

Verificou-se uma gradual alteração na coloração dos frutos durante a fase de maturação, após a antese (Figura 1), apresentando coloração verde-clara após 15 dias, tornando-se mais escuros até os 60 dias após a antese, e amarelecendo com maior intensidade após 85 dias. A coloração é uma variável de grande importância a ser usada como critério na seleção de frutos e sementes a serem colhidos com maior qualidade.



Figura 1. Tamanho dos frutos de *P. alata* colhidos em estádios de maturação de 15, 30, 45, 60, 75 e 85 dias após a antese.

Os estádios de maturação dos frutos interferem na germinação e velocidade de germinação das sementes (Figura 2A e 2B). Houve germinação apenas nos estádios de 60 e 75 dias após a antese, sendo as maiores médias verificadas após 75 dias, com 33% para a germinação e 0,26 para o índice de velocidade. Não foram observadas diferenças entre os estádios de maturação dos frutos quanto às massas fresca e seca das plântulas (Figura 2C e 2D).

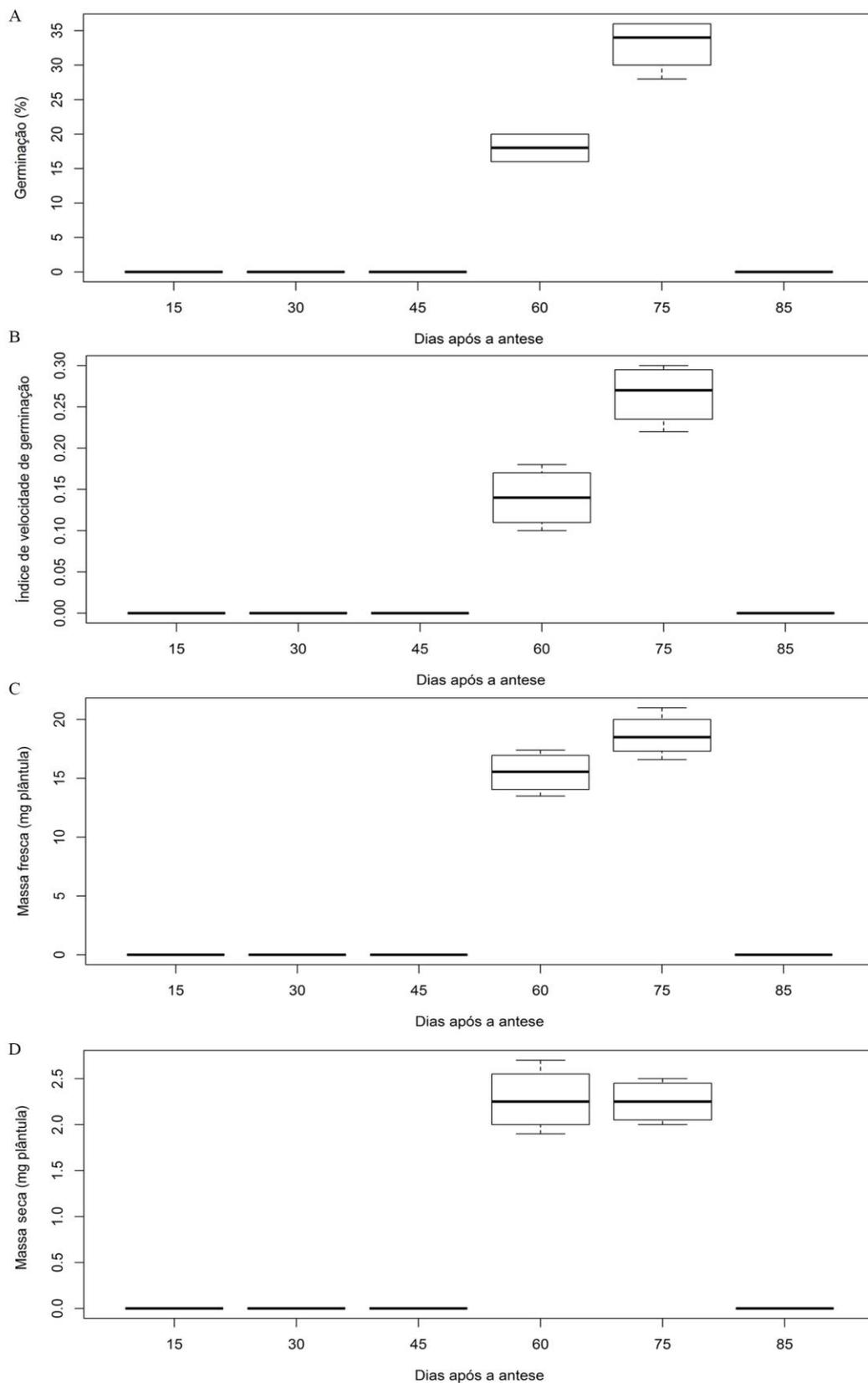


Figura 2. Box-Plot da porcentagem de germinação (A), índice de velocidade de germinação (B), massa fresca (C) e massa seca (D) de plântulas oriundas de sementes de *P. alata* em diferentes estádios de maturação dos frutos.

O baixo desempenho fisiológico observado nas sementes obtidas a partir de frutos colhidos nos estádios de 15, 30 e 45 dias de maturação pode estar relacionado ao incompleto desenvolvimento do embrião, em que as sementes não atingiram o ponto de maturidade fisiológica, enquanto no estádio de maturação com 85 dias após a antese ocorre o acúmulo de substâncias bioquímicas naturais que atuam como inibidores de germinação (BEWLEY; BLACK, 1994; TAIZ; ZEIGER, 2013). Fato que está vinculado aos valores de germinação e velocidade de germinação, que foram baixos mesmo nos estádios com 60 e 75 dias após a antese (Figura 2A e B).

Sementes de mamão e melão apresentaram baixa germinação e vigor em virtude das sementes ainda estarem em fase inicial de formação do embrião e apresentarem uma quantidade de tecidos de reserva insuficiente para o desenvolvimento do processo germinativo (MELO; SELEGUINI, 2013; DONATO et al., 2015). A maturação fisiológica favorável à germinação é indicada quando o conteúdo de massa seca, a integridade das membranas e o acúmulo de reservas tornam-se estáveis e completos (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

A baixa germinação das sementes do maracujazeiro doce pode estar associada a inibidores. Pelo teste de tetrazólio, constatou-se que as sementes nos estádios de 15 e 30 dias apresentaram 100% de coloração branca e após 85 dias, 87% de coloração vermelha intensa, ambas consideradas sementes com tecidos mortos (Figura 3A e B). No entanto, nos estádios de maturação de 45, 60 e 75 dias, foi observado, respectivamente, 68, 78 e 81% com coloração rosa, em que os tecidos apresentaram aspecto normal e firme, sendo considerados adequados para germinação (DIAS et al., 2015).

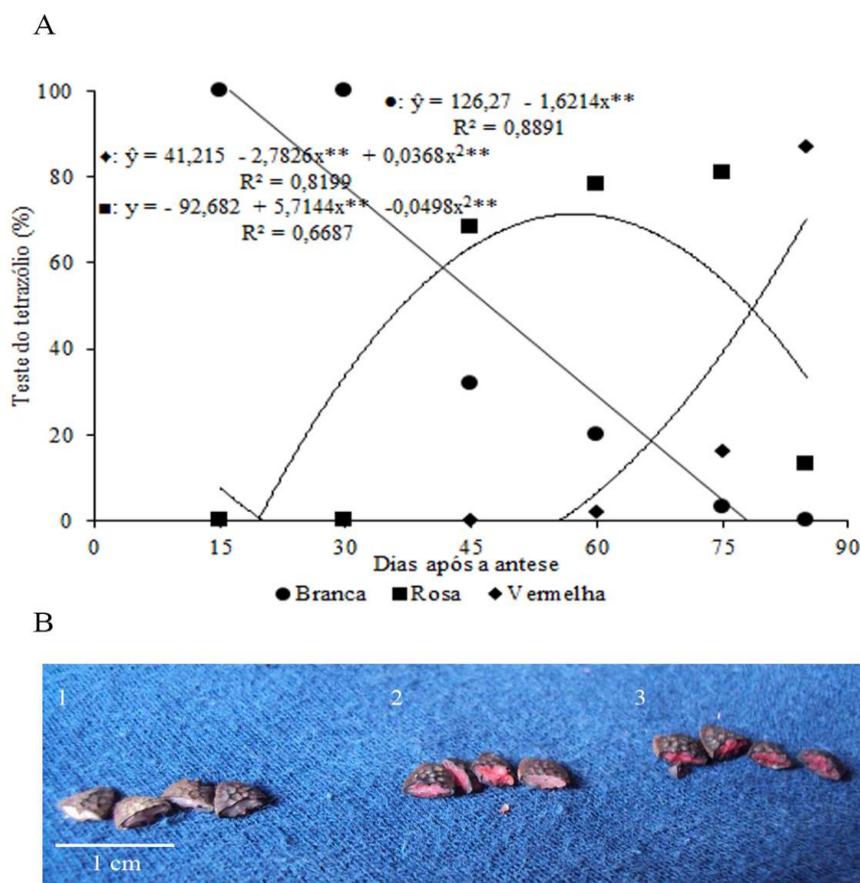


Figura 3. Teste do tetrazólio (%) em sementes de *P. alata* em diferentes estágios de maturação do fruto. Legenda: 1- Branca: parte do eixo embrionário ou região de translocação de reservas descoloridas ou embrião completamente descolorido, caracterizando tecido morto; 2 – Rosa: tecidos com aspecto normal e firme, viáveis e vigorosos; 3 - Vermelha intensa: apresentando tecidos flácidos, caracterizando tecido morto. *, ** Significância em nível de 5% e 1 %, respectivamente.

Compostos fenólicos podem atuar como ativadores ou inibidores do sistema enzimático, afetando negativamente a germinação de sementes, como verificados em soja (COLPAS et al., 2003) e mamão (DIAS et al., 2015). À medida que as sementes se aproximam da maturidade fisiológica, há redução progressiva da atividade do ácido giberélico (GA_3) e de elevação dos níveis de ácido abscísico (ABA), responsável pela manifestação da dormência, caso as condições de ambiente permaneçam favoráveis à síntese desse inibidor (TAIZ; ZEIGER, 2013).

No enraizamento das estacas tratadas com AIB e H_3BO_3 , todas as variáveis estudadas apresentaram comportamento quadrático. Nas concentrações de 1000 e

1500 mg L⁻¹ de AIB, o enraizamento foi de 92 e 94% e, na sua ausência, 63%. Sob o uso de H₃BO₃, a maior média (84%) foi observada na concentração de 400 mg L⁻¹, e a menor (45%) na concentração de 800 mg L⁻¹ (Figura 4 A). Fatores exógenos e endógenos regulam a formação de raízes adventícias, tais como Ca²⁺, açúcares, auxinas, poliaminas, co-polímero de etileno, óxido nítrico, peróxido de hidrogênio, monóxido de carbono, cGMP, MAPKs e peroxidases (LI et al., 2009).

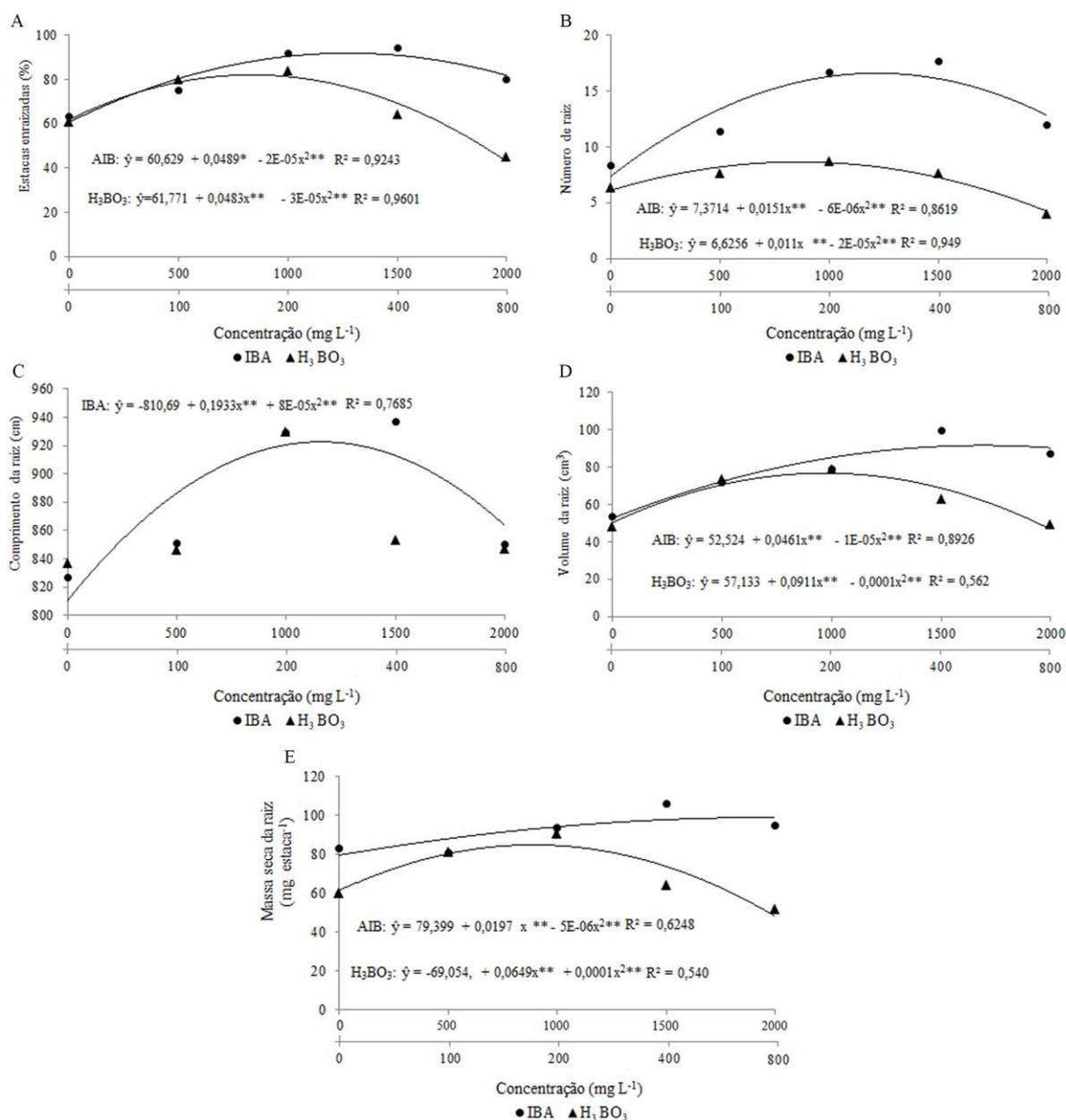


Figura 4. Porcentagem de estacas enraizadas (A), número de raiz (B), comprimento da maior raiz (C); volume da raiz (D) e massa seca de raiz (E) de estacas *P. alata*, em função das concentrações de ácido indol-3-butírico (AIB) e ácido bórico (H₃BO₃). *, ** Significância em nível de 5% e 1 %, respectivamente.

Verifica-se que as maiores médias para número, comprimento, volume e massa seca de raiz foram observadas nas estacas tratadas com concentração de 1500 mg L⁻¹ de AIB (Figura 4B, C e D). Nos tratamentos com H₃BO₃, as maiores médias para todas as variáveis foram observadas na concentração de 400 mg L⁻¹ (Figura 4A, B, C e D).

O uso de AIB e H₃BO₃ favoreceu a formação e o crescimento radicular das estacas. No entanto, a concentração de cada produto é variável para as espécies de maracujazeiros. Nas espécies *Passiflora setacea*, *P. edulis*, *P. edulis* x *P. setacea*, a concentração de 1000 mg L⁻¹ de AIB determinou maior número de estacas com raiz e massa seca de raiz, (VAZ et al., 2009). A maior produção e comprimento de raízes de *P. mucronata* Lam. foi verificada na concentração de 1000 mg L⁻¹ de AIB (ALEXANDRE et al., 2014). Sobre a mesma concentração de AIB foi observada maior produção de calos e brotações em bougainvillea (SINGH, 2012). Algumas espécies apresentam maior crescimento, quando tratadas com concentrações mais elevadas, conforme observado em estacas de *Eucalyptus benthamii* com 2000 mg L⁻¹ de AIB (BRONDANI et al., 2012), e em concentrações menores como verificado em raízes de *Cattleya loddigesii* Lindl, tratadas com 1,4 mg L⁻¹ de H₃BO₃ (CARVALHO et al., 2009). Na maior concentração do H₃BO₃ (800 mg L⁻¹) foram observadas médias inferiores aos demais tratamentos, o que pode estar associado a um possível efeito tóxico. Lone et al. (2010) verificaram que altas concentrações de reguladores de crescimento podem apresentar efeito tóxico em algumas culturas, como é o caso de videira. Os micronutrientes podem tornar-se tóxicos se sua concentração for mais alta que um ponto crítico específico, podendo levar a interações negativas nos níveis celular e molecular (HALL, 2002).

Observa-se que o AIB apresentou médias superiores em todas as variáveis analisadas, quando comparado ao H₃BO₃ (Figura 4). Rout (2006) e Kesari et al. (2009) relatam a superioridade do AIB em relação a outros reguladores de crescimento e, afirmam que essa auxina é efetiva no enraizamento adventício nas fases de indução, iniciação e expressão, além de ser mais eficiente do que o AIA e ANA.

4. Conclusões

O estágio de maturação do fruto de *P. alata* interfere na qualidade fisiológica das sementes.

Sementes extraídas de frutos de *P. alata* em estágio de maturação com 75 dias após a antese apresentam maior qualidade fisiológica.

A maior porcentagem de enraizamento e qualidade das mudas *P. alata* são obtidas nas estacas tratadas com concentrações de 1500 mg L⁻¹ de AIB e de 400 mg L⁻¹ de H₃BO₃.

O AIB é mais eficiente que o H₃BO₃ no processo rizogênico de estacas de *P. alata*.

5. Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional e Desenvolvimento Científico (CNPq) pela bolsa de produtividade em pesquisa.

6. Referências

ALBUQUERQUE JUNIOR, C. L.; DANNER, M. A.; KANIS, L. A.; DESCHAMPS, C.; ZANETTE, F.; FARIAS, P. M. Enraizamento de estacas semilenhosas de maracujazeiro amarelo (*Passiflora actinia* Hook). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6, sup. 1, p. 3663-3668, 2013.

ALEXANDRE, R. S.; COSTA, P. R.; CHAGAS, K.; MAYRINCK, L. G.; DETONI, J. L.; SCHMILDT, E. R. Enraizamento adventício de estacas do maracujazeiro silvestre *Passiflora mucronata* Lam.: forma de veiculação e concentrações do ácido indol-3-butírico. **Revista Ceres**, v. 61, n. 4, p. 567-571, 2014.

ALEXANDRE, R. S.; WAGNER JÚNIOR, A.; NEGREIROS, J. R. S.; BRUCKNER, C. H. Estádio de maturação dos frutos e substratos na germinação de sementes e desenvolvimento inicial de plântulas de jaboticabeira. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 12, n. 2, p. 227-230, 2006.

BATTISTUS, A. G.; FUCHS, F.; SOUZA, R. F. B.; MALAVASI, M. M.; DRANSKI, J. A. L.; RAMPIM, L.; BULEGON, L. G.; GUIMARÃES, V. F.; MORANZA, T. M.;

MULLER, M. A.; LIMA, P. R. Physiological maturity of seeds and colorimetry of yellow passion fruit (*Passiflora edulis f. flavicarpa* Degener). **African Journal of Agricultural Research**, v. 9, n. 40, p. 3018-3024, 2014.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. New York: Plenum Press, 1994. 445p.

BRONDANI, G. E.; BACCARIN, F. J. B.; ONDAS, H. W. W.; STAPE, J. L.; GONÇALVES, A. N.; ALMEIDA, M. Low temperature, IBA concentrations and optimal time for adventitious rooting of *Eucalyptus benthamii* mini-cuttings. **Journal of Forestry Research**, v. 23, n. 4, p. 583-592, 2012.

CARVALHO, M. A. F.; PASQUAL, M. SANTOS, F. C.; ROGRIGUES, V. A.; REZENDE, J. C.; CARVALHO, J. G. Efeito do boro (H_3BO_3) e manganês ($MnSO_4 \cdot 4H_2O$) na micropropagação de *Cattleya loddigesii* Lindl. (Orchidaceae). **Revista Ceres**, v. 56, n. 3, p. 322-325, 2009.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: Ciência, Tecnologia e Produção**. FUNEP, 5.ed. Jaboticabal. 2012. 590p.

COLPAS, F. T.; ONI, E. O.; RODRIGUES, J. D.; PASSOS, J. R. S. Effects of some phenolic compounds on soybean seed germination and on seed-borne fungi. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 46, n. 2, p. 155-161, 2003.

DELOUCHE, J. C.; STILL, T. W.; RASPET, M.; LIENHARD, M. **O teste de tetrazólio para viabilidade da semente**. Brasília, DF: AGIPLAN, 1976. 103p.

DIAS, M. A.; DIAS, D. C. F. S.; LIMA, E. E.; DIAS, L. A. S. Qualidade e compostos fenólicos em sementes de mamão alterados pela colheita e maturação dos frutos. **Ciência Rural**, v. 45, n. 4, p. 737-743, 2015.

DONATO, L. M. S.; RABELO, M. M.; SOUZA DAVID, A. M. S.; ROCHA, A. F.; ROCHA, A. S.; BORGES, G. A. Qualidade fisiológica de sementes de melão em função do estágio de maturação dos frutos. **Comunicata Scientiae**, v. 6, n. 1, p. 49-56, 2015.

FREITAS, A. R.; LOPES, J. C.; ALEXANDRE, R. S.; VENANCIO, L. P.; ZANOTTI, R. F. Emergência e crescimento de mudas de maracujá doce em função de lodo de esgoto e luz. **Comunicata Scientiae**, v. 6, n. 2, p. 234-240, 2015.

GONÇALVES, V. D.; MÜLLER, D. H.; FAVA, C. L. F.; CAMILI, E. C. Maturação fisiológica de sementes de pimenta 'bode vermelha'. **Revista Caatinga**, v. 28, n. 3, p. 137-146, 2015.

GURUNG, N.; SWAMY, G. S. K.; SARKAR, S. K. Rooting response of passion fruit cuttings under mist house and closed media sachet (CMS). **Environment and Ecology**, v. 33, n. 3, p. 1019-1021, 2015.

HALL, J. L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 2, p. 1-11, 2002.

KESARI, V.; KRISHNAMACHARI, A.; RANGAN, L. Effect of auxins on adventitious rooting from stem cuttings of candidate plus tree *Pongamia pinnata* (L.), a potential biodiesel plant. **Trees**, v. 23, n. 1, p. 597-604, 2009.

LI, S-W.; XUE, L.; XU, S.; FENG, H.; AN, L. Mediators, genes and signaling in adventitious rooting. **The Botanical Review**, v. 75, n. 2, p. 230-247, 2009.

LONE, A. B.; LÓPEZ, E. L.; ROVARIS, S. R. S.; KLESENER, D. F.; HIGASHIBARA, L.; ATAÍDE, L. T.; RUFFO ROBERTO, S. Efeito do AIB no enraizamento de estacas herbáceas do porta-enxerto de videira VR 43-43 em diferentes substratos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 599-604. 2010.

LOPES, C. J.; DIAS, P. C.; PEREIRA, M. D. Maturação fisiológica de sementes de quaresmeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 8, p. 811-816, 2005.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.

MELO, A. P. C.; SELEGUINI, A. Estádio de maturação de frutos e remoção física da sarcotesta na produção de mudas de mamão. **Comunicata Scientiae**, v. 4, n. 1, p. 20-25. 2013.

NOGUEIRA, N. W.; RIBEIRO, M. C. C.; FREITAS, R. M. O. de; MARTINS, H. V. G.; LEAL, C. C. P. Maturação fisiológica e dormência em sementes de sabiá (*Mimosa caesalpiniiifolia* Benth.). **Bioscience Journal**, v. 29, n. 4, p. 876-883, 2013.

R CORE TEAM R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>, 2013.

ROUT, G. R. Effect of auxins on adventitious root development from single node cuttings of *Camellia sinensis* (L.) Kuntze and associated biochemical changes. **Plant Growth Regulation**, v. 48, n. 1, p. 111-117, 2006.

SINGH, N. Effect of indole butyric acid (IBA) concentration on sprouting, rooting and callusing potential in bougainvillea stem cuttings. **Journal of Horticultural Sciences**, v. 7, n. 2, p. 209-210, 2012.

SOUSA, C. M.; BUSQUET, R. N.; VASCONCELLOS, M. A. S.; MIRANDA, R. M. Effects of auxin and misting on the rooting of herbaceous and hardwood cuttings from the fig tree. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 2, p. 334-338, 2013.

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

VAZ, C. F.; PEIXOTO, J. R.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; SANTOS, E. C.; FONSECA, K. G.; JUNQUEIRA, K. P. Enraizamento de espécies silvestres de maracujazeiro utilizando cinco doses de ácido indolilbutírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 1, p. 816-822, 2009.

YANG, M.; LIU, Y.; PAN, J.; ZHONG, Y.; LIU, S.; ZHOU, L.; LIANG, H. Effects of different substrates and rooting powder concentrations on cutting rooting of *Passiflora caerulea* Linn. **Journal of Zhongkai University of Agriculture and Engineering**, v. 27, n. 2, p. 1-4, 2014.

ZANOTTI, R. F.; DIAS, D. C. F. S.; BARROS, R. S.; SILVA, L. J.; SEKITA, M. C. Germination of "Solo" papaya seeds treated with plant hormones. **Journal of Seed Science**, v. 36, n. 1, p. 94-99, 2014.

CAPÍTULO III

Germinação de sementes de alface em extratos de sementes de *Passiflora alata* Curtis

Germinação de sementes de alface em extratos de sementes de *Passiflora alata* Curtis

RESUMO

Muitas substâncias químicas presentes nos vegetais podem apresentar capacidade de interferir na germinação de sementes e no desenvolvimento de outras. A pesquisa teve como objetivo verificar o efeito de extratos de sementes de maracujá doce (*Passiflora alata* Curtis), tendo como parâmetros a germinação de sementes e o crescimento de plântulas de alface. O experimento foi conduzido em ambiente controlado. Os tratamentos consistiram em: T1: água destilada como testemunha; T2: extrato de embrião; T3: extrato do tegumento; T4: extrato das sementes inteiras; T5: solução de embebição. Utilizou-se como bioindicadores do efeito alelopático dos extratos sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) cv. Babá de Verão. Sob o extrato do embrião das sementes maracujá doce foi observado menor porcentagem de germinação e o índice de velocidade de emergência das sementes de alface. O maior número de plântulas anormais foi observado a partir de sementes germinadas no extrato do embrião (T2) e na solução de embebição (T5). O extrato do embrião das sementes de maracujá doce apresenta compostos capazes de inibir a germinação e influenciar negativamente no desenvolvimento das plântulas de alface. Palavras-chave: desenvolvimento inicial; inibição; maracujazeiro doce.

1. Introdução

O Brasil destaca-se por ser um dos maiores produtores de maracujazeiros no cenário mundial. O maracujá doce é uma planta herbácea, em geral trepadeira, apresenta folhas subcoriáceas, flores solitárias, axilares, perfumadas, frutos com polpa sucosa de sabor doce e agradável (ALEXANDRE et al., 2009). É cultivado comercialmente principalmente para a produção de frutos para consumo in natura, atingindo preços elevados tanto no mercado interno quanto externo (SANTOS et al., 2011; NICOLINI et al., 2012).

Tradicionalmente os pomares comerciais no Brasil são estabelecidos, por mudas obtidas de sementes sendo comum o relato do baixo percentual de germinação, o que pode estar associado aos mecanismos de dormência. Os principais fatores que determinam o fenômeno de dormência são a impermeabilidade do tegumento, imaturidade fisiológica, embrião imaturo e presença de substâncias inibidoras (BEWLEY; BLACK, 1994).

Muitos compostos químicos presentes nos vegetais podem apresentar capacidade de interferir na germinação das próprias sementes, assim como de outras espécies. Para identificar a presença destes, são indicados biotestes com outras espécies vegetais. A alface (*Lactuca sativa* L.) é considerada planta modelo para estes estudos, pois apresenta alta sensibilidade, mesmo em baixas concentrações de aleloquímicos (BORGES et al., 2011; NICOLINI et al., 2012; REICHEL et al., 2013).

Objetivou-se com a pesquisa verificar o efeito de extratos de sementes de *P. alata*, tendo como parâmetros a germinação de sementes e o crescimento de plântulas de alface.

2. Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE-UFES) em Alegre. Foram utilizadas sementes de *P. alata* de frutos coletados em pomares do município de Alegre-ES. As sementes foram extraídas manualmente dos frutos, friccionadas em peneiras de arame com cal virgem para auxiliar a extração do arilo e secas à sombra sobre papel filtro. Foram utilizados dois

lotes de 100 sementes, as quais, respectivamente, foram imersas em 75 mL de água destilada por 24 horas sob temperatura de 25 °C.

O tratamento controle (T1) consistiu na utilização de água destilada. Os diferentes extratos de sementes de maracujá doce foram obtidos por maceração em cadinho adicionando-se 5 mL de água destilada. Foram extraídos os embriões de 100 sementes (0,387 g), e utilizados para T2, sendo este peso utilizado como padrão para determinar a massa do tegumento e das sementes inteiras a ser utilizadas para T3 e T4, respectivamente. Após a maceração foi realizada a filtragem em peneira de 1 mm, obtendo-se a solução dos extratos. O tratamento T5 consistiu da solução em que as 100 sementes foram embebidas por 24 h.

Avaliou-se a condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$) e o pH das soluções de extratos das sementes. O teor de nutrientes dos extratos foi determinado, onde o Fe e Mn foram diluídos em uma alíquota de 0,05 mL em 0,25 mL de água deionizada. Os teores de P, K, Mg e Zn foram determinados a partir de digestão em espectrometria de absorção atômica de chama.

Foi utilizado, como bioindicador, sementes de *Lactuca sativa* L. cv. Babá de Verão. Estas foram distribuídas em placas de Petri revestidas com uma folha de papel germitest[®] e umedecidas com água destilada equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco. Após a semeadura foi adicionado 1,67 mL de solução de extrato por repetição, em seguida as placas foram lacradas com película flexível semitransparente e dispostas sob temperaturas de 20-30 °C em fotoperíodo 8-16 horas de luz/escuro em câmaras de germinação do tipo BOD.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições de 25 sementes. A avaliação do número de sementes germinadas foi efetuada diariamente, até a estabilização da germinação, que aconteceu após nove dias do início do teste. Ao fim, determinou-se porcentagem de germinação (BRASIL, 2009); índice de velocidade de germinação (MAGUIRE, 1962); comprimento da parte aérea e da raiz (cm); massa fresca e seca de plântulas (mg L^{-1}) e classificação de plântulas anormais.

Os compostos fenólicos totais foram determinados em sementes inteira e em embriões isolados, utilizando-se lotes de 100 sementes de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg., e de *P. alata*. Segundo metodologia descrita por Singh et al. (2002). As sementes e os embriões foram secos em liofilizador a -40 °C por 72 horas, posteriormente, foram triturados e coletados três gramas do material,

depositados em um tubo balão, adicionando-se 30 mL de etanol a 80% (v/v). As amostras foram submetidas a refluxo por 90 minutos. Posteriormente, o extrato foi filtrado a vácuo, seguindo-se a evaporação do etanol em rotaevaporador a 40 °C. As amostras foram centrifugadas durante 10 minutos a 4 °C a 5000 rpm, sendo o sobrenadante transferido para frascos, nos quais foi injetado gás nitrogênio, vedados e congelados a -30 °C (SWAINT; HILLIS, 1959). A curva padrão foi construída com ácido tânico nas concentrações de 0, 10, 25, 50, 75, 100, 200, 300 e 400 mg L⁻¹. Para quantificação dos fenóis, 25 µL da amostra foram adicionados em água destilada, completando-se o volume para 3,5 mL, em seguida, 0,25 mL do reagente Folin-Ciocalteu foi adicionado e os tubos agitados. Na sequência, adicionou-se 0,5 mL de solução saturada de carbonato de sódio, agitando-se novamente os tubos. Por fim, o volume foi elevado para 5 mL com água destilada. Após uma hora no escuro, procedeu-se a leitura de absorvância a 730 nm em espectrofotômetro UV-Visível. Os resultados foram expressos em µg de fenol g⁻¹ MS⁻¹.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Dunnett em nível de 5% de probabilidade.

3. Resultados e Discussão

O extrato do embrião das sementes de maracujá doce diminuiu a porcentagem de germinação e o índice de velocidade de emergência das sementes de alface indicando interferência aleloquímica de compostos presentes nas sementes de maracujazeiro sobre a germinação de alface (Tabela 1).

Tabela 1. Germinação (GER), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da raiz (CR), comprimento da parte aérea (CPA), massa fresca (MF), massa seca (MS) e plântulas anormais (PA) de sementes de alface em extratos de *P. alata*.

TRAT	GER (%)	IVG	CR (cm)	CPA (cm)	MF (mg L ⁻¹)	MS (mg L ⁻¹)	PA (%)
T1	91 A	9,9 A	28,3 AB	29,2 A	27,4 A	0,88 A	5 B
T2	39 B	2,6 B	6,5 C	9,2 C	13,3 E	0,52 C	21,3 A
T3	81 A	9,1 A	38,9 A	15,6 B	19,8 CD	0,73 B	0 B
T4	85 A	8,9 A	38,6 A	15 BC	16,6 DE	0,70 B	5 B
T5	80 A	8,9 A	40,7 A	19,7 B	23,7 AB	0,75 AB	9 AB

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Dunnett, em nível de 5% de probabilidade.

Legenda: T1: testemunha; T2: extrato de embrião; T3: extrato do tegumento; T4: extrato das sementes inteiras; T5: Solução de embebição.

Efeitos negativos na germinação e vigor das sementes de alface foram encontrados por alguns autores ao trabalharem com extratos vegetais. Extratos de sementes de *Eugenia uniflora* L. diminuíram a porcentagem de germinação das sementes de alface indicando interferência aleloquímica de tal espécie sobre a alface (DELGADO; BARBEDO, 2011). Os compostos fenólicos presentes na sarcotesta das sementes de mamão provocaram inibição da germinação, diminuíram o índice de velocidade de emergência e do crescimento da raiz primária de alface (TOKUHISA et al., 2007). Extratos aquosos de folhas de *Piper mikanianum* possuem compostos que exerceram ação alelopática sobre sementes e plântulas de rabanete, reduzindo a germinação e o crescimento inicial (BORELLA et al., 2012).

Com relação ao crescimento inicial das plântulas de alface sobre a influência do extrato de sementes de maracujá doce, observa-se que houve uma redução no comprimento das raízes, na parte aérea, na massa fresca e seca das plântulas (Tabela 1). O maior número de plântulas anormais foi observado nos extratos do embrião e na solução de embebição.

Extratos de maracujazeiro provocaram redução no comprimento e na biomassa fresca das raízes de alface (NICOLINI et al., 2012), e ocasionaram o

menor crescimento das plântulas (VOLTARELLI et al., 2012). Inúmeros compostos químicos como ácidos fenólicos, cumarinas, terpenoides, flavonoides, alcaloides, taninos e quinonas, são encontrados na composição química dos vegetais, esses podem desencadear efeitos benéficos ou maléficos sobre outros vegetais ou demais organismos (SOUZA et al., 2005).

Através do teste de condutividade elétrica (Tabela 2) é possível observar a concentração de solutos e compostos presentes nas soluções de extratos. Observa-se elevados resultados nos tratamentos com embrião e solução de embebição, sendo estes os tratamentos em que as sementes de alface apresentaram menores porcentagens de germinação e menor desenvolvimento pós-seminal. Este método consiste na quantificação dos eletrólitos lixiviados pela semente na água de embebição, assim o efeito negativo dos extratos pode estar associado à lixiviação de solutos presentes nas sementes de *P. alata*, capazes de inibir a germinação.

Tabela 2. Análise química, condutividade elétrica (CE) e pH de soluções de extratos de sementes de *P. alata*.

TRAT	P	K	Fe	Mg	Zn	CE	pH
	----- mg L ⁻¹ -----					($\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$)	
T1	34 E	0,1002 D	0,0098 C	0,0193 E	0,0012 E	1,275	7,0
T2	372 A	1,6254 B	0,2760 A	0,2596 A	0,1686 A	847,9	7,12
T3	102 D	0,5502 C	0,2287 A	0,0963 D	0,0587 C	71,8	7,31
T4	298 B	0,3639 C	0,2727 A	0,1184 C	0,0321 D	126,5	7,06
T5	239 C	2,1100 A	0,0594 B	0,2075 B	0,0958 B	596,2	6,75

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Dunnett, em nível de 5% de probabilidade.

Legenda: T1: água destilada; T2: extrato de embrião; T3: extrato do tegumento; T4: extrato das sementes inteiras; T5: Solução de embebição.

A degradação das membranas celulares constitui-se em um dos eventos iniciais do processo de deterioração, desta forma testes como a condutividade elétrica são sensíveis para determinar o potencial fisiológico das sementes uma vez que este consiste na quantificação dos eletrólitos liberados pela semente na água de embebição. A quantidade de eletrólitos liberada é, teoricamente, proporcional ao grau de desorganização da membrana plasmática, seguida de redução na perda de

solutos, à medida que os tecidos são reidratados, até alcançarem um estado de equilíbrio (SILVA; MARTINS, 2009).

Observa-se através da análise química dos extratos (Tabela 2) que a concentração de P, K, Mg e Zn nos estratos do embrião é maior quando comparada aos demais, exceto para a solução de embebição para K, sendo que a ausência ou excesso de nutrientes pode interferir no desenvolvimento das plantas.

Verifica-se a maior concentração de compostos fenólicos presentes no embrião quando comparados às sementes inteiras. A *P. alata* apresentou maiores médias para sementes inteiras (1,45) e embrião (1,67), enquanto a *P. edulis* apresentou para as sementes inteiras as menores médias (0,16) e embrião (0,49) (Figura 1).

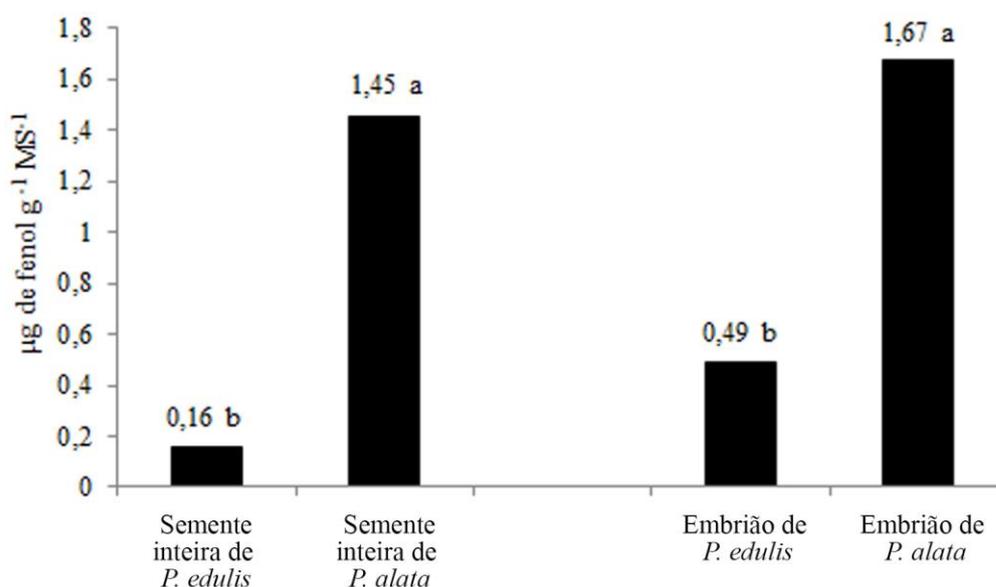


Figura 1. Concentração de compostos fenólicos totais em sementes inteiras e embriões de *P. edulis* e *alata*. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

Os resultados corroboram com a afirmação de que a composição química das sementes é variável entre espécies. Dessa forma, substâncias inibidoras podem ser encontradas em diferentes níveis, podendo interferir no processo germinativo, em que compostos fenólicos influenciam negativamente sobre as sementes, reduzindo e/ou inibindo sua capacidade germinativa, além das relações alelopáticas e interações com micro-organismos, os quais são sintetizados principalmente pela via

do ácido chiquímico (BEWLEY; BLACK, 1994; NEVES et al., 2013; TAIZ; ZEIGER, 2013; PAIVA NETO et al., 2014; SCHERER; GOODY, 2014; DIAS et al., 2015). Esses compostos presentes na estrutura das sementes atuam retendo o oxigênio, dificultando, dessa forma, seu suprimento ao embrião durante a germinação (MARCOS FILHO, 2005).

A maior concentração de fenóis totais ocorre na sarcotesta e esclerotesta de sementes de mamão, onde é observada a maior porcentagem de dormência (DIAS et al., 2015). A literatura aponta os fenóis como um dos mais importantes compostos responsáveis pela ocorrência de dormência em sementes de mamão (TOKUHISA et al., 2007). Rojas et al. (2012) verificaram alta concentração de compostos fenólicos, principalmente ácido gálico, em *Terminalia catappa* L., sendo indicador de inibição alelopática da germinação de outras espécies de restingas. A baixa porcentagem de germinação encontrada na espécie de *P. alata* (FREITAS et al., 2015) pode estar associada à presença de compostos fenólicos que interferem negativamente na protrusão da raiz primária.

4. Conclusões

O extrato do embrião das sementes de *P. alata* apresenta compostos capazes de inibir a germinação e influenciar negativamente no desenvolvimento das plântulas de alface.

A *P. alata* apresenta maior concentração de fenóis totais em relação a *P. edulis*.

5. Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional e Desenvolvimento Científico (CNPq) pela bolsa de produtividade em pesquisa.

6. Referências

ALEXANDRE, R. S.; BRUCKNER, C. H.; LOPES, J. C. Seleção de matrizes e comportamento do maracujazeiro quanto aos métodos de propagação. In: ALEXANDRE, R. S.; BRUCKNER, C. H.; LOPES, J. C. **Propagação do**

maracujazeiro: aspectos morfológicos, fisiológicos e genéticos. EDUFES, Alegre, BR. 2009. p. 15-24.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds:** physiology of development and germination. New York: Plenum Press, 1994. 445 p

BORGES, C. S.; CUCHIARA, C. C.; SILVA, S. D. A.; BOBROWSKI, V. L. Efeitos citotóxicos e alelopáticos de extratos aquosos de *Ricinus communis* utilizando diferentes bioindicadores. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 5, n. 3, p. 15-20, 2011.

BORELLA, J.; MARTINAZZO, E. G.; AUMONDE, T. Z; AMARANTE, L.; MORAES, D. M.; VILLELA, F. A. Respostas na germinação e no crescimento inicial de rabanete sob ação de extrato aquoso de *Piper mikanianum* (Kunth) Steudel. **Acta Botanica Brasilica**, v. 26, n. 2, p. 415-420, 2012.

DELGADO, L. F.; BARBEDO, C. J. Atividade inibidora da germinação em extratos de sementes *Eugenia uniflora* L. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 3, p. 463-471, 2011.

DIAS, M. A.; DIAS, D. C. F. S.; BORGES, E. E. L.; DIAS, L. A. S. Qualidade e compostos fenólicos em sementes de mamão alterados pela colheita e maturação dos frutos. **Ciência Rural**, v. 45, n. 4, p. 737-743, 2015.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.

NEVES, J. M. G.; SILVA, H. P.; AQUINO, C. F.; BRANDÃO, A. A.; DUARTE, R. F.; BRANDÃO JUNIOR, D. S.; SALES, N. L. P. Determinação de inibidores e superação de dormência em sementes de cutieira. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 3, n. 2, p. 121-128, 2013.

NICOLINI, J. T.; BIDO, G. S.; ZONETTI, P. C. Efeito do extrato aquoso de *Passiflora edulis* Sims sobre a germinação e crescimento inicial de alface. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v. 5, n. 1, p. 191-203. 2012.

PAIVA NETO, V. B.; PRANDO, F. P.; RODRIGUES, L. A.; ZUFFO, M. C. R.; LIMA, S. F. Ação inibitória do endosperma na germinação *in vitro* de embrião zigótico de pinhão manso. **Ciência Rural**, v. 44, n. 3, p. 433-438, 2014.

REICHEL, T.; BARAZETTI, J. F.; STEFANELLO, S.; PAULERT, R.; ZONETTI, P. C. Allelopathy of leaf extracts of jatropha (*Jatropha curcas* L.) in the initial development of wheat (*Triticum aestivum* L.). **Idesia**, v. 31, n. 1, p. 45-52. 2013.

ROJAS, E. G.; SILVAS, M. P. O.; MAGENTA, M. A. G.; TOMA, W. Investigação de compostos fenólicos com possível potencial alelopático de folhas de uma árvore invasora de restinga (*Terminalia catappa* L.). **Unisanta BioScience**, v. 1, n. 2, p. 60-64, 2012.

SANTOS, V. A.; RAMOS, J. D.; OLIVEIRA, M. C.; SILVA, E. A. Tipos de enxertia em diferentes idades de plantas de maracujazeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 4, p. 1359-1363, 2011.

SCHERER, R.; GODOY, H. T. Effects of extraction methods of phenolic compounds from *Xanthium strumarium* L. and their antioxidant activity. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 1, p. 41-46, 2014.

SILVA, L. B.; MARTINS, C. C. Teste de condutividade elétrica para sementes de mamoneira. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 1, p. 1043-1050, 2009.

SINGH, R. P.; MURTHY, C.; JAYAPRAKASHA, G. K. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 2, p. 81-86, 2002.

SOUZA, S. A. M.; STEIN, V. C.; CATTELAN, L. V.; BOBROWSKI, V. L.; ROCHA, B. H. G. Utilização de sementes de alface de rúcula como ensaios biológicos para avaliação do efeito citotóxico e alelopático de extratos aquosos de plantas medicinais. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 5, n. 1, p. 3-9, 2005.

SWAINT, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analyses of phenolic constituents. **Journal Science Agricultural**, v. 10, n. 1, p. 63-68, 1959.

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

TOKUHISA, D.; DIAS, D. C. F. S.; ALVARENGA, E. M.; DIAS, HILST, P. C.; DEMUNER, A. J. Compostos fenólicos inibidores da germinação em sementes de mamão (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 3, p. 161-168, 2007.

VOLTARELLI, V. M.; RIBEIRO, J. P. N.; LIMA, M. I. S. Allelopathic potential of *Gleichenella pectinata* (Willd.) **Acta Botanica Brasilica**, v. 26, n. 4, p. 779-784, 2012.

CAPÍTULO IV

Germinação, citotoxicidade e mutagenicidade do lodo de esgoto em *Lactuca sativa* L. e *Passiflora alata* Curtis

Germinação, citotoxicidade e mutagenicidade do lodo de esgoto em *Lactuca sativa* L. e *Passiflora alata* Curtis

RESUMO

As características físicas e químicas do solo influenciam no crescimento das plantas, entretanto o acúmulo de elementos não essenciais oriundos de biossólidos pode ser tóxico. Objetivou-se estudar os efeitos de diferentes doses de biossólidos no ciclo celular em células meristemáticas de *Lactuca sativa* L., na germinação e no crescimento inicial de *Passiflora alata* Curtis. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com oito concentrações de lodo de esgoto [(lodo + água destilada (mg dm^{-3}))] nas proporções de 0; 20; 40; 60; 80; 120; 160; 320 e 520 t ha^{-1} , com quatro repetições de 25 sementes. A análise citogenética foi determinada avaliando 6000 células meristemáticas de *L. sativa* por tratamento. O pH das concentrações apresentou-se ascendente a partir da ausência de lodo de esgoto até a concentração de 80 t ha^{-1} e se estabilizou a partir desta concentração. A condutividade elétrica apresentou o valor máximo sobre a concentração de 520 t ha^{-1} . O lodo de esgoto afeta negativamente a germinação e o crescimento inicial das plântulas de *P. alata* e *L. sativa*, e induz lesões genéticas em *L. sativa*.

Palavras-chave: aberrações cromossômicas; biossólido; crescimento inicial; toxidez.

1. Introdução

O lodo de esgoto é um resíduo sólido decorrente do tratamento de efluentes sanitários, sejam eles de origem doméstica ou industrial, com elevado conteúdo de matéria orgânica, composições químicas e biológicas (KELESSIDIS; STASINAKIS, 2012). Práticas ambientais de aproveitamento do resíduo como a reutilização industrial, incineração e, principalmente, o uso no meio agrícola como fertilizantes para as plantas (KELESSIDIS; STASINAKIS, 2012; GROTTTO et al., 2013; FREITAS et al., 2015) têm sido estudadas nos últimos anos a fim de reduzir o impacto por sua deposição.

Apesar dos benefícios nas características físicas e químicas do solo e no crescimento das plantas com a aplicação do lodo de esgoto (FREITAS et al., 2015), o acúmulo de altas concentrações de elementos presentes no solo é potencialmente tóxico às plantas (SINGH; AGRAWAL, 2008; NASCIMENTO et al., 2014). Em contato com as plantas, os metais pesados podem limitar o crescimento e o desenvolvimento pela inibição de processos fisiológicos, como transpiração, respiração e fotossíntese (NAGAJYOTI et al., 2010; TAIZ; ZEIGER, 2013), fazendo-se necessário conhecer as características químicas e observar o efeito das concentrações sobre o solo e nas plantas.

A toxidez de substâncias pode ser observada a partir de ensaios que quantificam parâmetros morfológicos e citogenéticos, sendo estes usados cotidianamente em laboratórios para determinar o potencial fitotóxico, citotóxico, genotóxico e mutagênico de produtos químicos, substâncias complexas como extratos de plantas, dejetos industriais e águas contaminadas (FELICIDADE et al., 2014). Neste contexto, diversos autores afirmam que alterações no ciclo de divisão celular podem indicar potenciais poluentes ambientais que ocasionam alterações no DNA, o que compromete processos essenciais no metabolismo do organismo (HOSHINA; MARIN-MORALES, 2009; SINGH et al., 2009).

A *Passiflora alata* Curtis (maracujazeiro doce) é uma espécie que tem se expandido no Brasil em virtude da aceitação do mercado consumidor de seus frutos. A cultura apresenta crescimento satisfatório sobre fontes orgânicas como o lodo de esgoto em concentração de 80 t ha⁻¹ (FREITAS et al., 2015). No entanto, faz-se necessário conhecer o efeito tóxico que o lodo de esgoto pode ocasionar no crescimento da planta.

O uso de plantas superiores como bioindicadoras do efeito tóxico em nível celular, vem sendo empregado desde a década de 70 (GRANT, 1999). Uma das espécies consideradas adequadas é a *Lactuca sativa* L., que tem sido amplamente estudada para determinar a prospecção dos efeitos tóxicos de compostos químicos em nível de organismo (fitotóxico), célula (citotóxico) e de DNA (genotóxico) (ANDRADE et al., 2010; SOUSA et al., 2010).

Objetivou-se estudar o lodo de esgoto no crescimento inicial de *P. alata* e por meio de bioensaios com *L. sativa*, o crescimento inicial e os efeitos no ciclo celular em células meristemáticas.

2. Material e Métodos

O estudo foi realizado no Laboratório de Análise de Sementes do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE-UFES), localizado no município de Alegre-ES, com dois experimentos: diferentes doses de biossólidos no ciclo celular em células meristemáticas de *L. sativa*, e na germinação e no crescimento inicial de *P. alata*.

O lodo de esgoto utilizado foi coletado de acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) NBR 10007 (ABNT, 2004) em outubro de 2014, na Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) da Companhia Espírito Santense de Saneamento (CESAN) de Joana Dark, município de Vitória-ES, cujas análises foram realizadas pela empresa Agrolab - Análises e Controle de Qualidade LTDA, localizada no município de Vila Velha-ES, sendo examinados os seguintes elementos para a determinação das características físico-químicas e metais pesados: As, Ba, Cd, Ca, Pb, Cu, Cr, S, Mg, Mn, Hg, Mo, N, Ni, K, Se, Na, Zn, P, C orgânico e MO (Tabela 1). Foi realizado o fracionamento, extração e purificação do carbono orgânico do lodo de acordo com as recomendações da Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS, 2016) descritas em Thurman; Malcolm (1981), em duplicata analítica. Inicialmente, a amostra foi tratada com ácido fosfórico dois mol L⁻¹ (agitação, em tubos de centrífuga, de quatro gramas de amostra: 40 mL de solução por quatro horas) para a extração da fração ácidos fúlvicos livres (AFL) e da fração matéria orgânica leve (MOL). Após a agitação, foi realizada a centrifugação (Centrífuga HERMLE-Z382K) a 5.000 g por 30 minutos. Para a extração de substâncias orgânicas alcalino-solúveis o precipitado do extrato obtido

na etapa anterior foi ajustado a pH 7 e, em seguida, adicionou-se ao tubo de centrífuga 40 mL de hidróxido de sódio $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Esse sistema, a pH~13, foi agitado horizontalmente por 24 horas para a extração das substâncias húmicas (SH). O extrato foi centrifugado e o procedimento foi repetido por mais três vezes, até a total extração das SH, identificada pela sua ausência no sobrenadante. Em seguida, determinou-se o teor de carbono orgânico desse sobrenadante contendo as SH e também do precipitado residual, denominado fração huminas (HUMINAS). Parte do extrato das substâncias húmicas, da operação anterior, foi acidificado até pH 1,5 com ácido sulfúrico e, a seguir, centrifugado para a separação das SH em fração ácidos fúlvicos (AF), no sobrenadante, e fração ácidos húmicos (AH), no precipitado. Os teores de carbono, em cada fração e, também, o carbono orgânico total (C_{TOTAL}) das amostras de lodo, foram determinados usando-se a dicromatometria em meio ácido, tendo o sulfato ferroso amoniacal como titulante e a presença do indicador difenilamina no titulado.

Os nove tratamentos consistiram em soluções de diferentes concentrações de lodo de esgoto [lodo + água destilada (mg dm^{-3}) nas proporções de 20, 40, 60, 80, 120, 160, 320 e 520 t ha^{-1} e água destilada (controle negativo)]. O lodo de esgoto foi peneirado em malha de dois mm e as soluções preparadas com auxílio de um agitador automático, marca/modelo: Marconi/MA376/176, agitadas a 200 rpm em duas etapas de 60 minutos cada e intervalo de 30 minutos, sob temperatura de 25 °C. Após 24 horas, as soluções (sobrenadante) foram coletadas, analisados o pH e a condutividade elétrica (DIGIMED DM 31), e armazenadas em geladeira a 3 ± 1 °C para a montagem dos dois estudos.

O primeiro experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições de 25 sementes de *L. sativa* por tratamento, dispostas em placas de Petri forradas com duas folhas de papel germitest[®], umedecidas com cinco mL da solução de biossólido. Posteriormente, as placas foram mantidas em BOD, sob temperatura constante de 24 °C, por 48h, na ausência de luz (BRASIL, 2009).

As variáveis analisadas foram germinação (%); índice de velocidade de germinação, calculado conforme Maguire (1962): $IVG = G1/D1 + \dots + Gn/Dn$, em que: IVG = índice de velocidade de germinação; G1= número de sementes germinadas no primeiro dia após a semeadura... Gn = número de sementes germinadas 'n' dias após a semeadura; D1 = um dia após a semeadura... Dn = 'n' dias após a

semeadura; e crescimento radicular (cm) com auxílio de um paquímetro digital (0,01 mm).

Para determinar a análise citogenética das concentrações de lodo de esgoto, as raízes das plântulas foram coletadas e fixadas em etanol: ácido acético (3:1) (v/v). As lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento e coradas com orceína acética a 2% (m/v). Em cada tratamento, foram analisados em 6000 células meristemáticas: número de prófase, interfase, metáfase, anáfase, telófase, núcleo condensado, micronúcleo, c-metáfase, cromossomo pegajoso, pontes e cromossomo quebrado, índice mitótico [n° de células em divisão (prófase, metáfase, anáfase e telófase)/ n° total de células analisadas x 100], índice de aberrações (n° de células com aberrações cromossômicas/ n° total de células analisadas x 100) e índice de mutagenicidade meristemática (n° de células com micronúcleo e quebra/ n° total de células analisadas x 100) (PIRES et al., 2001).

No segundo experimento, foram utilizadas sementes de *P. alata*, provenientes de frutos coletados em pomares no município de São Mateus, Norte do estado do Espírito Santo. As sementes foram extraídas manualmente e beneficiadas com cal virgem, na proporção de 20% em relação ao volume de sementes, para remoção da sarcotesta, lavadas em água corrente, dispostas sobre papel germitest, sob temperatura de 25 °C, por período de 24 horas. Posteriormente, foram escarificadas com auxílio de lixa número 100 e imersas em ácido giberélico (GA₃), 500 mg L⁻¹, durante 24 horas.

As sementes foram dispostas em placas de Petri forradas com duas folhas de papel germitest, umedecidas com cinco mL da solução de biossólido por tratamento, revestidas com plástico transparente e mantidas em BOD sob temperatura alternada de 20-30 °C e fotoperíodo de 8 horas (BRASIL, 2009). O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com 25 sementes por repetição.

Foram analisados: germinação (%), índice de velocidade de germinação (MAGUIRE, 1962) e massa seca das plântulas (mg plântula⁻¹).

Após observadas as pressuposições do teste de normalidade e de homogeneidade de variância, foram empregadas análise de regressão e Kruskal-Wallis, em nível de 5% de probabilidade, por meio do software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2013).

3. Resultados e Discussão

O lodo de esgoto utilizado apresentou propriedades químicas com valores de metais pesados abaixo dos limites estabelecidos pela Conama nº 375 (BRASIL, 2006) (Tabela 1).

Tabela 1. Propriedades químicas, microbiológicas, fracionamento e purificação do carbono orgânico do lodo de esgoto.

Elementos químicos	Concentrações	Limite Conama (BRASIL, 2006)
As (mg kg ⁻¹)	11,2	41
Ba (mg kg ⁻¹)	518,0	1300
Cd (mg kg ⁻¹)	1,4	39
Ca (mg kg ⁻¹)	8221,0	Não específica
Pb (mg kg ⁻¹)	45,4	300
Cu (mg kg ⁻¹)	315,0	1500
Cr (mg kg ⁻¹)	41,1	1000
S (mg kg ⁻¹)	18306,0	Não específica
Mg (mg kg ⁻¹)	3761,0	Não específica
Mn (mg kg ⁻¹)	220,0	Não específica
Hg (mg kg ⁻¹)	2,3	17
Mo (mg kg ⁻¹)	1,4	50
N (mg kg ⁻¹)	5505,0	Não específica
Ni (mg kg ⁻¹)	20,3	420
K (mg kg ⁻¹)	6,5	Não específica
Se (mg kg ⁻¹)	25,3	100
Na (mg kg ⁻¹)	2764,0	Não específica
Zn (mg kg ⁻¹)	738,0	2800
P (%)	0,1	Não específica
C orgânico (%)	6,5	Não específica
MO (%)	11,3	Não específica
MOL (g kg ⁻¹ de C)	203,4	Não específica
AFL (g kg ⁻¹ de C)	0,3	Não específica
AF (g kg ⁻¹ de C)	0,1	Não específica
AH (g kg ⁻¹ de C)	9,8	Não específica

HUMINAS (g kg de C)	311,13	Não específica
C _{TOTAL} (g kg de C)	495,6	Não específica

Legenda: MO = matéria orgânica; MOL = matéria orgânica leve; AFL = ácidos fúlvicos livres; AF = ácidos fúlvicos; HUMINAS = huminas, fração residual; C_{TOTAL} = carbono orgânico total.

A matéria orgânica leve, fração húmica e C_{TOTAL} no lodo de esgoto apresentaram-se elevados. No entanto, as frações AFL e AF apresentaram-se baixas (Tabela 1), sugerindo que além de apresentar composição orgânica favorável à composição química e disponibilidade de nutrientes no solo, o lodo de esgoto possui alta participação de substâncias recalcitrantes.

Com relação aos parâmetros físicos e químicos, o pH das concentrações apresentou-se ascendente a partir da ausência de lodo de esgoto (pH = 7,3) até a concentração de 80 t ha⁻¹ (pH = 12,4) e se estabilizou a partir desta concentração (Figura 1). Conhecer a relação entre a concentração de lodo de esgoto e o pH é de grande importância, visto que a disponibilidade da fração húmica para as plantas pode ser reduzida com o aumento do pH (RAMOS et al., 2015). A condutividade elétrica (EC) comportou-se de forma quadrática em que o valor máximo (3521,6 μS cm⁻¹ g⁻¹) foi observado na concentração de 520 t ha⁻¹ (Figura 1). Esse resultado assemelha-se aos encontrados por Bonini et al. (2015), elevação do pH na presença do biossólido em relação ao controle negativo, e Santos et al. (2014), com o aumento da condutividade elétrica. Bianchi et al. (2011) associaram os metais pesados como Pb, Ni e Cu como responsáveis pelo aumento da condutividade elétrica em amostras de efluentes domésticos, além de oxigênio dissolvido, presença de nitrogênio e compostos fosfatados, que são considerados contaminantes ambientais. Os sais solúveis presentes no lodo de esgoto têm capacidade de afetar negativamente o crescimento de espécies vegetais, havendo redução do potencial osmótico e comprometendo o desenvolvimento das espécies.

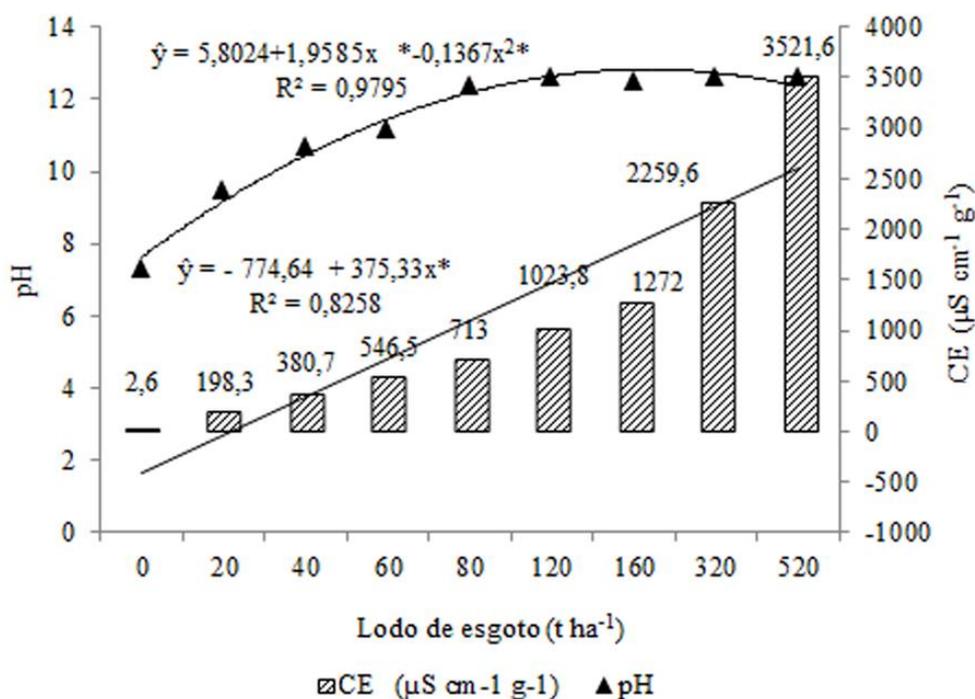


Figura 1. pH e CE (condutividade elétrica) das soluções em função das concentrações de lodo de esgoto. *, ** Significância em nível de 5% e 1 %, respectivamente.

A porcentagem e a velocidade de germinação de *L. sativa* foram reduzidas com o aumento das concentrações de lodo de esgoto, sendo observadas menores médias nas concentrações de 160, 320 e 520 t ha⁻¹ (Figura 2A e B). Estes resultados corroboram com os observados por Martins et al. (2016), na germinação de sementes de *Allium cepa*, em substrato comercial misturado com lodo de esgoto (320 t ha⁻¹) em que houve redução da germinação de 28%, chegando a 56%, na concentração de 520 t ha⁻¹. Com relação ao crescimento radicular, houve comportamento similar, quadrático com menores médias a partir de 160 t ha⁻¹, representando potencial fitotóxico para as plantas (Figura 2 B). Oleszczuk et al. (2015) observaram que as sementes de *Sinapsis alba* (mostarda-branca), apresentaram inibição da germinação de 60%, em solo arenoso tratado com lodo de esgoto (90 t ha⁻¹). De acordo com Wagas et al. (2015), o aumento das concentrações de lodo de esgoto nos solos aumenta sucessivamente a disponibilidade e o acúmulo de elementos tóxicos potenciais (As, Cd, Cu, Pb e Zn) de 15-139% em tomate. Tai et al. (2016) afirmam que o efeito tóxico do lodo de

esgoto é persistente ao longo de anos (35 anos) e que retém grandes reservas de metais pesados. Estes autores verificaram teores indesejáveis de Cd em tecidos de alface e amaranto, quando cultivados em solos tratados com lodo de esgoto e, que a eficiência na absorção deste metal pelas plantas, é uma preocupação com a qualidade e a segurança alimentar.

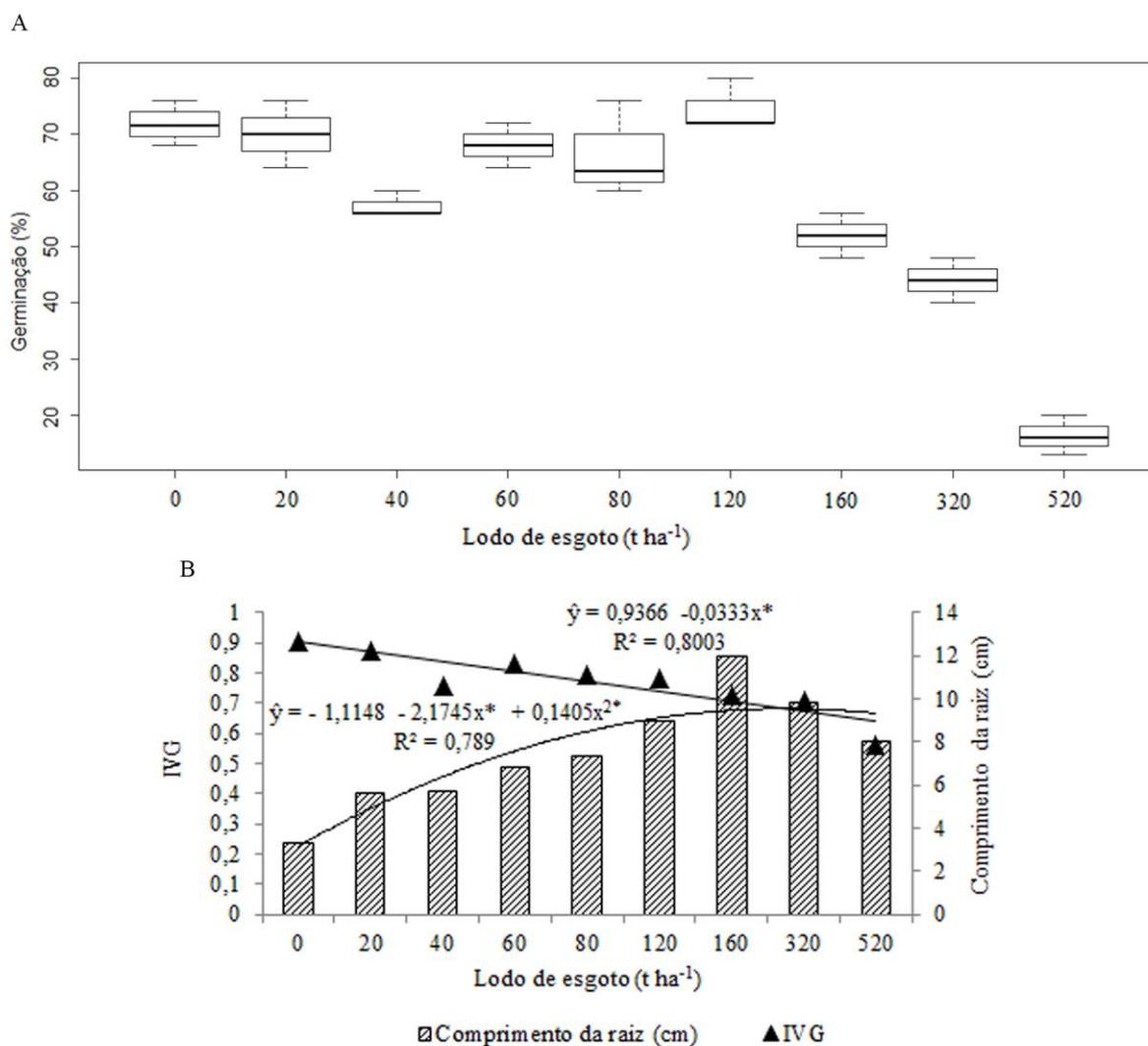


Figura 2. Box-Plot da porcentagem de germinação (A), pelo teste de Kruskal-Wallis, e gráficos do índice velocidade de germinação (IVG) e da curva de crescimento radicular, análise de regressão (B) de *L. sativa* em diferentes concentrações de lodo de esgoto, em nível de 5% de probabilidade. *, ** Significância em nível de 5% e 1 %, respectivamente.

Sobre a concentração de 160 t ha⁻¹ o crescimento radicular de *L. sativa* foi quatro vezes superior, quando comparado ao controle (testemunha) e, isto pode

estar associado à elevada quantidade de matéria orgânica leve e fração húmica no lodo de esgoto (Tabela 1). Entretanto, a redução a partir desta concentração pode ter correlação com os componentes inorgânicos como metais pesados, que são associados à toxidez das plantas por serem reguladores da expressão gênica, e ao pH, que reduz a disponibilidade da fração húmica em função do seu aumento (AMIN et al., 2011; TAIZ; ZEIGER, 2013; CANELLAS et al., 2015; RAMOS et al., 2015).

O desenvolvimento das raízes é influenciado diretamente pela presença de metais nas amostras. O mercúrio (Hg), o cobre (Cu), o níquel (Ni), o chumbo (Pb) e o cádmio (Cd) são considerados potencialmente fitotóxicos para as plantas, o que inibe a germinação e limita o comprimento das raízes (LIU et al., 1992; OUZOUNIDOU et al., 1995). Esses efeitos podem ser provocados por distúrbios que os metais provocam no ciclo celular (ANDRADE et al., 2009).

Considerando os dados de germinação e crescimento inicial de plântulas de *L. sativa* em relação ao observado em *P. alata*, verifica-se que o lodo determina redução na germinação e no crescimento inicial das duas espécies, sendo que em *P. alata* essa redução foi mais acentuada (Figura 3). Esses dados corroboram com aqueles observados por Prado; Natale (2005), que concluíram que lodo de esgoto em doses superiores a 10 t ha⁻¹ promoveu a morte das plantas pela presença de metais e pelo efeito salino provocado por íons de sódio e potássio, e neste estudo, o valor de sódio também apresentou uma concentração bem elevada.

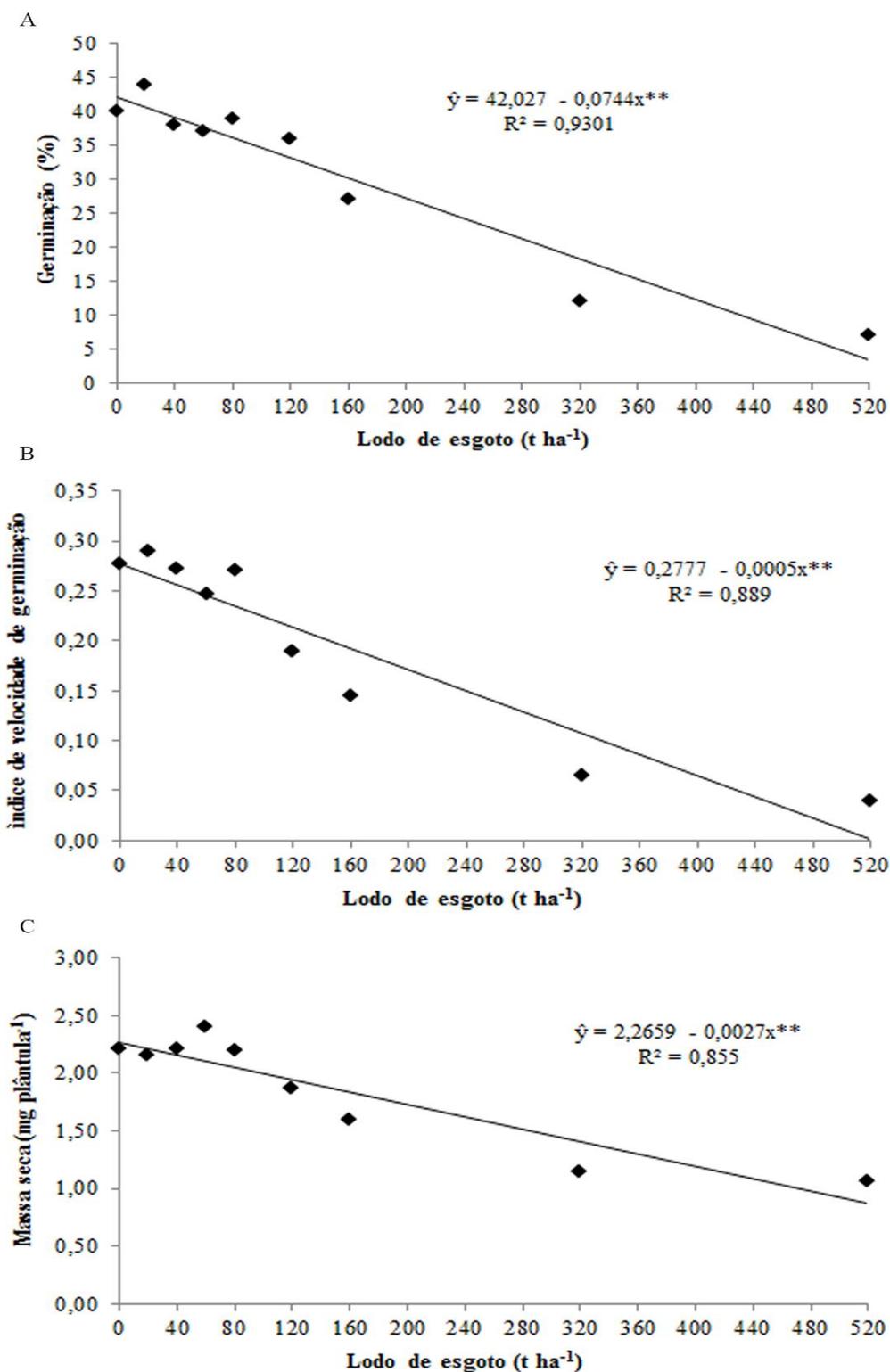


Figura 3. Germinação (%), índice de velocidade de germinação de sementes e massa seca ($mg\ plântula^{-1}$) de *P. alata* em diferentes concentrações de lodo de esgoto, em nível de 5% de probabilidade. *, ** Significância em nível de 5% e 1 %, respectivamente.

Com relação ao ciclo celular, verificou-se que houve redução das células em prófase, metáfase e anáfase e, aumento das células em interfase e telófase, em relação à maior concentração de lodo (Tabela 2). Faschineto et al. (2007) observaram que um grande número de células em interfase está associado ao efeito antiproliferativo das células mitóticas e à diminuição do crescimento radicular. Fato que se assemelha aos resultados obtidos com a redução do comprimento das raízes nas concentrações de 320 e 520 t ha⁻¹ (Figura 2B). O aumento de células em interfase sugere que em virtude dos mecanismos de reparo que as células possuem, estas estão bloqueadas nesta fase para impedir que o processo de mitose ocorra em células com possíveis alterações genéticas (ANDRADE-VIEIRA et al., 2012). Entretanto, as células das raízes das plântulas do tratamento com 520 t ha⁻¹ apresentaram-se rompidas, ao que foi atribuída à toxidez causada pela alta concentração do lodo, não sendo possível analisá-las.

Tabela 2. Divisão mitótica (%/divisão) de células meristemáticas de *L. sativa* em função de diferentes concentrações do lodo de esgoto.

Lodo de esgoto (t ha ⁻¹)	Interfase	Prófase	Metáfase	Anáfase	Telófase
0	67,5	26,53	2,53	3	0,28
20	68,65	25,58	2,8	2,05	0,25
40	72,62	22,4	1,95	1,65	0,3
60	75,76	19,93	1,85	1,15	0,07
80	78,83	17,38	1,42	0,66	0,27
120	84,35	11,31	1,42	1,2	0,35
160	83,51	11	1,18	1,32	0,65
320	72,4	13	0,53	1,32	1,14
520	0	0	0	0	0
Média	980	4527	102	93	25
CV (%)	13,76	3,71	18,9	32,4	41,3

CV (%). Coeficiente de variação.

O aumento da contração de lodo de esgoto determinou redução do índice mitótico até 120 t ha⁻¹, a partir desta concentração não houve diferenças entre os quartis e medianas (Figura 4A). Índices mitóticos menores sugerem alterações celulares derivadas da ação química no crescimento e desenvolvimento dos organismos expostos. Resultados semelhantes foram encontrados por Amin et al.

(2009) ao analisarem as células meristemáticas de *Vicia faba*, nas quais verificaram alterações no fuso mitótico após aplicações de lodo de esgoto no solo.

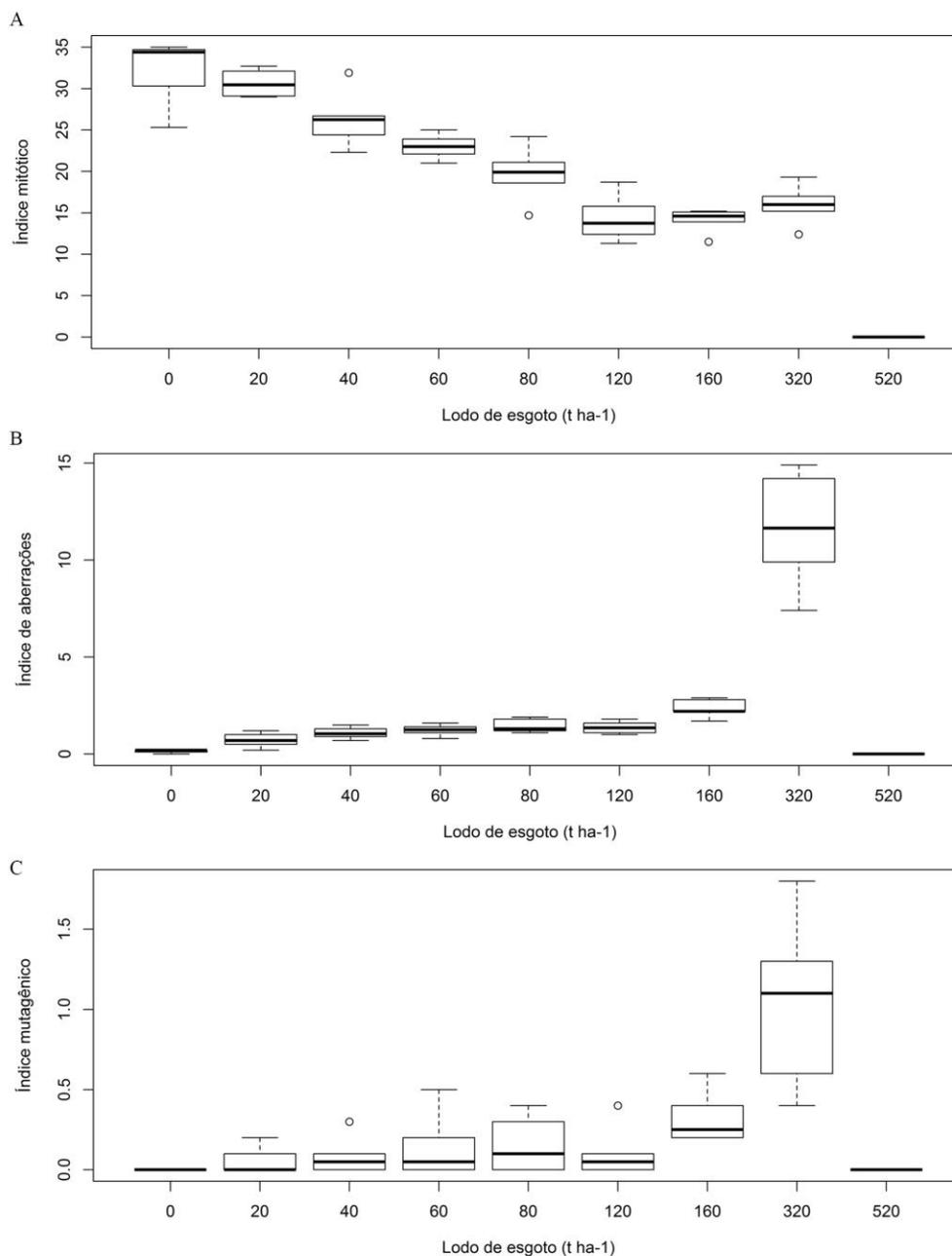


Figura 4. Box-Plot do índice mitótico (A), aberrações cromossômicas (B) e mutagênico (C) de células de *L. sativa*, em função de diferentes concentrações de lodo de esgoto, pelo teste de Kruskal-Wallis, em nível de 5% de probabilidade.

O lodo de esgoto apresenta em sua composição compostos inorgânicos como os metais pesados. Amin (2011) associa a toxicidade do lodo à presença de metais pesados em contato com as plantas. Concordando com a afirmação, Arya et al.

(2013) e Oladele et al. (2013) verificaram diminuição do índice mitótico e aumento das aberrações cromossômicas em *A. cepa* e *Vigna subterraneos* na presença de Pb. Dusman et al. (2014) observaram diminuição do índice mitótico em *A. cepa* a partir de testes com água residuária/esgoto coletados em rios. As alterações no índice de divisão celular podem indicar níveis de poluentes ambientais potencialmente citotóxicos, podendo ocasionar alterações no DNA, o que compromete processos essenciais no metabolismo do organismo (LEME; MARIN-MORALES, 2009; SINGH et al., 2009).

O efeito tóxico das altas concentrações de lodo de esgoto é comprovado pela presença de núcleo condensado (NC) nas células (Tabela 3), pois a maioria dos organismos vivos com o objetivo de eliminar células com danos genéticos, que foram causados em sua maioria por agentes tóxicos, entra em processo de morte celular programada. Sendo o NC um forte indício desse mecanismo, impedindo assim que as células com conteúdo de DNA alterado proliferem e sejam herdadas (DANON et al., 2000; ANDRADE-VIEIRA et al., 2010).

Tabela 3. Frequência de núcleos condensados, micronúcleos, c-metáfase, cromossomo pegajoso, cromossomo perdido e ponte em células meristemáticas de *L. sativa* em função de diferentes concentrações de lodo de esgoto.

Lodo de esgoto (t ha ⁻¹)	NC	MCN	C-Metáfase	Crom. peg.	Crom. per.	Ponte
0	0	0	0,15	0	0	0
20	0,25	0,05	0,23	0,1	0	0,08
40	0,4	0,08	0,45	0	0	0,15
60	0,25	0,13	0,55	0,03	0	0,27
80	0,3	0,15	0,76	0,1	0,04	0,08
120	0,15	0,1	0,82	0,1	0	0,2
160	0,4	0,32	1,02	0,1	0,05	0,45
320	2,49	1,05	7,21	0,37	0,24	0,27
520	0	0	0	0	0	0
Média	32	14	84	6	3	11
CV (%)	0	99,6	46,2	140,9	6,7	64,1

CV (%). Coeficiente de variação; NC. Núcleo condensado; MCN. Micronúcleo; Crom. peg. Cromossomo pegajoso. Crom. perd. Cromossomo perdido.

Verificou-se propriedades genotóxicas do lodo de esgoto com o aumento da frequência de aberrações cromossômicas em *L. sativa* a partir do aumento das concentrações (Figura 4 B), destacadamente na concentração de 320 t ha^{-1} , na qual se observou índice de aberrações 16 vezes maior que no controle negativo.

A genotoxicidade das concentrações foi caracterizada, principalmente, pela indução significativa das alterações C-metáfases, cromossomo pegajoso e pontes (Tabela 3). As aberrações cromossômicas estão associadas diretamente ao arranjo dos microtúbulos, fato observado por Eleftheriou et al. (2012) ao estudarem células meristemáticas de *A. cepa* em contato com Cr. Outro metal que influencia na divisão celular é o Pb, pois em concentração mais elevada é capaz de causar anormalidades cromossômicas em plantas (LAMHAMDI et al., 2011).

De acordo com a presença dessas alterações é possível identificar o mecanismo de ação dos compostos, podendo ser clastogênico, com anormalidades como quebras cromossômicas e pontes ou aneugênico, ocorrendo anomalias como perdas cromossômicas, c-metáfases e cromossomo pegajoso (FENECH, 2000; LEME; MARIN-MORALES, 2009). É possível inferir (Tabela 3) que as concentrações de lodo de esgoto estudadas apresentaram mecanismo de ação aneugênico e clastogênico, mas que sua principal ação é aneugênica. Estes resultados se assemelham aos encontrados por Souza et al. (2013) e Ozkara et al. (2014) ao verificarem efeitos clastogênicos e aneugênico, caracterizados pela presença de diferentes aberrações cromossômicas em células meristemáticas de *A. cepa* sobre tratamentos com vinhaça, um subproduto de cana-de-açúcar.

Os micronúcleos são ótimos indicadores na avaliação do efeito mutagênico (Figura 4 C) de compostos, devido ao fato de ser uma consequência de danos nas células parentais, não reparados ou reparados de forma errada, observados nas células-filha como uma estrutura similar ao núcleo principal, porém em tamanho reduzido (LEME; MARIN-MORALES, 2008).

Desta forma, os resultados encontrados neste trabalho demonstram alterações celulares em nível de DNA com o uso de lodo de esgoto. O micronúcleo pode ser formado por fragmentos cromossômicos ou de cromossomos que tenham sido perdidos inteiros, e dependendo da forma pode inferir se a ação do composto é

aneugênica ou clastogênica (FENECH, 2000; FENECH; CROTT, 2002). Como não foi observada quebra nas alterações pode-se afirmar que os micronúcleos foram formados pela perda de cromossomos inteiros, caracterizando o efeito clastogênico do lodo de esgoto em concentrações mais elevadas (320 e 520 t ha⁻¹).

4. Conclusões

Concentrações superiores a 120 t ha⁻¹ de lodo de esgoto afetam negativamente a germinação e o crescimento inicial das plântulas de *L. sativa* e *P. alata*.

O lodo de esgoto em concentrações mais elevadas (120 t ha⁻¹) determina lesões genéticas em *L. sativa* e alterações cromossômicas e nucleares.

O uso do lodo de esgoto requer estudos de dosagens ideais para as culturas.

5. Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pela concessão de bolsa e Produtividade. Ao professor Dr. Marihus A. Baldoto (Laboratório de Solos - Campus Florestal – UFV) e às professoras Dr^a Adriana M. Á. da S. Conforti e Dr^a Tatiana S. Souza (UFES).

6. Referências

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas, **Amostragem de resíduos sólidos**. NBR 10007. ABNT, Rio de Janeiro. 2004.

AMIN, A. W. Evaluation of the genotoxicity of residual repeated applications of sewage sludge on M2 meiocytes of zea plants. **Research Journal of Environmental Toxicology**, v. 5, n. 1, p. 235-250, 2011.

ANDRADE, L. F.; DAVIDE, L. C.; GEDRAITE, L. S. The effect of cyanide compounds, fluorides, aluminum, and inorganic oxides present in spent pot liner on germination and root tip cells of *Lactuca sativa*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, n. 1, p. 626-631, 2010.

ARYA, S. K.; BASU, A.; MUKHERJEE, A. Lead induced genotoxicity and cytotoxicity in root cells of *Allium cepa* and *Vicia faba*. **Nucleus**, v. 56, n. 3, p. 183-189, 2013.

BIANCHI, J.; ESPINDOLA, E. L. G.; MARIN-MORALES, M. A. Genotoxicity and mutagenicity of water samples from the Monjolinho River (Brazil) after receiving untreated effluents. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, n. 4, p. 826-833, 2011.

BONINI, C. S. B.; ALVES, M. C.; MONTANARI, R. Lodo de esgoto e adubação mineral na recuperação de atributos químicos de solo degradado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, n. 4, p. 388-393, 2015.

CANELLAS, L. P.; OLIVEIRA, F. L.; AGUIAR, N. O.; JONES, D. L.; NEBBIOSO, A.; MAZZEI, P.; PICCOLO, A. Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. **Scientia Horticulturae**, v. 196, n.1, p. 15-27, 2015.

CHRISTOFOLETTI, C. A.; PEDRO-ESCHER, J.; FONTANETTI, C. S. Assessment of the genotoxicity of two agricultural residues after processing by diplopods using the *Allium cepa* assay. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 224, n. 4, p. 1-14, 2013.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente - Conama. 2006. Resolução, N° 375: **Define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências**. 167 ed. Diário Oficial Da União, Brasília, p. 25.

DANON, A.; DELORME, V.; MAILHAC, N.; GALLOIS, P. Plant programmed cell death: a common way to die. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 38, n. 9, p. 647-655, 2000.

DUSMAN, E.; LUZZA, M.; SAVEGNAGO, L.; LAUXEN, D.; VICENTINI, V. E. P.; TONIAL, I. B.; SAUER, T. P. *Allium cepa* L. as a bioindicator to measure cytotoxicity of surface water of the Quatorze River, located in Francisco Beltrão, Paraná, Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 186, n. 3, p. 1793-1800, 2014.

ELEFTHERIOU, E. P.; ADAMAKIS, I. D. S.; MELISSA, P. Effects of hexavalent chromium on microtubule organization, ER distribution and callose deposition in root tip cells of *Allium cepa* L. **Protoplasma**, v. 249, n. 2, p. 401-416, 2012.

FASCHINETO, J. M.; BAGATINI, M. D.; DURIGON, J.; SILVA, A. C. F.; TEDESCO, S. B. Efeito antiproliferativo das infusões de *Achyrocline saturoioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 17, n. 1, p. 49-54, 2007.

FELICIDADE, I.; LIMA, J. D.; PESARINI, J. R.; MONREAL, A. C. D.; MANTOVANI, M. S.; RIBEIRO, L. R.; OLIVEIRA, R. J. Mutagenic and antimutagenic effects of aqueous extract of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) on meristematic cells of *Allium cepa*. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, n. 4, p. 9986-9996, 2014.

FREITAS, A. R.; LOPES, J. C.; ALEXANDRE, R. S.; VENANCIO, L. P.; ZANOTTI, R. F. Emergência e crescimento de mudas de maracujá doce em função de lodo de esgoto e luz. **Comunicata Scientiae**, v. 2, n. 6, p. 234-240, 2015.

GRANT, W. F. Higher plant assays for the detection of chromosomal aberrations and gene mutations-a brief historical background on their use for screening and monitoring environmental chemicals. **Mutation Research**, v. 426, n. 2, p. 107-112, 1999.

GROTTO, D.; CARNEIRO, M. F. H.; SAUER, E.; GARCIA, S. C., MELO, W. J.; BARBOSA J. R. F. Evaluation of biochemical and redox parameters in rats fed with corn grown in soil amended with urban sewage sludge. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 95, n. 3, p. 188-194, 2013.

HOSHINA, M. M.; MARIN-MORALES, M. A. Micronucleus and chromosome aberrations induced in onion (*Allium cepa*) by a petroleum refinery effluent and by river water that receives this effluent. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, n. 8, p. 2090-2095, 2009.

IHSS- International Humic Substances Society (2016). **Products**. Disponível em: <<http://www.humicsubstances.org/whatarehs.html>>. Acessado em 21 de abril de 2016.

KELESSIDIS, A.; STASINAKIS, A. S. Comparative study of the methods used for treatment and final disposal of sewage sludge in European countries. **Waste Management**, v. 32, n. 6, p. 1186-1195, 2012.

LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Washington: OEA: 174p, 1983.

LAMHAMDI, M.; BAKRIM, A.; AARAB, A.; LAFOND, R.; SAYAH, F. Lead phytotoxicity on wheat (*Triticum aestivum* L.) seed germination and seedlings growth. **Comptes Rendus Biologies**, v. 334, n. 2, p. 118-126, 2011.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research**, v. 82, n. 1, p. 71-81, 2009.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. Chromosome aberration and micronucleus frequencies in *Allium cepa* cells exposed to petroleum polluted water - a case study. **Mutation Research**, v. 650, n. 1, p. 80-86, 2008.

MARTINS, M. N. C.; SOUZA, V. V.; SOUZA, T. S. Cytotoxic, genotoxic and mutagenic effects of sewage sludge on *Allium cepa*. **Chemosphere**, v. 148, n. 1, p. 481-486, 2016.

NAGAJYOTI, P. C.; LEE, K. D.; SREEKANTH, T. V. M. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 8, n. 1, p. 199-216, 2010.

LIU, D. H.; JIANG, W. S.; LI, M. X. Effects of cadmium on root growth and cell division of *Allium cepa*. **Acta Scientiae Circumstantiae**, v. 12, n. 1, p. 339-406, 1992.

NASCIMENTO, A. L.; SAMPAIO, R. A.; ZUBA JUNIO, G. R.; FERNANDES, L. A.; CRUZ, S. F.; CARNEIRO, J. P.; BARBOSA, C. F.; LIMA, N. N. Atributos químicos do solo adubado com lodo de esgoto estabilizado por diferentes processos e cultivado com girassol. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 1, p. 146-153, 2014.

OLADELE, O.; ODEIGAH, P. G. C.; TAIWO, I. A. The genotoxic effect of lead and zinc on bambara ground nut (*Vigna subterranean*). **African Journal of Environmental Science and Technology**, v. 7, n. 1, p. 9-13, 2013.

OLESZCZUK, P.; MALARA, A.; JOSKO, I.; LESIUK, A. The phytotoxicity changes of sewage sludge-amended soils. **Water, Air & Soil Pollution**, v. 223, n. 4, p. 4937-4948, 2012.

OUZOUNIDOU, G.; CIAMPOROVA, M.; MOUSTAKAS, M.; KARATAGLIS, S. Responses of maize *Zea mays* L. plants to copper stress - I. Growth mineral content and ultra structure of roots. **Environmental and Experimental Botany**, v. 35, n. 2, p. 167-176, 1995.

OZKARA, A.; AKYIL, D.; EREN, D.; ERDOGMUS, A. F.; KONUK, M.; SAGLAM, E. Assessment of cytotoxic and genotoxic potential of pyracarbolid by *Allium* test and micronucleus assay. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 38, n. 3, p. 1-5, 2014.

PRADO, R. M.; NATALE, W. Desenvolvimento inicial e estado nutricional do maracujazeiro em resposta à aplicação de lodo têxtil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 6, p. 621-626, 2005.

PIRES, N. M.; SOUZA, I. R. P.; PRATES, H. T.; FARIA, T. C. L.; PEREIRA FILHO, I. A.; MAGALHÃES, P. C. Efeito do extrato aquoso de leucena sobre o desenvolvimento, índice mitótico e atividade da peroxidase em plântulas de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, n. 1, p. 55-65, 2001.

RAMOS, A. C.; OLIVARES, F. L.; SILVA, L. S.; AGUIAR, N.O.; CANELLAS, L. P. Humic matter elicits proton and calcium fluxes and signaling dependent on Ca^{2+} dependent protein kinase (CDPK) at early stages of lateral plant root development. **Chemical and Biological Technologies for Agriculture**, v. 2, n. 1, p. 3-8, 2015.

R CORE TEAM R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>, 2013.

SANTOS, F. E. V.; KUNZ, S. H.; CALDEIRA, M. V. W.; AZEVEDO, C. H. S.; RANGEL, O. J. P. Características químicas de substratos formulados com lodo de esgoto para produção de mudas florestais. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, n. 9, p. 971-979, 2014.

SINGH, B. N.; SINGH, B. R.; SINGH, R. L.; PRAKASH, D.; SINGH, D. P.; SARMA, B. K.; UPADHYAY, G.; SINGH, H. B. Polyphenolics from various extracts/fractions of red onion (*Allium cepa*) peel with potent antioxidant and antimutagenic activities. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, n. 6, p. 1161-1167, 2009.

SINGH, R. P.; AGRAWAL, M. Potential benefits and risks of land application of sewage sludge. **Waste Management**, v. 28, n. 1, p. 347-358, 2008.

SOUSA, S. M.; SILVA, O. S.; VICCINI, L. F. Cytogenotoxicity of *Cymbopogon citratus* (DC) stapf (lemon grass) aqueous extracts in vegetal test systems. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 82, n. 2, p. 305-311, 2010.

SOUZA, T. S.; HENCKLEIN, F. A.; ANGELIS, D. F.; FONTANETTI, C. S. Clastogenicity of land farming soil treated with sugar cane vinasse. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 185, n. 2, p. 1627-1636, 2013.

TAI, Y.; LI, Z.; McBRIDE, M. B. Natural attenuation of toxic metal phytoavailability in 35-year-old sewage sludge-amended soil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 188, n. 241, p. 1-8, 2016.

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

WAGAS, M.; LI, G.; KHAN, S.; SHAMSHAD, I.; OAMAR, Z.; CHAO, C. Application of sewage sludge and sewage sludge biochar to reduce polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and potentially toxic elements (PTE) accumulation in tomato. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 16, p. 12114-12123, 2015.

CAPÍTULO V

Metais pesados em folhas e frutos de *Passiflora alata* Curtis cultivada em lodo de esgoto

Metais pesados em folhas e frutos de *Passiflora alata* Curtis cultivada em lodo de esgoto

RESUMO

O tratamento do esgoto industrial tem como consequência a grande produção de um resíduo sólido, o lodo de esgoto, que tem sido utilizado há diversos anos na agricultura como fonte de nutrientes por ser rico em matéria orgânica e elementos químicos que apresentam potencial de impactar negativamente a saúde humana ao entrar na cadeia alimentar. Objetivou-se com este trabalho analisar o acúmulo de metais pesados em folhas e frutos de *Passiflora alata* Curtis (maracujazeiro doce) cultivada sobre lodo de esgoto. As plantas foram cultivadas em Latossolo Vermelho Amarelo (solo puro) e Latossolo Vermelho Amarelo corrigido com calcário e enriquecido com lodo. Após a maturação dos frutos foi realizada a coleta de folhas e frutos e avaliadas as variáveis de crescimento e determinadas as concentrações de arsênio (As), bário (Ba), cádmio (Cd), cromo (Cr) e chumbo (Pb). O uso do lodo de esgoto eleva a concentração de elementos essenciais e matéria orgânica do solo e favorece o crescimento durante o desenvolvimento das plantas. O lodo de esgoto apresenta potencial tóxico quanto ao acúmulo de metais pesados em folhas e frutos de maracujazeiro doce.

Palavras-chave: biossólido; maracujazeiro doce; nutrientes; toxidez.

1. Introdução

O aumento do volume de resíduos sólidos proveniente do tratamento de esgoto e seu uso benéfico e seguro é uma das principais preocupações ambientais e desafios em nível mundial, em função do aumento estipulado da população para o futuro (PATHAK et al., 2009; HOSSAIN et al., 2015). No Brasil, o tratamento do esgoto industrial tem como consequência a grande produção de resíduo sólido, o lodo de esgoto. Esse resíduo tem sido utilizado na agricultura como fonte de nutrientes por ser rico em matéria orgânica e elementos químicos (LOPES et al., 2005; LOBO et al., 2012; MAGNA et al., 2014; FREITAS et al., 2015). Contudo, essa forma de destinação coloca implicações sobre o potencial ambiental causadas pelo lodo de esgoto, a partir de seus teores de matéria mineral e metais pesados, podendo gerar potencial de impactar a saúde humana ao entrar na cadeia alimentar, por bioacumulação, quando distribuídos em solos agrícolas, causando distúrbios metabólicos e doenças crônicas em seres humanos (BRASIL, 2006; LI et al., 2012; MAGNA et al., 2014; BERILLI et al., 2015; LOBO; GRASSI FILHO, 2015). Para tanto, o lodo deve atender aos requisitos necessários quanto à concentração de metais pesados e patógenos, em conformidade com a resolução, que determina as concentrações limites de metais, as cargas cumulativas máximas permitidas para a aplicação em solos agrícolas, presença de patógenos e as espécies para as quais o seu uso é recomendado (BRASIL, 2006).

Os metais pesados são elementos químicos que possuem densidade maior que 5 g cm^{-3} ou número atômico maior que 20 (MALAVOLTA, 1994). Alguns desses elementos podem ser extremamente tóxicos às plantas e aos seres vivos como o arsênio (As), o bário (Ba), o cádmio (Cd), o chumbo (Pb) e o cromo (Cr). Apresentando riscos ambientais quanto à toxicidade a partir do seu uso intenso mesmo em baixas concentrações (GOMES et al., 2013; MAGNA et al., 2015; VIEIRA et al., 2015). Considerados uma das principais formas de ingestão de metais pesados pelos seres vivos, os alimentos podem ser uma via de disseminação e bioacumulação de metais extremamente danosa (PANDEY; SHARMA, 2002; CHAPIN; CREASY, 2012; GONZÁLEZ-WELLER et al., 2013) podendo atingir o sistema nervoso, órgãos hepáticos (fígado e rins) e sistema endócrino. Além disso, podem inibir as atividades enzimáticas essenciais, induzir a geração de espécies reativas de oxigênio nas células microbianas e alterar a estrutura das comunidades microbianas (TAIZ; ZEIGER, 2013).

A *Passiflora alata* Curtis apresenta-se no Brasil como uma importante espécie de potencial econômico, produtivo e alternativa para diversificação de cultivo agrícola. Seu sabor adocicado e frutos de aparência atrativa promovem a grande aceitação no mercado consumidor. A espécie apresenta crescimento satisfatório quando cultivada sobre solo enriquecido com lodo de esgoto como fonte de nutrientes (FREITAS et al., 2015). No entanto, não há informações sobre o acúmulo de metais pesados em folhas e frutos desta espécie.

Desta forma, objetivou-se com este trabalho analisar o acúmulo de metais pesados em folhas e frutos de *P. alata* cultivada sobre lodo de esgoto.

2. Material e Métodos

O experimento foi conduzido na propriedade rural Ponte da Braúna, distrito de Rive, Município de Alegre-ES, 20° 45'S e 41° 29'W e altitude de 138 metros. O clima da região é tropical, com verões úmidos e quentes.

Foram utilizadas mudas de maracujazeiro doce oriundas de sementes extraídas de frutos coletados em pomares do município de Alegre-ES. As mudas foram cultivadas sobre dois tratamentos: Latossolo Vermelho Amarelo (solo puro) e Latossolo Vermelho Amarelo corrigido com calcário (caleado) e enriquecido com lodo (80 t ha⁻¹) (solo + lodo), sendo mantidas sob sol pleno (850 μmol m⁻² s⁻¹) por 50 dias após a emergência.

O lodo de esgoto utilizado foi coletado de acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) NBR 10007 (ABNT, 2004) em outubro de 2014, na Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) da Companhia Espírito Santense de Saneamento (CESAN) de Joana Dark, município de Vitória-ES, cujas análises revelaram a composição química e orgânica (Tabela 1). O lodo foi peneirado em malha de quatro mm, e em seguida, acondicionado nas covas juntamente com o calcário de PRNT 93% (SB 80%), por 30 dias, perfazendo os tratamentos: Latossolo Vermelho Amarelo (solo puro) e Latossolo Vermelho Amarelo corrigido com calcário (caleado) e enriquecido com lodo (80 t ha⁻¹) (solo + lodo).

Após o período sob condições de viveiro, as mudas foram transferidas para covas de 40x40x40 cm dispostas em espaçamento de quatro metros entre plantas e três metros entre fileiras. As plantas foram conduzidas em haste única até 11 meses após o plantio, deixando apenas uma brotação, oposta a haste principal sobre o fio do sistema de condução de espaldeira. Após esse período foram despontadas,

padronizando o comprimento da haste principal em 1,80 metros e posteriormente, foi realizada a condução dos cordões laterais, e destes os verticais, formando a condução em cortina, sendo avaliadas por 20 meses a partir do plantio.

Após a maturação dos frutos foi realizada a coleta de folhas e frutos e avaliadas as variáveis: diâmetro do fruto (mm); espessura do mesocarpo (mm); peso do fruto (g); número de frutos e sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix), utilizando-se um refratômetro analógico. Amostras de folhas e frutos foram analisadas no Laboratório Quimiplan, Vila Velha-ES, onde foram determinadas as concentrações de arsênio (As), bário (Ba), cádmio (Cd), cromo (Cr) e chumbo (Pb), por espectrofotometria de absorção atômica com chama ar/acetileno, marca ICP-OES, modelo/modelo Optima 2100 DV/ Perkin Elmer; Potência: 1300 W; fluxo do gás de purga: 2,5 L min⁻¹; fluxo do gás do plasma: 15 L min⁻¹; fluxo do gás auxiliar: 0,2 L min⁻¹; fluxo do gás nebulizador: 0,5 L min⁻¹; tipo de nebulizador: ciclônico; visão do plasma: axial. Os comprimentos de ondas utilizados foram de 193,696 nm (As); 455,403 nm (Ba); 228,802 nm (Cd); 267,716 nm (Cr) e 220,353 nm (Pb).

Observadas as pressuposições do teste de normalidade e de homogeneidade de variância, a comparação de médias foi feita pelo teste t, em nível de 5% de probabilidade.

3. Resultados e Discussão

Todos os metais pesados presentes no lodo de esgoto apresentavam-se abaixo do limite máximo determinado pela Conama 375 (BRASIL, 2006) (Tabela 1).

Tabela 1. Propriedades químicas e orgânicas do lodo de esgoto.

Elementos químicos	Concentrações	Limite Conama (BRASIL, 2006)
As (mg kg ⁻¹)	11,2	41
Ba (mg kg ⁻¹)	518,0	1300
Cd (mg kg ⁻¹)	1,4	39
Ca (mg kg ⁻¹)	8221,0	Não específica
Pb (mg kg ⁻¹)	45,4	300
Cu (mg kg ⁻¹)	315,0	1500
Cr (mg kg ⁻¹)	41,1	1000
S (mg kg ⁻¹)	18306,0	Não específica
Mg (mg kg ⁻¹)	3761,0	Não específica
Mn (mg kg ⁻¹)	220,0	Não específica
Hg (mg kg ⁻¹)	2,3	17
Mo (mg kg ⁻¹)	1,4	50
N (mg kg ⁻¹)	5505,0	Não específica
Ni (mg kg ⁻¹)	20,3	420
K (mg kg ⁻¹)	6,5	Não específica
Se (mg kg ⁻¹)	25,3	100
Na (mg kg ⁻¹)	2764,0	Não específica
Zn (mg kg ⁻¹)	738,0	2800
P (%)	0,1	Não específica
C orgânico (%)	6,5	Não específica
MO (%)	11,3	Não específica

Legenda: MO = matéria orgânica.

O tratamento com calcário e lodo de esgoto apresentou benefícios à composição química do solo. Após 21 meses, a partir do tratamento com calcário e lodo, verificou-se a redução do pH e aumento das concentrações do P, K, Ca, Mg, MO (matéria orgânica), SB e CTC (Tabela 2).

Tabela 2. Valores médios da composição química do solo puro e do solo tratado com calcário e lodo de esgoto após 21 meses.

TRAT	pH (H ₂ O)	P	K	Ca	Mg	Al
		mg dm ⁻³		-----cmol _c dm ⁻³ -----		
SP	5,0 a*	4,0 b	13,9 b	1,9 b	1,1 a	0,1 a
S+L	5,9 a	11,0 a	53,0 a	3,9 a	1,3 a	0,0 a
	H+Al	SB	CTC	t	MO	V
	-----cmol _c dm ⁻³ -----				g kg ⁻¹	%
SP	3,5 a	3,4 a	6,90 b	3,50 a	6,9 b	49,4 b
S+L	3,0 a	5,39 a	8,39 a	5,39 a	20,3 a	64,2 a

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si, em nível de 5% de probabilidade pelo teste de t. Legenda: Trat. Tratamento; SP. Solo puro; S+L. Solo + Lodo de esgoto.

A maior concentração de P, K, Ca e Mg disponíveis no solo favorece o crescimento das espécies vegetais em função de serem elementos essenciais às plantas (TAIZ; ZEIGER, 2013). Além disso, o Ca e o Mg são importantes bases trocáveis no solo (VIANA; KIEHL, 2010) e a CTC efetiva e matéria orgânica favorecem a maior disponibilidade de nutrientes (TRANNIN et al., 2008). Pesquisas demonstram o benefício proporcionado pelo lodo de esgoto quanto às características químicas, físicas e biológicas, causando impactos positivos a na comunidade microbiana, elevação da matéria orgânica, maior capacidade de troca catiônica e teor de nutrientes (MATTANA et al., 2014; ALVARENGA et al., 2015). O crescimento satisfatório de maracujazeiro doce com o uso de lodo de esgoto pode estar associado à capacidade de enriquecimento e disponibilidade química dos elementos essenciais às plantas (FREITAS et al., 2015). Todavia, após avaliarem as características químicas de solos tratados com lodo de esgoto, os autores afirmam que há acúmulo no solo de compostos não essenciais (metais pesados) acima do limite proposto pela legislação (ALVARENGA et al., 2015).

Verifica-se que o uso do lodo de esgoto favoreceu o crescimento dos frutos do maracujazeiro doce; em que o diâmetro, peso e número de frutos apresentaram médias superiores, quando comparado ao solo puro (Figura 1). Não houve

diferenças nas variáveis SS ($^{\circ}$ Brix) e espessura do mesocarpo dos frutos em relação aos solos utilizados.

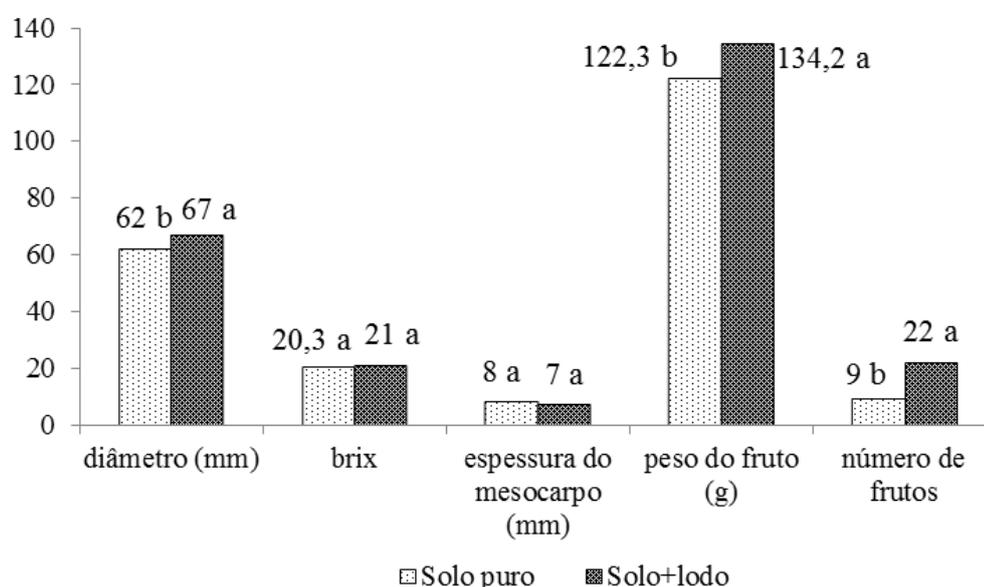


Figura 1. Diâmetro (mm), SS ($^{\circ}$ Brix), espessura do mesocarpo (mm), peso (g) e números de frutos por planta de maracujazeiro doce cultivado em solo puro e tratado com lodo de esgoto. *Médias seguidas de mesma letra entre as barras dos tratamentos dentro de cada característica avaliada, não diferem entre si, em nível de 5% de probabilidade pelo teste de t.

A disponibilidade de elementos essenciais para a planta proporciona condições para maior crescimento. Maior número de frutos e frutos com tamanhos maiores também foram observados em tomateiros cultivados sobre solos tratados com lodo de esgoto (HOSSAIN et al., 2015).

A concentração de As nas folhas e frutos apresentou-se abaixo de $0,025 \text{ mg L}^{-1}$, não sendo possível a detecção pelo método de espectrofotometria de absorção atômica (Figura 2). Contudo, com base na RDC N $^{\circ}$ 42 (BRASIL, 2013), a concentração limite aceitável para As em folhas e frutos é de $0,1$ e $0,3 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente. Dessa forma, não houve indícios de acúmulo desse elemento em nível de toxidez.

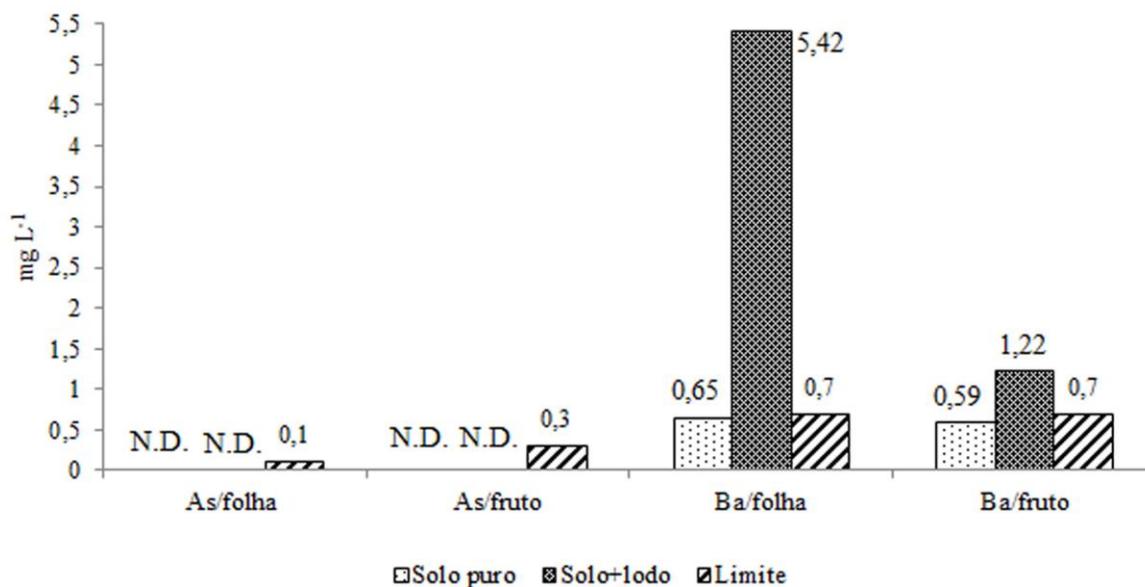


Figura 2. Concentração de As e Ba em folhas e frutos de maracujazeiro doce cultivado em solo puro e tratado com lodo de esgoto. As médias foram comparadas pelo teste t, em nível de 5% de probabilidade. Legenda: Limite do As baseado na RDC N° 42 (BRASIL, 2013); Limite do Ba baseado na Conama N° 375 (BRASIL, 2006); N.D.: não detectado.

Verificou-se que a concentração de Ba foi de 5,42 mg L⁻¹, nas folhas, e de 1,22 mg L⁻¹, nos frutos. Concentrações que excedem o limite estabelecido pela Resolução da Conama 375 (BRASIL, 2006) de 0,7 mg L⁻¹ para folhas e frutos (Figura 2), em 7,74 e 1,74 vezes, respectivamente. Este fato é justificado porque o Ba presente em solos contaminados pode ser translocado com facilidade e acumulado em folhas de espécies vegetais. E o seu acúmulo pode afetar o equilíbrio endócrino em seres humanos, além de ocasionar dores abdominais, diarreia, vômitos, ansiedade, astenia, náuseas, agitação, sudorese, tremores, dificuldade respiratória, arritmia cardíaca e crises convulsivas (CHANG et al., 2009; LI et al., 2011). No cultivo de milho sobre solos tratados com lodo por período de nove anos foi observado um aumento da concentração de Ba na espiga e nos grãos (NOGUEIRA et al., 2010).

As concentrações de Cd (0,076 mg L⁻¹) e Pb (1,7 mg L⁻¹) nas folhas foram maiores que o limite estabelecido pela RDC N° 42 (BRASIL, 2013) (0,05 mg L⁻¹ e 0,3 mg L⁻¹, respectivamente) (Figura 3), excedendo em 1,52 e 5,66 vezes. Não há

especificação quanto à concentração de Cr em folhas na legislação brasileira. No entanto, verifica-se que no solo tratado com lodo de esgoto o valor foi de $1,09 \text{ mg L}^{-1}$, cerca de duas vezes o valor quantificado no solo puro ($0,55 \text{ mg L}^{-1}$) (Figura 3).

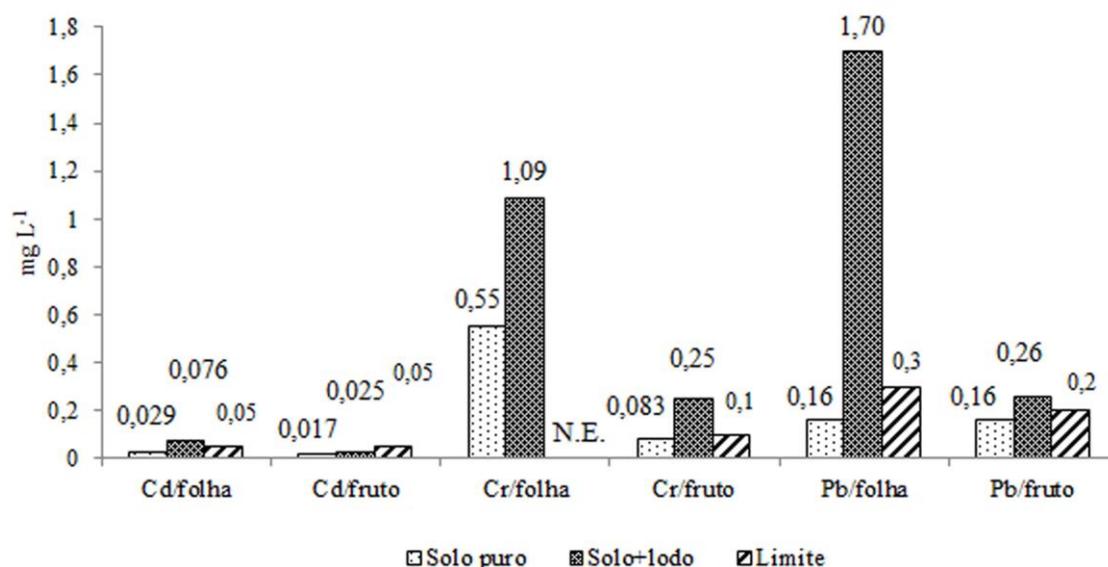


Figura 3. Concentração de Cd, Cr e Pb em folhas e frutos de maracujazeiro doce cultivado em solo puro e tratado com lodo de esgoto. As médias foram comparadas pelo teste t, em nível de 5% de probabilidade. Legenda: Limite do Cd baseado na RDC N° 42 (BRASIL, 2013); Limite do Cr baseado na RDC N° 55871 (BRASIL, 1965); Limite do Pb baseado na RDC N° 42 (BRASIL, 2013);; N.D.: não detectado; N.E.: não especificado.

Nos frutos, o Cd apresentou-se abaixo ($0,025 \text{ mg L}^{-1}$ em solo + lodo) do limite estabelecido pela RDC N° 42 (BRASIL, 2013) ($0,05 \text{ mg L}^{-1}$). Todavia, em frutos de maracujazeiro doce os valores verificados para o Cr ($0,25 \text{ mg L}^{-1}$) e o Pb ($0,26 \text{ mg L}^{-1}$) foram acima do limite estabelecido pela legislação brasileira de $0,1$ e $0,2 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente.

O lodo de esgoto é um material com composição química e biológica variável por região, épocas e procedimento de estabilização. Além disso, a bioacumulação de metais pelas plantas é variável em função de sua especificação química, solubilidade, condição física e química do solo (GU et al., 2012). De acordo com Song et al. (2014), plantas cultivadas com lodo de esgoto podem apresentar variação ou inibição do acúmulo de metais pesados em seus tecidos verdes em

virtude da temperatura e lixiviação de metais pesados para o solo. Desta forma seriam necessários maiores condicionantes quanto ao uso do lodo de esgoto em virtude do potencial tóxico que apresentam. O acúmulo de metais pesados em plantas de tomate foi maior ao utilizar 10 t ha⁻¹ de lodo de esgoto, quando comparado a outros fertilizantes orgânicos, sendo verificada concentração de Cd acima do limite permitido em alimentos na Austrália (HOSSAIN et al., 2015). Os autores afirmam que a razão provável é o tipo industrial de lodo de esgoto utilizado nos experimentos, visto que o Cd é um metal comumente usado para aplicações industriais, tais como a fundição de metais e fabricação de baterias.

Concentrações de Cr acima do limite foram observadas em folhas e frutos de *Phaseolus vulgaris*, sendo verificado também o acúmulo de outros elementos não essenciais (Cd, Cr, Cu e Pb) (KUMAR; CHOPRA, 2013). A mobilidade e acúmulo de Cd e Cu foi maior que Pb em folhas de gramíneas cultivadas sobre solo tratado com lodo de esgoto (WOLEJKO et al., 2013). Tratamento do solo com lodo de esgoto promoveu taxas elevadas de acúmulo de Pb, Cr, Cd, Cu, e Ni em *Beta vulgaris*, que se tornaram potencialmente tóxicas para o consumo humano (SINGH; AGRAWAL, 2007). Analisando o acúmulo de As, Cd, Pb, Cr e Hg em seis espécies de hortaliças folhosas sobre solo tratado com lodo de esgoto, Chang et al. (2014) verificaram que o Cd teve a maior capacidade de transferência de solo para as plantas, com valores 30 vezes superiores aos Hg e 50 vezes aos Cr e Pb. Todavia, os autores ressaltam que se faz necessário novos estudos e maior acompanhamento às crianças, devido à sua maior sensibilidade aos poluentes metálicos, mesmo que as concentrações encontradas no trabalho tenham sido abaixo do limite estabelecido pela legislação chinesa. O conteúdo acumulado de Cu, Zn e Pb em plantas de trigo ultrapassou o limite que determina a segurança alimentar na China, sendo considerado um fator de risco, haja vista que as plantas apresentaram crescimento satisfatório (DAI et al., 2014).

Verifica-se a partir desta pesquisa e outros estudos que há o acúmulo de metais pesados em espécies vegetais cultivadas sobre solo tratado com lodo de esgoto, mesmo que alguns metais estejam abaixo do limite estabelecido pela legislação para o solo, se faz necessário maiores estudos sob as condições de campo, características químicas, translocação, seu acúmulo no solo e na planta, em longo prazo, em virtude do seu potencial tóxico como produto agrícola, para evitar consequências negativas em alimentos destinados ao consumo humano.

4. Conclusões

O lodo de esgoto da Estação de Tratamento de Esgoto da Companhia Espírito Santense de Saneamento (CESAN) de Joana Dark, município de Vitória - ES apresenta níveis de metais pesados abaixo dos limites estabelecidos pela Conama, e são considerados adequados para a sua utilização na agricultura.

A caleação do lodo e a sua aplicação no solo é benéfica para melhorar a sua composição química.

O uso do lodo de esgoto eleva a concentração de elementos essenciais e matéria orgânica do solo.

Há acúmulo de metais pesados e folhas e frutos de maracujazeiro cultivados com lodo de esgoto.

As concentrações de Ba, Cd e Pb, para folha, e Ba, Cr e Pb, para fruto de maracujazeiro doce apresentaram-se acima do limite estabelecido pela legislação brasileira.

Não se deve utilizar lodo de esgoto na cultura do maracujazeiro doce.

O maracujá doce cultivado em solos tratados com lodo de esgoto não deve ser consumido na dieta alimentar.

5. Agradecimentos

Os autores agradecem à Estação de Tratamento de Esgoto da Companhia Espírito Santense de Saneamento (CESAN) de Joana Dark, Vitória-ES pela cessão do lodo de esgoto e ao Conselho Nacional e Desenvolvimento Científico (CNPq) pela bolsa de produtividade em pesquisa.

6. Referências

ALVARENGA, P.; MOURINHA, C.; FARTO, M.; SANTOS, T.; PALMA, P.; SENGO, J.; MORAIS, M. C.; CUNHA-QUEDA, C. Sewage sludge, compost and other representative organic wastes as agricultural soil amendments: Benefits *versus* limiting factors. **Waste Management**, v. 40, n. 2, p. 44-52, 2015.

BERILLI, S. S.; BERILLI, A. P. C. G.; CARVALHO, A. J. C.; FREITAS, S. J.; CUNHA, M.; FONTES, P. S. F. Níveis de cromo em mudas de café conilon desenvolvidas em

substrato com lodo de curtume como adubação alternativa. **Coffee Science**, v. 10, n. 3, p. 320-328, 2015.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente - Conama. 2006. Resolução, Nº 375: **Define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências.**, 167 ed. Diário Oficial Da União, Brasília, p. 25.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. 1965. Decreto Nº 55.871: **Modifica o Decreto n. 50.040, de 24 de janeiro de 1961, referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto nº 691, de 13 de março de 1962.** Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, Seção 1.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. 2013. Decreto, Nº 42: **Regulamento técnico Mercosul sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos.** Nº 168, Diário Oficial Da União, Brasília, 2013. p. 3.

CHANG, C. Y.; YU, H. Y.; CHEN, J. J.; LI, F. B.; ZHANG, H. H.; LIU, C. P. Accumulation of heavy metals in leaf vegetables from agricultural soils and associated potential health risks in the Pearl River Delta, South China. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 188, n. 3, p. 1547-1560, 2014.

CHANG, H. S.; CHOO, K. H.; CHO, S. J. The methods of identification, analysis, and removal of endocrine disrupting compounds (EDCs) in water. **Journal of Hazardous Materials**, v. 172, n. 1, p. 1-12, 2009.

CHAPIN, R. E.; CREASY, D. M. Assessment of circulating hormones in regulatory toxicity studies II. Male reproductive hormones. **Toxicologic Pathology**, v. 40, n. 7, p. 1063-1078, 2012.

DAI, L.; PENG, B. L.; WEI, B. G.; MA, G. Effects of land application of municipal sewage sludge on growth, physiology and accumulation of heavy metals in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Advanced Materials Research**, v. 878, n. 1, p. 647-656, 2014.

FREITAS, A. R.; LOPES, J. C.; ALEXANDRE, R. S.; VENANCIO, L. P.; ZANOTTI, R. F. Emergência e crescimento de mudas de maracujá doce em função de lodo de esgoto e luz. **Comunicata Scientiae**, v. 6, n. 2, p. 234-240, 2015.

GOMES, A. C. S.; LINDINO, C. A.; GONÇALVES JR., A. C.; GOMES, G. D. Determinação de Cd, Cr e Pb no leite e na alimentação bovina do Brasil. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 72, n. 3, p. 211-218, 2013.

GONZÁLEZ-WELLER, D.; RUBIO, C.; GUTIÉRREZ, Á. J.; MESA, J. M. C.; GIRONÉS, C. R.; OJEDA, A. B.; HARDISSON, A. Dietary intake of barium, bismuth, chromium, lithium, and strontium in a Spanish population (Canary Islands, Spain). **Food and Chemical Toxicology**, v. 62, n. 2, p. 856-868, 2013.

GU, C.; BAI, Y.; TAO, T.; CHEN, G. SHAN, Y. Effect of sewage sludge amendment on heavy metal uptake and yield of Ryegrass seedling in a Mudflat soil. **Journal of Environmental Quality**, v. 42, n. 2, p. 421-428, 2012.

HOSSAIN, M. K.; STREZOV, V.; NELSON, P. F. Comparative assessment of the effect of wastewater sludge biochar on growth, yield and metal bioaccumulation of cherry tomato. **Pedosphere**, v. 25, n. 5, p. 680-685, 2015.

KUMAR, V.; CHOPRA, A. K. Accumulation and translocation of metals in soil and different parts of french bean (*Phaseolus vulgaris* L.) amended with sewage sludge. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 92, n. 1, p. 103-108, 2013.

LI, G. Y.; HU, N.; DING, D. X.; ZHENG, J. F.; LIU, Y. L.; WANG, Y. D.; NIE, X. Q. Screening of plant species for phytoremediation of uranium, thorium, barium, nickel, strontium and lead contaminated soils from a uranium mill tailings repository in south China. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 86, n. 6, p. 646-652, 2011.

LI, Q.; GUO, X. Y.; XU, X. H.; ZUO, Y. B.; WEI, D. P.; MA, Y. B. Phytoavailability of copper, zinc and cadmium in sewage sludgeamended calcareous soils. **Pedosphere**, v. 22, n. 1, p. 254-262, 2012.

LOBO, A. T. F.; GRASI FILHO, H. Efeito de elementos tóxicos em função do lodo de esgoto na cultura do girassol. **Revista Verde**, v. 10, n. 1, p. 136-142, 2015.

LOBO, T. F.; GRASSI FILHO, H.; BÜLL, L. T. Efeito do nitrogênio e do lodo de esgoto nos fatores produtivos do feijoeiro. **Revista Ceres**, v. 59, n. 1, p. 118-124, 2012.

LOPES, J. C.; RIBEIRO, L. G.; ARAÚJO, M. G.; BERALDO, M. R. B. S. Produção de alface com doses de lodo de esgoto. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 1, p. 143-147, 2005.

MAGNA, G. A. M.; MACHADO, S. L.; PORTELLA, R. B.; CARVALHO, M. F. Avaliação da exposição ao Pb e Cd em crianças de 0 a 17 anos por consumo de alimentos vegetais cultivados em solos contaminados no município de Santo Amaro (BA). **Engenharia Sanitária e Ambiente**, v. 19, n. spe, p. 3-12, 2014.

MALAVOLTA, E. **Fertilizantes e seu impacto ambiental: metais pesados, mitos, mistificação e fatos**. São Paulo: PRODUQUÍMICA, 1994, 153p.

MATTANA, S.; PETROVICOVÁ, B.; LANDI, L.; GELSOMINO, A.; CORTÉS, P.; ORTIZ, O.; RENELLA, G. Sewage sludge processing determines its impact on soil microbial community structure and function. **Applied Soil Ecology**, v. 75, n. 1, p. 150-161, 2014.

NOGUEIRA, T. A. R.; MELO, W. J.; FONSECA, I. M.; MARQUES, M. O.; HE, Z. Barium uptake by maize plants as affected by sewage sludge in a long-term field study. **Journal of Hazardous Materials**, v. 181, n. 1, p. 1148-1157, 2010.

OLIVEIRA, L. B.; ACCIOLY, A. M. A.; NASCIMENTO, C. W. A.; SANTOS, C. L. R.; FLORES, R. A.; BARBOSA, F. S. Estado nutricional e teores de metais pesados em plantas de alface adubadas com compostos orgânicos. **Bioscience Journal**, v. 30, sup. 1, p. 199-209, 2014.

PANDEY, N.; SHARMA, C. P. Effect of heavy Co^{2+} , Ni^{2+} and Cd^{2+} on growth and metabolism of cabbage. **Plant Science**, v. 163, n. 1, p. 753-758, 2002.

PATHAK, A.; DASTIDAR, M. G.; SREEKRISHNAN, T. R. Bioleaching of heavy metals from sewage sludge: a review. **Journal of Environmental Management**, v. 90, n. 2, p. 2343-2353, 2009.

SINGH, R. P.; AGRAWAL, M. Effects of sewage sludge amendment on heavy metal accumulation and consequent responses of *Beta vulgaris* plants. **Chemosphere**, v. 67, n. 11, p. 2229-2240, 2007.

SONG, X. D.; XUE, X. Y.; CHEN, D. Z.; HE, P. J.; DAL, X. H. Application of biochar from sewage sludge to plant cultivation: Influence of pyrolysis temperature and biochar-to-soil ratio on yield and heavy metal accumulation. **Chemosphere**, v. 109, n. 1, p. 213-220, 2014.

TRANNIN, I. C.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Atributos químicos e físicos de um solo tratado com biossólido industrial e cultivado com milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 12, n. 3, p. 223-230, 2008.

VIANA, E. M.; KIEHL, J. C. Doses de nitrogênio e potássio no crescimento do trigo. **Bragantia**, v. 69, n. 4, p. 975-982, 2010.

VIEIRA, L. R.; CORRÊA, E. S.; MORAES, B. S.; ROSSATO, M. V.; VESTENA, S. Toxicidade de cádmio em plantas. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 19, n. 2, p. 1574-1588. 2015.

WANG, L.; ZHANG, Y.; LIAN, J.; CHAO, J. GAO, Y.; YANG, F.; ZHANG, L. Impact of fly ash and phosphatic rock on metal stabilization and bioavailability during sewage sludge vermicomposting. **Bioresource Technology**, v. 136, n. 1, p. 281-287, 2013.

WOLEJKO, E.; WYDRO, U.; BUTAREWICZ, A.; LOBODA, T. Effects of sewage sludge on the accumulation of heavy metals in soil and in mixtures of lawn grasses. **Environment Protection Engineering**, v. 39, n. 2, p. 67-76, 2013.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A descrição morfológica das estruturas vegetais em todas as etapas de desenvolvimento da *P. alata* pode subsidiar estudos em diversas áreas agrárias. A baixa porcentagem de germinação pode ser justificada pela presença de compostos capazes de inibir a germinação da própria semente e apresentar lento processo de embebição a partir do modelo trifásico de absorção de água. A presença dos compostos inibidores não foi superada com a colheita dos frutos em diferentes estádios de maturação, mas foi possível identificar o estágio de desenvolvimento mais adequado para a colheita e para preservar a qualidade fisiológica das sementes. O método de propagação vegetativa por estacas é uma alternativa simples, de baixo custo e muito eficiente para a produção de mudas da espécie com maior qualidade.

O uso do lodo de esgoto na agricultura apresenta pontos relevantes e que justificam seu uso. Todavia, é um resíduo a ser utilizado com maior moderação. Concentrações elevadas podem afetar negativamente a germinação das sementes de maracujazeiro doce. Além disso, podem determinar lesões genéticas, alterações cromossômicas e nucleares mesmo estando dentro dos parâmetros químicos determinados pela legislação brasileira, em que são considerados adequados para a sua utilização na agricultura.

Conhecer o comportamento do crescimento, da absorção e do acúmulo de metais pesados quando cultivados sobre lodo é de grande importância. Após aplicação de lodo no solo na concentração de 80 t ha⁻¹ houve acúmulo de metais pesados em frutos e folhas, acima do limite estabelecido pela legislação brasileira alimentar, oferecendo elevado grau de risco de acúmulo no organismo humano a partir da ingestão de partes da planta.