

## Fitotoxicidade do chumbo na germinação e crescimento inicial de alface em função da anatomia radicular e ciclo celular<sup>1</sup>

*Lead phytotoxicity on germination and early growth of lettuce as a function of root anatomy and cell cycle*

Marcio Paulo Pereira<sup>2\*</sup>, Fabricio José Pereira<sup>3</sup>, Luiz Carlos de Almeida Rodrigues<sup>4</sup>,  
Sandro Barbosa<sup>5</sup>, Evaristo Mauro de Castro<sup>6</sup>

**Resumo** - Objetivou-se com esse trabalho avaliar a fitotoxicidade de cinco concentrações de chumbo na germinação, anatomia radicular, e divisão celular de alface. Cipselas de alface foram colocadas em placas de Petri com papel de filtro e 2,5 mL de solução contendo 0,0; 0,5; 1,0; 2,0 e 5,0 mM de  $Pb(NO_3)_2$ . As placas permaneceram em câmara do tipo B.O.D. a 25°C com fotoperíodo de 12 h, sendo avaliadas as seguintes variáveis: germinação, crescimento inicial, anatomia radicular, índice mitótico e frequência de anormalidades cromossômicas no meristema apical radicular. O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e regressão. A germinação das sementes e o crescimento inicial das plântulas foram reduzidos proporcionalmente ao aumento nas concentrações de chumbo. A anatomia radicular apresentou reduções nas barreiras apoplásticas e modificações do xilema relacionadas com um aumento na condutividade hidráulica na presença de chumbo. O índice mitótico foi reduzido e as anormalidades cromossômicas foram aumentadas na presença das diferentes concentrações de chumbo. O sistema radicular da alface foi mais afetado que a parte aérea pelas doses de chumbo e os sintomas de fitotoxicidade mostraram-se relacionados a redução no índice mitótico do meristema apical radicular e maior condução de chumbo para a parte aérea.

**Palavras-chave** - Bioindicadores. Citogenética. *Lactuca sativa*. Metais pesados. Mudanças estruturais.

**Abstract** - This work aimed to evaluate the phytotoxicity of five lead concentrations on germination, root anatomy and cell cycle of lettuce. Lettuce cypselae were placed in Petri dishes covered with filter paper and 2.5 mL of solution containing 0.0, 0.5, 1.0, 2.0 and 5.0 mM of  $Pb(NO_3)_2$ . Dishes were maintained in growth chamber B.O.D. type at 25°C and photoperiod of 12 h, the following variables were evaluated: germination percentage, early growth, root anatomy, mitotic index and the rate of chromosomal abnormalities on root apical meristem. The seed germination and seedlings early growth were both reduced proportionally to the increase in lead concentrations. The root anatomy showed decreases in apoplastic barriers and modifications on the xylem related to the increase of hydraulic conductivity in the presence of lead. There were reductions in the mitotic index and an increase in chromosomal abnormalities under the different lead concentrations. Therefore, the lettuce root system were more affected by lead concentrations and the phytotoxicity symptoms are related to the reductions on mitotic index on root apical meristem and anatomical modifications related to higher lead translocation to plant shoots.

**Key words** - Bioindicators. Cytogenetics. Heavy metals. *Lactuca sativa*. Structural changes.

\*Autor para correspondência

<sup>1</sup>Enviado para publicação em 01/08/2012 e aprovado em 11/09/2012

<sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada, Departamento de Biologia, UFLA-MG, Lavras, Brasil, marciopaulop@hotmail.com

<sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada, Departamento de Biologia, UFLA-MG, Lavras, Brasil, fabriciopereira@dbi.ufla.br

<sup>4</sup>Programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada, Departamento de Biologia, UFLA-MG, Lavras, Brasil, rodrigues.lca@gmail.com

<sup>5</sup>Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Tecnologia Ambiental, Instituto de Ciências da Natureza UNIFAL-MG, Alfenas, Brasil, sandro@unifal-mg.edu.br

<sup>6</sup>Programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada, Departamento de Biologia, UFLA-MG, Lavras, Brasil, evaristomcastro@gmail.com.

## Introdução

A contaminação dos solos por metais pesados se destaca entre os problemas ambientais devido ao intenso uso desses elementos pela indústria e agricultura, sendo o chumbo (Pb) considerado um poluente devido seu efeito tóxico para plantas e animais (GRATÃO *et al.*, 2005; SHEN *et al.*, 2002). O Pb é utilizado desde a antiguidade sendo que a partir do século XIX ganhou notoriedade como poluente ambiental. Além dos processos naturais, a contaminação do ambiente por Pb é resultado de atividades como: mineração, fundição, uso de combustíveis fósseis, defensivos agrícolas, indústria de baterias e outras atividades industriais (SHARMA; DUBEY, 2005).

Estudos sobre a absorção do Pb por plantas têm demonstrado que esse elemento pode causar efeitos fisiológicos, bioquímicos e estruturais levando as plantas a apresentarem sintomas visuais e outros efeitos como a redução do crescimento das raízes ou de toda a planta, clorose foliar, modificações nas atividades enzimáticas e na fotossíntese (VERMA; DUBEY, 2003; GAUTAM *et al.*, 2011). O Pb também pode inibir ou reduzir a germinação de sementes (LAMHAMDI *et al.*, 2011; AHMAD *et al.*, 2011), e modificar características anatômicas como, por exemplo, aumento no número de estômatos e na condutância estomática e redução no tamanho dos feixes vasculares (KOSOBROUKHOV *et al.*, 2004). Contudo, essas modificações são ainda pouco estudadas em plantas não tolerantes.

Plantas sensíveis às substâncias tóxicas podem ser utilizadas como organismos teste para a avaliação e monitoramento de contaminantes ambientais. A alface (*Lactuca sativa* L. - Asteraceae) tem sido amplamente utilizada em testes de fitotoxicidade (DING *et al.*, 2009) e genotoxicidade (MONTEIRO *et al.*, 2009; EOM *et al.*, 2007) devido à sua sensibilidade e representatividade, e ainda por ser amplamente cultivada no mundo todo. De acordo com Campos *et al.* (2008) a avaliação de danos sobre o complemento cromossômico da alface é favorecida pelo fato da espécie possuir características citogenéticas estáveis e bem definidas, como cromossomos grandes e em número reduzido ( $2n = 2x = 18$ ).

A restrição do crescimento radicular e germinação devido à fitotoxicidade ao Pb podem ser relacionados com diminuição das divisões celulares dos meristemas apicais radiculares ou produção de anormalidades cromossômicas, assim como por modificações anatômicas radiculares. Dessa forma, objetivou-se com esse trabalho avaliar a fitotoxicidade do Pb na germinação, anatomia radicular e ciclo celular de alface sob cinco concentrações desse elemento.

## Material e métodos

Os experimentos foram conduzidos no município de Alfenas – MG. As concentrações de Pb foram determinadas com base na Resolução n° 420 de 2009 do CONAMA que trata dos limites para a deposição de Pb em solos. Os tratamentos constituíram das concentrações 0,5; 1,0; 2,0 e 5,0 mM, de  $Pb(NO_3)_2$ , sendo esses valores estabelecidos como: concentrações acima dos valores de prevenção e dos limites aceitáveis de Pb para os ambientes agrícola, residencial e industrial, respectivamente; e a ausência de  $Pb(NO_3)_2$  como solução controle.

Foram colocadas 25 cipselas (MARZINEK *et al.*, 2008) de alface (*Lactuca sativa* L. - cultivar ‘Grand Rapids’) em placas de Petri contendo duas folhas de papel de filtro, e 2,5 mL de cada solução contendo as diferentes concentrações de  $Pb(NO_3)_2$ . As placas foram mantidas em câmara tipo B.O.D. a 25°C com fotoperíodo de 12 h. O percentual de germinação foi avaliado após 24 horas, contando-se o número de sementes germinadas em cada parcela experimental.

Após 72 h foram feitas as avaliações de crescimento inicial, pesando-se em balança analítica a massa fresca de dez plântulas por repetição, escolhidas ao acaso. O comprimento da raiz de dez plântulas por repetição foi avaliado utilizando um paquímetro digital. O delineamento foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições. A parcela experimental foi constituída por 25 cipselas de alface.

As análises anatômicas foram feitas aos sete dias após o início do experimento, fixando as plântulas de alface em F.A.A.<sub>70%</sub> (KRAUS; ARDUIM, 1997). As secções transversais das raízes foram feitas utilizando micrótomo de mesa (modelo LPC) e para a montagem das lâminas semi-permanentes as secções foram clarificadas com hipoclorito de sódio 50% ( $v v^{-1}$ ) e corados com safrablau (safranina 0,1% e azul de Astra 1,0% na proporção de 7:3) segundo método proposto por Kraus e Arduim (1997). O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado composto de cinco lâminas para cada tratamento das quais foram fotomicrografadas quatro secções de cada lâmina e mensurados três campos de cada secção. As lâminas foram digitalizadas, utilizando microscópio óptico Zeiss Microimaging GmbH Scope.A1, e as imagens analisadas em software UTHSCSA-Imagetool.

Para as avaliações citogenéticas, após 24 h do início do experimento, as raízes das plântulas de cada tratamento foram coletadas, fixadas em Carnoy (álcool etílico P.A. e ácido acético glacial na proporção de 3:1) e armazenadas em freezer a -18°C. As lâminas foram confeccionadas pelo método de esmagamento (TECHIO *et al.*, 2010). Para tanto, os meristemas apicais foram hidrolisados com ácido

clorídrico 5,0 N a 25°C e corados com reagente de Schiff. Foram avaliadas 3000 células/tratamento para a avaliação do índice mitótico e anormalidades cromossômicas. As anormalidades cromossômicas quantificadas foram constituídas de micronúcleos, c-metáfases, pontes cromossômicas, cromossomos perdidos e pegajosos (*Stickiness*). O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado com cinco tratamentos, 30 repetições para o índice mitótico e 15 para anormalidades cromossômicas.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas com auxílio do programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2003) utilizando regressão linear ou o teste de Scott-knott ao nível de 5% de significância.

## Resultados e discussão

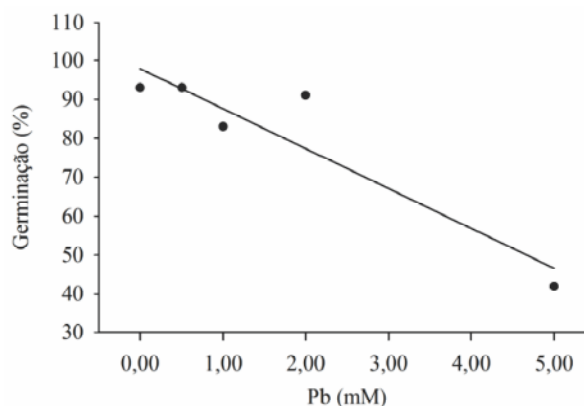
Ocorreu uma queda no percentual de germinação de alface inversamente proporcional à concentração de Pb. O ajuste do modelo de regressão ocorreu de forma significativa apenas para a equação de primeira ordem descrita pelo parâmetro linear (Tabela 1). Dessa forma, o comportamento da equação foi linear (Figura 1) corroborando os resultados do teste de F.

A permeabilidade a metais pesados em sementes está muitas vezes relacionada a estrutura do tegumento da semente (WIERZBICKA; OBIDZIŃSKA, 1998). Dessa forma, a germinação da alface é mais afetada em concentrações mais altas devido à proteção promovida pelo pericarpo e o tegumento da semente, restringindo a entrada de Pb (em concentrações mais baixas). Portanto, com o aumento das concentrações de Pb ocorre aumento da entrada desse metal nas sementes afetando o embrião e, conseqüentemente, diminuindo proporcionalmente o percentual de germinação (Figura 1).

**Tabela 1** – Resumo da análise de variância para as variáveis estudadas durante a germinação e o crescimento inicial de *Lactuca sativa* exposta a concentrações crescentes de  $Pb(NO_3)_2$

F.V.	GL	Quadrado médio	
		GER <sup>1/</sup>	MSR <sup>2/</sup>
Concentração	4	1911,200*	1,464*
Linear	1	6635,850*	5,409*
Quadrático	1	634,305 <sup>ns</sup>	0,007 <sup>ns</sup>
Resíduo	15	343,466	0,296
C.V. (%)		23,05	12,27

<sup>1/</sup>GER = germinação; <sup>2/</sup>MSR = massa seca da raiz; \* - significativo a 1% de probabilidade de erro pelo teste F; ns = não significativo.



**Figura 1** – Percentual de germinação de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes concentrações de  $Pb(NO_3)_2$ .  $\hat{y} = 97,8196 - 10,2468 \cdot x$ ,  $R^2 = 86,80$ .

Ocorreu uma redução significativa na massa seca da raiz (Tabela 1), na massa fresca e comprimento da raiz (Tabela 2) inversamente proporcional à concentração de Pb (Figura 2 e 3).

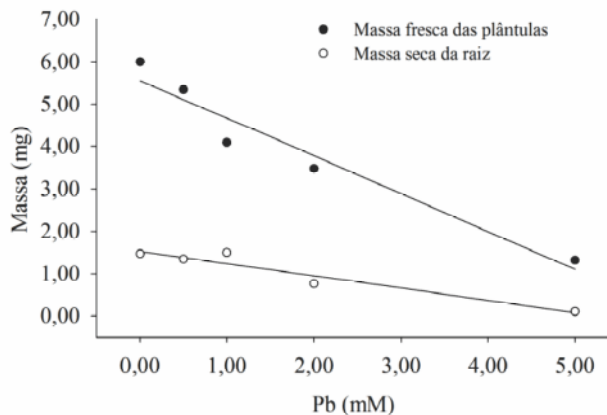
A produção de plântulas anormais foi evidenciada nas concentrações acima de 1,0 mM, com redução drástica do sistema radicular (Figura 4). Essa redução no crescimento radicular pode afetar o crescimento de toda a plântula por restringir a absorção de água e nutrientes. As restrições no crescimento das plântulas, estão provavelmente relacionados aos efeitos fitotóxicos do Pb que podem levar à inibição da atividade enzimática, instabilidade de membranas com modificações prejudiciais na fisiologia das plântulas de alface (LAMHAMDI *et al.*, 2011). Além dos efeitos tóxicos do Pb, elementos químicos em excesso podem promover redução no crescimento da alface (ARAÚJO *et al.*, 2011).

O crescimento das plântulas é geralmente mais sensível aos efeitos dos metais pesados do que a

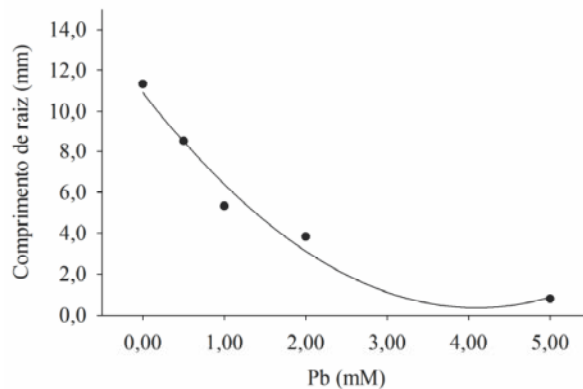
**Tabela 2** – Resumo da análise de variância para as variáveis estudadas durante o crescimento inicial de *Lactuca sativa* exposta a concentrações crescentes de  $Pb(NO_3)_2$

F.V.	GL	Quadrado médio	
		MFP <sup>1/</sup>	CR <sup>2/</sup>
Concentração	4	132,389*	670,285*
Linear	1	500,585*	2193,708*
Quadrático	1	20,302*	415,208*
Resíduo	195	2,059	8,714
C.V. (%)		14,45	21,07

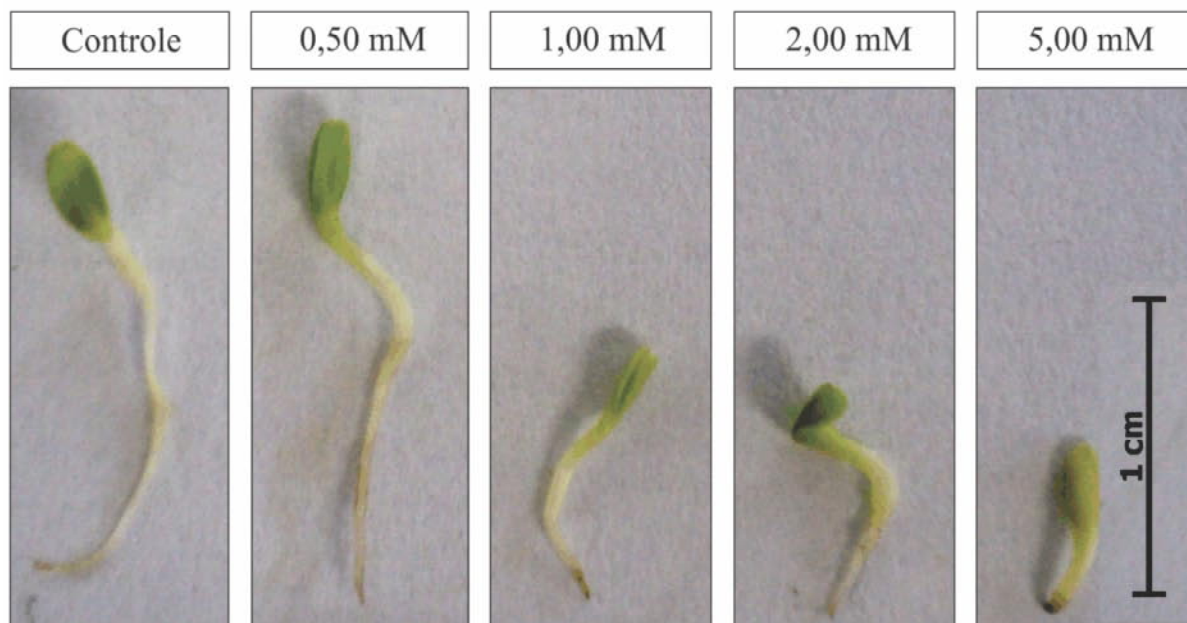
<sup>1/</sup>MFP = massa fresca das plântulas; <sup>2/</sup>CR = comprimento de raiz; \* - significativo a 1% de probabilidade de erro pelo teste F.



**Figura 2** – Massa seca da raiz e massa fresca de plântulas de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes concentrações de  $Pb(NO_3)_2$ . Massa fresca  $\hat{y} = 5,5559 - 0,8899x$ ,  $R^2 = 0,9455$ . Massa seca da raiz  $\hat{y} = 1,5324 - 0,2926x$ ,  $R^2 = 0,9234$ .



**Figura 3** – Comprimento de raiz de plântulas de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes concentrações de  $Pb(NO_3)_2$ .  $\hat{y} = 10,926 - 5,1613x + 0,6299x^2$ ,  $R^2 = 0,9731$ .



**Figura 4** – Plântulas de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes concentrações de  $Pb(NO_3)_2$ .

germinação das sementes, embora possa haver exceções como, por exemplo, o cádmio, que em alguns casos inibe tanto a germinação quanto o crescimento das plântulas (LI, *et al.* 2005; KRANNER; COLVILLE, 2011). Assim, as características de germinação e crescimento são adequadas para testes de fitotoxicidade do Pb utilizando a alface como organismo teste, pois tanto a germinação quanto o crescimento das plântulas foram reduzidos durante a exposição.

A presença de Pb em solução durante o crescimento inicial induziu modificações significativas na anatomia

radicular da alface, havendo um aumento proporcional e linear (Tabela 3) na espessura da exoderme e diminuição da endoderme em função do aumento da concentrações de Pb (Figura 5).

A exoderme e a endoderme atuam como barreiras apoplásticas (CASTRO *et al.*, 2009) limitando parcialmente a absorção do Pb. Contudo, essa barreira provavelmente não foi suficiente para restringir a absorção de Pb pelas raízes de alface, devido aos efeito fitotóxicos observados. A restrição na translocação de água e solutos das raízes para a parte aérea das plantas está relacionada

**Tabela 3** – Resumo da análise de variância para as variáveis anatômicas estudadas durante o crescimento inicial de *Lactuca sativa* exposta a concentrações crescentes de  $Pb(NO_3)_2$ 

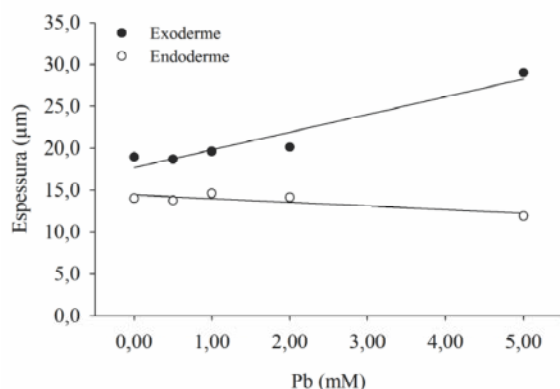
F.V.	GL	Quadrado médio			
		EXO <sup>1/</sup>	END <sup>2/</sup>	DET <sup>3/</sup>	IC <sup>4/</sup>
Concentração	4	925,657*	51,448*	221,078*	0,623*
Linear	1	3464,575*	147,331*	827,299*	44,271*
Quadrático	1	223,402 <sup>ns</sup>	44,792 <sup>ns</sup>	0,676 <sup>ns</sup>	0,015 <sup>ns</sup>
Resíduo	235	36,186	11,120	17,652	0,048
C.V. (%)		28,32	24,36	15,99	6,76

<sup>1/</sup>EXO = exoderme; <sup>2/</sup>END = endoderme; <sup>3/</sup>DET = diâmetro dos elementos traqueais; <sup>4/</sup>IC = índice de Carlquist; \* = significativo a 1% de probabilidade de erro pelo teste F; <sup>ns</sup> = não significativo.

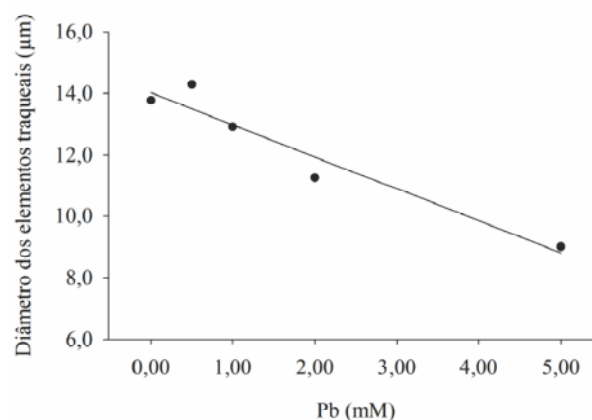
com o espessamento da endoderme (CASTRO *et al.*, 2009). Dessa forma, os efeitos fitotóxicos observados na presença de chumbo podem estar relacionados com uma redução da endoderme (Figura 5) e maior fluxo de Pb para a parte aérea das plântulas de alface.

O diâmetro dos elementos traqueais do xilema apresentou valores menores à medida que a concentração de Pb aumentou (Figura 6), provocando a diminuição do índice de vulnerabilidade de Carlquist (Figura 7).

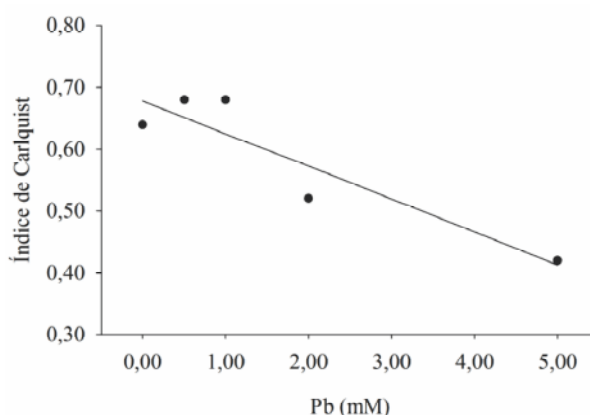
De acordo com Castro *et al.* (2009) a diminuição desse índice possibilita uma melhora na condutividade hidráulica reduzindo a vulnerabilidade do sistema vascular à cavitação. Além disso, esse índice pode modificar em função da presença de elementos tóxicos como relatado por Pereira *et al.* (2011) em raízes de plantas de aguapé cultivadas na presença de arsênio. Outro fator relacionado a esse índice, é que este pode ser modificado em função de estresses ambientais e melhorar a condutividade hidráulica das raízes (PEREIRA *et al.*, 2008; SOUZA *et al.*, 2009).



**Figura 5** – Espessura da exoderme e endoderme de plântulas de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes concentrações de  $Pb(NO_3)_2$  - Exoderme  $\hat{y} = 17,687 + 2,1144x$ ,  $R^2 = 0,9282$  Endoderme  $\hat{y} = 14,43 - 0,44x$ ,  $R^2 = 0,716$ .



**Figura 6** – Diâmetro dos elementos traqueais de plântulas de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes concentrações de  $Pb(NO_3)_2$  -  $\hat{y} = 14,028 - 1,0447x$ ,  $R^2 = 0,9358$ .



**Figura 7** – Índice de Carlquist de plântulas de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes concentrações de  $Pb(NO_3)_2$ .  $\hat{y} = 0,6782 - 0,053x$ ,  $R^2 = 0,8469$ .



Ao que parece, o aumento das concentrações fez com que o sistema vascular apresentasse maior capacidade de translocação do Pb para a parte aérea em função de um maior fluxo no xilema, promovendo efeitos tóxicos nas plântulas de alface e restrições no crescimento.

A ocorrência de anormalidades cromossômicas apresentou um comportamento quadrático significativo (Tabela 4) em que há um aumento da frequência até uma concentração próxima de 2,0 mM de Pb, sofrendo um decréscimo a partir dessa concentração (Figura 8 e Tabela 5).

Alterações estruturais nos cromossomos podem ser induzidas por vários fatores como a quebra da molécula de DNA, e a inibição da sua síntese (LEME; MARIN-MORALES, 2009). Anormalidades como pontes e quebras cromossômicas são indicadoras de uma ação clastogênica (alteração estrutural cromossômica), enquanto perdas cromossômicas, adesões (*Stickiness*) e c-metáfases resultam de efeitos aneugênicos (alteração no conjunto cromossômico). Embora tenha sido detectada alguma atividade clastogênica, pode-se considerar o efeito

**Tabela 4** – Resumo da análise de variância para anormalidades cromossômicas de *Lactuca sativa* exposta a concentrações crescentes de  $Pb(NO_3)_2$

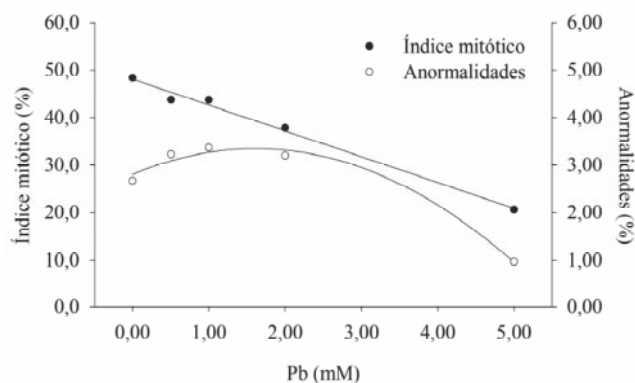
F.V.	GL	Quadrado médio
		AC <sup>1/</sup>
Concentração	4	14,938*
Linear	1	41,605*
Quadrático	1	17,202*
Resíduo	70	1,401
C.V (%)		15,83

<sup>1/</sup>AC = anormalidades cromossômicas; \* - significativo a 1% de probabilidade de erro pelo teste F.

**Tabela 5** – Frequência relativa (%) de anormalidades cromossômicas observadas em raízes de alface submetidas a cinco diferentes concentrações de solução contaminada com  $Pb(NO_3)_2$  (mM)

[Pb] (mM)	Frequência relativa de anormalidades cromossômicas (%)				
	MIC <sup>1/</sup>	CM <sup>2/</sup>	PONTE <sup>3/</sup>	CP <sup>4/</sup>	STICK <sup>5/</sup>
Controle	22,33	16,44	9,97	22,53	28,73
0,5 mM	23,76	20,32	8,19	19,54	28,19
1,0 mM	05,90	51,17	2,90	21,23	18,79
2,0 mM	17,49	36,56	3,45	27,37	15,13
5,0 mM	37,22	47,78	0,00	11,67	03,33

<sup>1/</sup>MIC = Micronúcleo; <sup>2/</sup>CM = C-metáfase; <sup>3/</sup>PONTE = Ponte cromossômica; <sup>4/</sup>CP = Cromossomo perdido; <sup>5/</sup>STICK = Cromossomo pegajoso (*Stickiness*).



**Figura 8** – Índice mitótico e anormalidades cromossômicas de *Lactuca sativa* submetidas a diferentes concentrações de  $Pb(NO_3)_2$ . Índice mitótico  $y = -5,4302x + 48,078$ ,  $R^2 = 0,9909$ . Anormalidades  $\hat{y} = 2,8044 + 0,6751x - 0,2089x^2$ ,  $R^2 = 0,9844$ .

do Pb sobre a alface como sendo predominantemente aneugênico. Portanto, a produção de plântulas anormais observadas na presença de Pb, apresentando deformações no sistema radicular, pode ser relacionada à anormalidades cromossômicas que levaram à problemas durante o desenvolvimento desse órgão no vegetal.

Observou-se um decréscimo do índice mitótico com efeito linear (Tabela 6) significativo, inversamente proporcional à concentração de Pb (Figura 8), demonstrando que o aumento da concentração do metal implica na inibição da divisão celular da região meristemática das raízes de alface.

O índice mitótico do meristema apical radicular está estreitamente relacionando com o crescimento de raízes (ADAM; El-ASHRY, 2010), uma vez que essa zona meristemática é a responsável pela produção de novas células. Andrade *et al.* (2010) avaliaram a citogenotoxicidade de resíduos sólidos gerados pela indústria produtora de alumínio sobre alface e observaram

**Tabela 6** – Resumo da análise de variância para o índice mitótico de *Lactuca sativa* exposta a concentrações crescentes de  $Pb(NO_3)_2$

F.V.	GL	Quadrado médio IM <sup>1/</sup>
Concentração	4	3526,376*
Linear	1	13976,711*
Quadrático	1	20,566 <sup>ns</sup>
Resíduo	145	18,882
C.V (%)		11,19

<sup>1/</sup>IM = índice mitótico, \* = significativo a 1% de probabilidade de erro pelo teste F, <sup>ns</sup> = não significativo.

redução tanto no índice mitótico quanto na frequência de anormalidades cromossômicas. Hoshina e Marin-morales (2009) afirmam que, modificações no índice mitótico são bons indicadores de poluição ambiental, especialmente na avaliação de substâncias com potencial citotóxico como o Pb.

Observou-se neste estudo que uma parte da inibição do crescimento radicular na presença de Pb nas plântulas de alface, advém da restrição dessas divisões celulares.

## Conclusões

A presença de Pb altera os padrões de divisão celular induzindo a ocorrência de anormalidades cromossômicas em meristemas apicais de raízes de alface;

Os efeitos fitotóxicos do Pb são mais evidentes tanto no crescimento inicial da raiz como na germinação, ocorrendo diminuição do crescimento radicular promovida, em parte, pela redução nas divisões celulares da zona meristemática;

A solução contaminada com chumbo, nas condições deste experimento, promove modificações anatômicas radiculares em plântulas de alface;

A sensibilidade da alface ao Pb possui relação com a restrição de crescimento do sistema radicular e com a manutenção da translocação do Pb para a parte aérea da planta.

## Literatura científica citada

ADAM, F. I. M.; EL-ASHRY, Z. M. Evaluation of genotoxicity of 4-n-nonylphenol using *Vicia faba* L. **Journal of Biological Sciences**, v.10, n.4, p.368-372, 2010.

ARAÚJO, W. F.; SOUSA, K. T. S.; VIANA, T. V. A.; AZEVEDO, B. M.; BARROS, M. M.; MARCOLINO, E. Resposta da alface a adubação nitrogenada. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 5, n. 1, p. 12-17, 2011.

AHMAD, M. S. A.; ASHRAF, M.; TABASSAM, Q.; HUSSAIN, M.; FIRDOUS, H. Lead (Pb)-Induced regulation of growth, photosynthesis, and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) plants at early growth stages. **Biological trace element research**, v.144, n.1-3, p.1229-1239, 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*. **Ecotoxicological and Environmental Safety**, v.73, n.4, p.626-631, 2010.

CAMPOS, J. M. S.; DAVIDE, L. C.; SOARES, G. L. G.; VICCINI, L. F. Mutagenic effects due to allelopathic action of fern (Gleicheniaceae) extracts. **Allelopathy Journal**, v.22, n. 1, p.143-152, 2008.

CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J.; PAIVA, R. **Histologia vegetal: estrutura e função de órgãos vegetativos**. Lavras: UFLA, 2009. 126p.

DING, L.; JING, H.; QIN, B.; QI, L.; LI, J.; WANG, T.; LIU, G. Regulation of cell division and growth in roots of *Lactuca sativa* L. seedlings by the ent-kaurene diterpenoid rabdosin B. **Journal of Chemical Ecology**, v.36, n.5, p.553-563, 2009.

EOM, I. C.; RAST, C.; VEBER, A. M.; VASSEUR, P. Ecotoxicity of a polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated soil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.67, n.2, p.190-205, 2007.

FERREIRA, D. F. **Programa de análises estatísticas (Statistical Analysis Software) e planejamento de experimentos, SISVAR**. Lavras: UFLA, 2003.

GRATÃO, P. L.; PRASAD, M. N. V.; CARDOSO, P. F.; LEA, P. J.; AZEVEDO, R. A. Phytoremediation: green technology for the clean up of toxic metals in environment. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.17, n.1, p.53-64, 2005.

GAUTAM, M.; SINGH, A. K.; JOHRI, R. M. Impact of lead contaminated water on root morphology of tomato and brinjal. **Indian Journal of Horticulture**, v.68, n.4, p.512-515, 2011.

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.

KOSOBROUKHOV, A.; KNYAZEVA, I.; MUDRIK, V. *Plantago major* plants responses to increase content of lead in soil: Growth and photosynthesis. **Plant Growth Regulation**, v.42, n.2, p.145-151, 2004.

KRANNER, I.; COLVILLE, L. Metals and seeds: Biochemical and molecular implications and their significance for seed germination." **Environmental and Experimental Botany**, v.72, n.1, p. 93-105, 2011.

- KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: 1997. 198p.
- 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.682, n.1, p.71-81, 2009.
- LI, W.; KHAN, M. A.; YAMAGUCHI, S.; KAMIYA, Y. Effects of heavy metals on seed germination and early seedling growth of *Arabidopsis thaliana*. **Plant Growth Regulation**, v.46, n.1, p.45-50, 2005.
- MARZINEK, J.; DE-PAULA, O. C.; OLIVEIRA, D. M. T. Cypsela or achene? Refining terminology by considering anatomical and historical factors. **Brazilian Journal of Botany**, v.31, n.3, p.549-553, 2008.
- MONTEIRO, M. S.; LOPES, T.; MANN, R. M.; PAIVA, C.; SOARES, A. M. V. M.; SANTOS, C. Microsatellite instability in *Lactuca sativa* chronically exposed to cadmium. **Mutation Research: Genetic Toxicology and Environmental**, v.672, n.2, p.90-94, 2009.
- PEREIRA, F. J.; CASTRO, E. M.; SOUZA, T. C.; MAGALHÃES, P. C. Evolução da anatomia radicular do milho 'Saracura' em ciclos de seleção sucessivos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n.12, p.1649-1656, 2008.
- PEREIRA, F. J.; CASTRO, E. M.; OLIVEIRA, C. PIRES, M. F. PASQUAL, M. Mecanismos anatômicos e fisiológicos de plantas de aguapé para a tolerância à contaminação por Arsênio. **Planta daninha**, v.29, n.2, p.259-267, 2011.
- SHARMA, P.; DUBEY, R. S. Lead toxicity in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.17, n.1, p.35-52, 2005.
- SHEN, Z. G.; LI, X. D.; WANG, C. C.; CHEN, H. M.; CHUA, H. Lead phytoextraction from contaminated soil with high-biomass plant species. **Journal of Environment Quality**, v.31, n.6, p.1893-1900, 2002.
- SOUZA, T. C.; CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J.; PARENTONI, S. N.; MAGALHÃES, P. C. Morpho-anatomical characterization of root in recurrent selection cycles for flood tolerance of maize (*Zea mays* L.). **Plant Soil and Environment**, v.55, n.11, p.504-510, 2009.
- TECHIO, V. H.; DAVIDE, L. C.; CAGLIARI, A.; BARBOSA, S.; PEREIRA, A. V. Karyotypic asymmetry of both wild and cultivated species of *Pennisetum*. **Bragantia**, v.69, n.2, p.273-279, 2010.
- VERMA, S.; DUBEY, R. S. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. **Plant Science**, v.164, n.4, p.645-655, 2003.
- WIERZBICKA, M.; OBIDZIŃSKA, J. The effect of lead on seed imbibition and germination in different plant species. **Plant Science**, v.137, n.2, p.155-171, 1998.