



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIDADE ACADÊMICA DE SERRA TALHADA
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Avaliação do efeito do peróxido de hidrogênio exógeno na germinação e
crescimento inicial de *Lactuca sativa* L.**

MARIA DA SAÚDE DA SILVA

Serra Talhada - PE
2021

MARIA DA SAÚDE DA SILVA

**Avaliação do efeito do peróxido de hidrogênio exógeno na germinação e
crescimento inicial de *Lactuca sativa* L.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada ao curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada como exigência para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Prof. Dr. Rogério de Aquino Saraiva

Orientador

Serra Talhada - PE

2021

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

- D111a Silva, Maria da Saúde da
Avaliação do efeito do peróxido de hidrogênio exógeno na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. / Maria da Saúde da Silva. - 2021.
46 f. : il.
- Orientador: Rogerio de Aquino Saraiva.
Inclui referências.
- Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Bacharelado em Ciências Biológicas, Serra Talhada, 2021.
1. biomoléculas. 2. estresse oxidativo. 3. fonte exógena. 4. EROs. 5. H2O2. I. Saraiva, Rogerio de Aquino, orient. II. Título

CDD 574

Avaliação do efeito do peróxido de hidrogênio exógeno na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L.

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

Maria da Saúde da Silva

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Rogério de Aquino Saraiva (Presidente/Orientador)

UFRPE/UAST

Prof. Dr. André Luiz Alves de Lima

UFRPE/UAST

Ma. Janaína Esmeraldo Rocha

URCA

SERRA TALHADA - PE

2021

Dedico a meus pais Januário e Defensora, ao meu orientador Rogério Saraiva e a Paulo Henrique pessoas que tanto admiro e ajudaram a me tornar a pessoa que sou hoje.

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo agradeço a Deus, pelo dom da vida e por sempre me dar forças e coragem para ultrapassar as dificuldades encontradas e por permitir que tudo isso acontecesse.

Agradeço a UFRPE/UAST por ser a principal responsável por essa conquista, por proporcionar a muitos jovens estudantes um ensino de qualidade e por ter me acolhido e ter sido minha casa e meu abrigo durante esses anos de graduação.

Ao meu orientador Rogério Saraiva, a quem tenho grande admiração e gratidão por toda ajuda, contribuição e paciência ao longo desse trajeto, por acreditar na minha capacidade e ajudar a tornar esse sonho realidade.

Ao professor Diego Buarque pela disponibilidade e paciência na supervisão do meu estágio.

Agradeço ao grupo PET Biologia/UAST, em especial ao tutor André Lima, por serem grandes responsáveis pelo meu crescimento pessoal e acadêmicos, pessoas maravilhosas a quem tenho um carinho muito especial.

A todos que fizeram e que fazem parte do GEBETOX meu grupo de pesquisa, pela parceria, ajuda e grandes aprendizados proporcionados, tenho grande admiração por todos.

Aos meus pais Januário e Defensora por todo amor, por serem minha base e toda minha força nos momentos difíceis, por sempre estarem sempre torcendo por mim e me apoiando em cada sonho e escolha. Este trabalho é a prova de que todos os nossos esforços estão valendo a pena.

Aos meus irmãos Maria Santa e José, por toda torcida, incentivo e companheiros durante o curso, por suportarem meus estresses e apereios todos os dias, adoro muito e só me dão orgulho.

Meu imenso agradecimento a Paulo Henrique, por todo incentivo e apoio incondicional, um dos maiores responsáveis por eu ser quem sou hoje, com quem aprendo muito e admiro muito.

Um agradecimento enorme a Maria Luíza (minha duplinha), por toda amizade e incentivo nas horas de apereios.

Aos meus amigos de curso: Alanna Karini, José Augusto, Aparecida Clébia, Amanda Letícia, Maria Amanda e Marcos Vinicius por todo companheirismo, aprendizados e por tornarem todos os momentos mais alegres.

A minha prima Rita de Cássia, a quem sou imensamente grata por toda dedicação, por acreditar em mim e ser umas das pessoas que mais me incentiva, me apoia na vida e torce por mim desde sempre.

E a todos que de forma direta ou indireta, contribuíram com a conclusão desse curso, sou muito grata a todos e cada um possui um lugarzinho especial no meu coração.

Gratidão!

RESUMO

O peróxido de hidrogênio é uma espécie reativa de oxigênio produzido no metabolismo celular, quando a célula é submetida a situação de estresse, na sua forma exógena essa substância tem sido amplamente usada para diversas atividades, incluindo técnicas de branqueamento na indústria têxtil, tratamento de efluentes industriais e atividades domésticas. Com isso o H_2O_2 exógeno em baixas concentrações é capaz de influenciar de forma positiva no crescimento das plantas, e na literatura pouco se sabe de como essa substância em altas concentrações pode afetar o desenvolvimento das espécies e quanto desta é necessário para que ocorra inibição de 50% do crescimento radicular. Com isso o presente trabalho teve como objetivo avaliar possíveis concentrações seguras do H_2O_2 durante o desenvolvimento inicial de *Lactuca sativa* L. Para a montagem do experimento adicionou-se 25 sementes e 3 mL da solução aquosa de H_2O_2 nas concentrações de (1,065 mM), 0,25% (v/v); (2,131 mM), 0,5% (v/v); (4,262 mM), 1%, (v/v) e (5,327 Mm), 1,25% (v/v), e um grupo controle contendo apenas água destilada. Cada tratamento consistiu de 4 repetições. A germinação das sementes foi avaliada durante 7 dias e posteriormente foram feitas medições do comprimento do hipocótilo e da radícula das plântulas, e análise dos níveis de pigmentos fotossintéticos do grupo controle e da concentração de 1,25% v/v (5,327 mM). O grupo tratado com 0,25% v/v (1,065 mM) não apresentou o desenvolvimento da radícula afetada pela substância, enquanto que todos os outros tratamentos afetaram o desenvolvimento inicial das plântulas, tanto na radícula quanto do hipocótilo, sendo que a partir da concentração de 1,980 mM já ocorreu diminuição e 50% do crescimento radicular das plantas. Houve diminuição significativa nos níveis de clorofila a e b, como também de carotenoides na concentração de 5,327 Mm, 1,25% (v/v) em comparação com o grupo controle. Essas informações auxiliam no controle das concentrações adequadas de H_2O_2 liberadas no ambiente, de forma a não causar desequilíbrios nos ecossistemas.

Palavras-chave: biomoléculas, estresse oxidativo, fonte exógena, EROs, H_2O_2 .

ABSTRACT

Hydrogen peroxide is a reactive species of oxygen produced in cellular metabolism when the cell is subjected to stress situation, in its exogenous form this substance has been widely used for various activities, including bleaching techniques in the textile industry, treatment of industrial effluents and domestic activities. With this, exogenous H₂O₂ at low concentrations is able to positively influence plant growth, and in the literature little is known how this substance at high concentrations can affect the development of species and how much of it is necessary for 50% inhibition of root growth to occur. With this, the present study aimed to evaluate possible safe concentrations of H₂O₂ during the initial development of *Lactuca sativa* L. For the assembly of the experiment, 25 seeds and 3 mL of the aqueous solution of H₂O₂ were added at the concentrations of (1.065 mM), 0.25% (v/v); (2,131 mM), 0.5% (v/v); (4.262 mM), 1%, (v/v) and (5.327 Mm), 1.25% (v/v), and a control group containing only distilled water. Each treatment consisted of 4 repetitions. Seed germination was evaluated for 7 days and subsequently measurements of the length of the hypocotyl and radicle of the seedlings were made, and analysis of photosynthetic pigment levels of the control group and concentration of 1.25% v/v (5.327 mM). The group treated with 0.25% v/v (1.065 mM) did not present the development of the radicle affected by the substance, while all other treatments affected the initial development of seedlings, both in the radicle and hypocotyl, since the concentration of 1.980 mM has already decreased and the root growth of plants has already occurred. . There was a significant decrease in chlorophyll a and b levels, as well as carotenoides at the concentration of 5.327 Mm, 1.25% (v/v) compared to the control group. This information helps control the appropriate concentrations of H₂O₂ released into the environment, so as not to cause imbalances in ecosystems.

Keywords: biomolecules, oxidative stress, exogenous source, EROs, H₂O₂.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Demonstração das concentrações utilizadas de H_2O_2 no teste de germinação com sementes de *Lactuca sativa* L. (alface).....24
- Figura 2** – Tubos de ensaios armazenados em refrigerador para extração dos pigmentos fotossintéticos..... 26
- Figura 3** – Efeito das diferentes concentrações de H_2O_2 no comprimento da radícula (A) e do hipocótilo (B) em plântulas de *Lactuca sativa* L.. Letras diferentes significam médias que diferem significativamente entre si ($p < 0,05$)..... 28
- Figura 4** – Presença de coloração rosa na germinação de plântulas na presença de H_2O_2 29
- Figura 5** – Efeito das diferentes concentrações de H_2O_2 no comprimento dos plantulas de *Lactuca sativa* L.. Onde T1=Concentração de (1,065 mM) 0,25%; T2= Concentração de (2,131 mM) 0,5%; T3=Concentração de (4,262 mM) 1% e T4=Concentração de (5,327 mM)1,25%..... 29
- Figura 6** – Índice de velocidade de germinação (IVG) em plântulas germinadas na presença de H_2O_2 exógeno. Letras diferentes significam médias que diferem significativamente entre si ($p < 0,05$).....30
- Figura 7** – Índice do índice de tolerância (IT) em plântulas de *Lactuca sativa* L. germinadas na presença de H_2O_2 exógeno. Letras diferentes significam médias que diferem significativamente entre si ($p < 0,05$), letras iguais médias que não diferem significativamente entre si..... 31
- Figura 8** – Curva do índice de concentração inibitória média das radículas das plantulas de *Lactuca sativa* L. frente ao H_2O_2 exógeno.....31
- Figura 9** - Índice de vigor das plântulas de *Lactuca sativa* L. frente ao H_2O_2 exógeno.....32
- Figura 10:** Níveis de pigmentos fotossintéticos observados no grupo controle e nas concentração de 1,25% v/v (5,327 mM) de H_2O_232

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Média do crescimento da radícula das plântulas de <i>Lactuca sativa</i> L. frente ao H ₂ O ₂	27
Tabela 2 Média do crescimento do hipocótilo das plântulas de <i>Lactuca sativa</i> L. frente ao H ₂ O ₂	28
Tabela 3 Média da análise dos pigmentos fotossintéticos do grupo controle e da concentração de 1,25 % de H ₂ O ₂	33

SIGLAS E ABREVIATURAS

H₂O₂ – Peróxido de hidrogênio

UV- Ultravioleta

CONAMA – Conselho nacional de meio ambiente

BOD – Demanda bioquímica de oxigênio

IT – Índice de tolerância

IVG – Índice de velocidade de germinação

IC₅₀- Concentração inibitória média

EROs – Espécies reativas de oxigênio

°C – Celsius

cm – Centímetros

g – Grama

pH – potencial hidrogeniônico

CE- Comprimento esperado

CO- Comprimento observado

Ct- Comprimento total

a.C – Antes de Cristo

Cu - Cobre

SUMARIO

LISTA DE TABELAS

SUMARIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

SIGLAS E ABREVIATURAS

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REFERENCIAL TEORICO.....	16
2.1 CONTAMINANTES AMBIENTAIS E ECOTOXICOLOGIA.....	16
2.2 CONTAMINANTES AMBIENTAIS NA ÁGUA.....	17
2.3 ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGENIO (EROs).....	19
2.4 PERÓXIDO DE HIDROGENIO.....	21
2.5 <i>Lactuca sativa</i> L.....	22
2.6 GERMINAÇÃO DE PLANTAS.....	22
3. MATERIAIS E METODOS.....	23
3.1 MONTAGEM DE EXPERIMENTO	23
3.2 ÍNDICE DE TOLERANCIA (IT).....	25
3.3 ÍNDICE DE VELOCIDADE DE GEMINAÇÃO.....	25
3.4 CONCENTRAÇÃO INIBITORIA MEDIA (IC ₅₀).....	25
3.5 VIGOR.....	25
3.6 DETERMINAÇÃO DE NÍVEIS DE PIGMENTOS FOTOSSINTETICOS.....	26

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	27
4. RESULTADOS	27
5. DISCUSSÃO.....	33
6. CONCLUSÃO.....	36
7. REFERÊNCIAS.....	37

1. Introdução

As ações antropogênicas têm gerado grande impacto ambiental, afetando o meio ambiente em seus mais diversos aspectos e prejudicando os ecossistemas em geral. As contaminações causadas pelo descarte inadequado de rejeitos industriais podem afetar o ar, a água, o solo, as plantas e os mais variados recursos existentes no ambiente (Oliveira, 1998; Romero & Cantú, 2008).

A contaminação ambiental por fontes diversas, é considerada um dos principais fatores responsáveis por afetar direta ou indiretamente diversos organismos nos ecossistemas, contribuindo para o declínio populacional das plantas e até para a extinção de espécies, ou seja, afetando de forma significativa a biodiversidade existente em uma localidade (Oliveira, 1998; Zeman et al., 2006; Pandey & Sharma, 2002).

Esse descarte inadequado de substâncias químicas ainda tem a capacidade de atingir os corpos de água e assim chegar ao solo e a plantações agrícolas, com isso, esses contaminantes, podem de forma indireta, prejudicar a produtividade da colheita, como também a saúde dos seres humanos, quando esses consomem algum alimento produzido sob essas condições (Palaniappan et al., 2013).

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é um forte oxidante utilizado para diversas atividades humanas como, por exemplo, no branqueamento na indústria têxtil, como curativos, no tratamento de efluentes e esgotos, no tratamento de água, para a produção de detergentes, e na indústria cosmética e farmacêutica (Steiner, 1992; Jones & Clark, 2000). Além de ser produzido industrialmente, é considerado também uma espécie reativa de oxigênio (ERO), produzido em função do metabolismo celular, que age em defesa da célula, quando a mesma está sobre algum tipo de estresse (Souza Filho & Alves, 2002).

Devido ao peróxido de hidrogênio ser uma substância comum aos usos domésticos e industriais, sendo também empregado no tratamento de resíduos sua maneira de descarte torna-se conseqüentemente pouco controlada. Dessa forma, suas influências no meio ambiente e nos ecossistemas em geral podem ser consideradas como fatores agravantes no desenvolvimento de várias espécies de plantas. Portanto, é de extrema importância que pesquisas que avaliam como os contaminantes influenciam na biodiversidade, sejam realizadas de forma a compreender o impacto que essas substâncias causam no meio ambiente (Teixeira et al. 2013).

A presença de contaminantes ambientais pode afetar diversas características nas espécies vegetais, isso ocorre devido a essas plantas possuírem maior sensibilidade a essas substâncias, ocasionando assim modificações severas nas suas características morfofisiológicas quando na presença desses compostos como, por exemplo, diminuição no crescimento, aparecimento de necrose, entre outros problemas (Soares et al., 2000; Heale & Ormrod, 1982). Porém, outras espécies possuem a capacidade de acumular grande quantidade de contaminantes, sem que esses afetem o seu desenvolvimento e, por apresentarem essa habilidade, são consideradas espécies fitorremediadoras (Silva et al, 1999). Visto isso, espera-se nesse estudo que o H₂O₂ em altas concentrações provoque efeitos adversos nas plântulas, pois como demonstra na literatura em baixas concentrações essa substância influencia de forma positiva no desenvolvimento de plântulas (Deng et al., 2012; Guzel & Terzi 2013).

Entretanto, existem estudos que analisaram a influência do H₂O₂ de em baixas concentrações e este como forma de atenuar efeitos provocados pela salinidade e algumas espécies de plantas, como por exemplo no milho e no trigo. Assim, com fins de entender a segurança do uso desta substância, o presente trabalho teve como objetivo avaliar possíveis concentrações seguras do H₂O₂ a serem descartadas no meio, sem que essas afetem a germinação e o desenvolvimento inicial das plantas, utilizando como modelo a cultivar *Lactuca sativa* L. (alface).

2. Referencial teórico

2.1 Contaminantes ambientais e ecotoxicologia

A realização de atividades industriais gera grande quantidade de resíduos, conhecidos como efluentes industriais, que ao entrarem em contato com o ambiente, influenciam nas características normais da água, do solo e até mesmo do ar (Pereira, 2002; Rocha et al, 2009). Esses resíduos podem estar na forma sólida, líquida ou gasosa, cujos podem provocar uma contaminação se forem depositados em um ambiente de forma inadequada (Pereira, 2002). Esses contaminantes que são estranhos aos organismos, podem ser chamados também de xenobiontes e, além de contaminantes ambientais, estão inclusos também nesse termo os pesticidas e as drogas (Croom, 2012; Gavrilescu, 2005).

Ribeiro 2013 e Pereira, 2002 definem contaminação como o descarte de substâncias na água, no solo ou no ar, que resultam em um efeito que pode afetar de maneira negativa os organismos biológicos, causando adversidades nos ecossistemas e na saúde humana.

Devido à ação antrópica, pode ser encontrada no ambiente uma grande diversidade de xenobiontes, podendo estes também afetar as plantas, causando alterações na sua fisiologia e no seu desenvolvimento (Sandermann, 1992). Além das plantas, os

xenobiontes também podem influenciar no desenvolvimento de organismos aquáticos e dos mais diversos indivíduos que estiverem em contato com essas substâncias (Sandermann, 1992).

Aproximadamente, onze milhões de substâncias químicas são utilizadas corriqueiramente em todo o mundo, sendo grande parte delas produzida em alta escala (Sodré et al, 2007). Entre essa variedade de compostos químicos que são produzidos em alta quantidade, aumentando-se a presença dessas substâncias nos efluentes, como também em estações de tratamento de esgoto e de água, provocando assim uma relevante fonte de contaminação nos ecossistemas (Mello-da-Silva & Fruchtengarten, 2005).

O contaminante pode continuar em sua forma original quando depositado no ambiente, ou pode ser degradado em outras substâncias, provocando assim um efeito negativo nos organismos (Connell & Miller, 1984), ou seja, a forma que o contaminante estiver no meio, é o que vai determinar a influência deste nos organismos (Costa et al., 2008).

A ciência que estuda as influências que os compostos tóxicos desempenham nos organismos vivos, sejam plantas, animais e até mesmo populações ou comunidade desses indivíduos, é chamada de ecotoxicologia (Romero & Cantú, 2008).

O termo ecotoxicologia foi descrito pela primeira vez no ano de 1969 por Rene Truhaut (Flynn & Pereira, 2011), derivado das palavras ecologia e toxicologia (Walker, 2006), em um encontro do “*Committee of the International Council of Scientific Unions*”. A partir de então, passou-se a surgir ensaios ecotoxicológicos que tem por objetivo analisar os efeitos adversos causados pelos contaminantes químicos nas mais diversas espécies e organismos (Crane et al., 2007; Walker, 2006; Romero & Cantú, 2008).

Podem ocorrer duas formas de respostas dos organismos em relação aos danos causados pelas substâncias químicas, resposta aguda ou crônica, sendo essas caracterizadas pela duração do efeito do contaminante no organismo (Walker, 2006).

Além de avaliar os impactos causados nos organismos do ecossistema, em decorrência de uma contaminação, a ecotoxicologia também permite estimar impactos posteriores e analisar a interação do contaminante com o meio ambiente (Zagatto & Bertolletti, 2008)

2.2 Contaminantes ambientais na água

Tanto a prática de atividades antropogênicas, que são aquelas realizadas pelos humanos, quanto os processos naturais, podem provocar uma alteração nas características normais da água, sejam elas química, física ou biológica, sendo que as ações

antropogênicas acabam afetando de forma muito agressiva esses parâmetros (Carr & Neary, 2008).

Uma das principais causas dessas alterações, é o descarte de contaminantes ambientais de forma inadequada, sejam agrotóxicos, metais tóxicos ou substâncias químicas, essas estão sendo produzidas em larga escala devido às diversas utilidades domésticas e industriais das mesmas. Segundo Stephenson (2009) somente nos Estados Unidos, cerca de 700 novas substâncias químicas são inseridas a cada ano no mercado.

Essas substâncias químicas contaminam os cursos de água pelo fato de que, na maioria das indústrias, não ocorre tratamento adequado de efluentes de indústrias. Esse tratamento teria a função de realizar a remoção dessas moléculas contaminantes (Carr & Neary, 2008). Esses elementos químicos descartados no meio podem percorrer longas distâncias e chegar a águas superficiais e subterrâneas, e assim alterar diversos outros fatores como, por exemplo, o desenvolvimento dos organismos presentes naquele meio (Millennium Ecosystem Assessment, 2005).

De acordo com o Relatório Mundial das Nações Unidas sobre o desenvolvimento dos recursos hídricos de 2017, grande parte dos países não realizam o tratamento adequado dos efluentes de indústrias, antes de serem despejados no meio ambiente, sendo que os países desenvolvidos fazem o tratamento adequado de aproximadamente 70% dos efluentes de indústrias, enquanto que nos países em desenvolvimento esse índice é de apenas 38%, devido a esses países possuírem uma menor estrutura e financiamento (Connor & Uhlenbrook, 2017).

Esses elementos contaminantes além de provocarem alteração nos parâmetros de qualidade da água como, por exemplo, pH, salinidade, turbidez e temperatura, ainda podem afetar diretamente a saúde humana, se esses acabarem consumindo essa água ou algum alimento que esteve em contato com a mesma, e podendo assim acarretar na transmissão de diversas doenças que são adquiridas pela ingestão de água de má qualidade, prejudicando o metabolismo normal desses consumidores (Palaniappan et al., 2013).

A biodiversidade é amplamente afetada pelas alterações na qualidade da água, uma vez que os ecossistemas aquáticos e terrestres acabam sofrendo um grande decaimento no seu número de espécies. De acordo com Brasil (2005), em três décadas houve grande diminuição do número de espécies de água doce, marinhas e terrestres, sendo que de todos os ecossistemas, principalmente os de água doce vem sofrendo muitas

ameaças a sua biodiversidade, devido a alterações nos parâmetros adequados de qualidade da água.

2.3 Espécies reativas de oxigênio (ERO`s)

Durante o desenvolvimento, todos os organismos incluindo as plantas passam por diversas situações, sejam elas de ataque de herbívoros, competição e até mesmo estresse, que é provocado devido a alterações ocorridas no meio onde a espécie está inserida. Na maioria dos casos, para se defender desse estresse que é causado, por exemplo, pelo aumento da salinidade, temperatura, radiação e metais tóxicos, as plantas acabam produzindo espécies reativas de oxigênio (EROs), que são substâncias químicas sintetizadas a partir da redução do oxigênio e um desequilíbrio entre a produção e eliminação dessas EROs é prejudicial ao desenvolvimento das espécies (Bhattacharjee; 2005).

Aproximadamente 2% de todo oxigênio (O_2) que é consumido pelas espécies vegetais é destinado a produção de espécies reativas de oxigênio (Mittler et al., 2004). Essa molécula é considerada um radical livre que possui a disponibilidade e capacidade de produzir EROs como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), hidroxila (OH) e o radical peroxil (ROOH). Esses, devido a apresentarem alto grau de toxicidade, podem provocar até a morte celular se produzidos em grande quantidade (Tuteja et al., 2007; Apel & Hirt, 2004).

As formas como as ERO`s irão atuar na célula, seja como com sinalização, proteção, ou afetando a mesma de forma negativa, dependerá principalmente do equilíbrio entre a produção e a eliminação dessas espécies reativas de oxigênio no metabolismo das células (Gratão et al., 2005). Essas espécies reativas de oxigênio são produzidas em diversos compartimentos celulares, entre eles os cloroplastos e as mitocôndrias e são resultado de diversas reações do metabolismo desses organismos (Navrot et al., 2007). As EROs ainda são capazes de danificar as atividades celulares como, por exemplo, gerando danos aos ácidos nucleicos, provocando a oxidação das proteínas e com isso, causando peroxidação lipídica (Foyer & Noctor; 2005).

Quando ocorre produção de espécies reativas de oxigênio de forma desequilibrada, as células tentam conter esses problemas através de mecanismos de defesa antioxidantes (Foyer & Noctor, 2005; Chen & Dickman, 2005), nesses mecanismos de defesa, as células utilizam as enzimas antioxidantes como, por exemplo: superóxido

desmutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX); glutathione peroxidase (GPX) e catalase (CAT) (Noctor & Fayer;1998); para neutralizar as EROs, utilizam ainda algumas moléculas que não possuem função enzimática como, por exemplo, a prolina para reduzir os danos provocados pelas EROs e tentar equilibrar a produção dessas substâncias químicas na célula (Chen & Dickman, 2005). EROs também são capazes de afetar a expressão genética, causando alteração em alguns genes das plantas (Dalton et al., 1999).

2.4 Peróxido de hidrogênio

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é uma ERO que é produzida por organismos, como plantas e animais (Bergendi et al., 1999), agindo como sinalizadores com função de atuar como forma de defesa do indivíduo. Porém, se produzido em excesso pode causar danos ao organismo, provocando, por exemplo, oxidação de carboidratos translocação de proteínas e alterando a expressão de genes nos organismos (Sies & Cadenas, 1985; Gondim et al., 2010).

Apesar de ser produzido pelo organismo como forma de defesa, esta substância também é produzida artificialmente e encontrado para comercialização na forma líquida, apresentando característica transparente. É uma substância muito utilizada como agente oxidante, capaz de degradar grande quantidade de substâncias através do ganho de elétrons (ATSDR, 2002) e não é considerado um explosivo contudo, é capaz de provocar combustão se em contato com um composto orgânico (ATSDR, 2002; Klais, 1993).

É utilizado em inúmeras atividades sendo destacadas principalmente como alvejantes e desinfetantes (FISPQ, 2014), aplicado também em diversas atividades domiciliares principalmente no clareamento de roupas (ATSDR, 2002), para práticas medicinais (ATSDR, 2002; Ciolino, 1997), e na coloração de cabelos (Oliveira et al, 2014). Na indústria também é empregado com função de branqueamento para vários componentes têxteis como papel e celulose (Klais, 1993; Freire, 2000) e como constituinte de muitos produtos químicos (ATSDR, 2002). E, de acordo com Klais (1993) a utilização dessas substâncias deve ser feita com cuidado para se evitar riscos de queimaduras e combustão.

Devido a sua capacidade de oxidação (ATSDR, 2002; Teixeira et al, 2013), o H_2O_2 é empregado no tratamento de efluentes indústrias, uma prática que ocorre em países desenvolvidos há mais de vinte anos (Baldry, 1983). De acordo com Teixeira et al. (2013), o H_2O_2 é considerado o segundo oxidante mais utilizado na limpeza de agentes contaminantes presentes na água.

E por realizar esses processos de forma mais efetiva, suas reações são denominadas de processos oxidativos avançados, ou seja, tem a capacidade de degradar grande quantidade de resíduos em um curto espaço de tempo (Fonseca, 2009), sendo isso resultado da presença do radical hidroxila na molécula (Legrini, et al, 1993; Benitez, et al, 2000). O peróxido de hidrogênio pode também dar origem a outros produtos oxidantes que possuem a mesma espécie oxidável (Baldry, 1983).

A produção dessa substância pelas indústrias vem aumentando cada vez mais devido a sua grande utilização pela população para vários processos (Steiner, 1992). Teve sua primeira comercialização no ano de 1800, e desde então é empregado par diversas atividades em todo o mundo como, por exemplo, no branqueamento da indústria têxtil e na indústria farmacêutica, sendo utilizado também como reagente para as mais diversas atividades químicas (Steiner, 1992).

Segundo Lassali (2003), a forma adequada de descarte de peróxido de hidrogênio, deve ser feito a partir da diluição da substância em uma grande quantidade de água, até que se obtenha uma concentração de 5%, posteriormente a solução deve ser acidificada com metabulssulfito de sódio 50% e neutralizar a reação para posterior descarte em ralo de pia.

De acordo com a resolução do CONAMA de número 357/2005, complementada pela de número 430/2011, para que ocorra o descarte de uma substância de forma direta no meio ambiente, como por exemplo, descarte em efluentes industriais, esses devem apresentar características que não afetem os organismos vivos, sejam plantas, animais terrestres e aquáticos, assim como também os seres humanos, ou seja, essas devem apresentar parâmetros adequados que não sejam considerados tóxicos ao ecossistema. Se esses não apresentarem essas características adequadas para descarte, antes devem ser submetidos a um pré-tratamento adequado para posterior liberação da substância.

Gondin et al; (2011), estudaram a pulverização foliar de 10 mM H₂O₂ em plântulas de milho para avaliar os efeitos no crescimento e nos teores de solutos nessa espécie em condições salinas, e o H₂O₂ se apresentou capaz de diminuir o estresse provocado pela salinidade. Neto et al., (2005) também observaram que o H₂O₂ na concentração de 1 Mm também é capaz de atenuar os efeitos provocados pela salinidade em plântulas de milho.

2.5 *Lactuca sativa* L.

A alface (*Lactuca sativa* L.) é uma planta herbácea (Trani et al 2005), pertencente à família *Asteraceae* (Rosa, 2013). Teve sua origem na Ásia, porém, já era habitual em algumas regiões do antigo Egito a cerca de 4.500 a.C (Trani, 2005). É considerado o vegetal mais utilizado na alimentação em todo o Brasil (Oliveira, 2004), correspondendo a cerca de 40% de todo o estoque de abastecimento dos estabelecimentos comerciais de hortaliças (Oliveira, 2010).

É um vegetal folhoso (Oliveira, 2010; Oliveira, 2004), caracterizado por ter seu cultivo de forma mais comum no solo (Rosa, 2013), possui uma cor que pode variar de um verde claro a um verde mais escuro, dependendo da espécie (Trani et al, 2005). Apresenta diversos tipos de nutrientes como, por exemplo, vitaminas e fibras (Keskinen, 2009).

De acordo com Magalhães & Filho (2008) para que um organismo possa ser utilizado como modelo em ensaios ecotoxicológicos, este deve atender a alguns parâmetros como, por exemplo: possuir ampla disponibilidade, representação ecológica, conhecimento prévio de sensibilidade, ser de fácil cultivo e possuir importância comercial.

Espécies de plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) como também de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) são consideradas eficazes para serem utilizados como modelo de ensaios ecotoxicológicos, sendo essas já muito utilizadas em experimentos dessa categoria (Palmieri et al., 2014; Guirra et al., 2015).

Pereira et al., (2013) avaliaram a presença de diferentes concentrações de chumbo na germinação de *Lactuca sativa* L e observaram uma diminuição no desenvolvimento dessas plantas na presença desse contaminante. Franco et al., (2017) também estudaram diferentes concentrações de lixiviados de aterro sanitário na germinação de *Lactuca sativa* L.

2.6 Germinação de sementes

A germinação é um método em que a semente, tem alterações na sua maturação que proporciona um desenvolvimento de um indivíduo, ou seja, uma nova planta e posteriormente o seu crescimento (Nonogaki et al., 2010). Esse processo ocorre em um sequenciamento ordenado de modificações fisiológicas, que podem ser afetados por diversos fatores como, por exemplo, temperatura e umidade do ar (Dias et al., 2008; Nassif et al.,1998).

A germinação da semente é considerada a fase mais crítica do desenvolvimento de uma espécie (Rajjou et al., 2012) e consiste em três etapas principais: (i) absorção de água pela semente, (ii) início das reações metabólicas para que decorra o desenvolvimento do embrião e (iii) aparecimento de uma protuberância na semente, que é chamada de radícula (Nonogaki et al., 2010; Manz et al., 2005; Schopfer & Placy, 1984). A ocorrência de alguma alteração em uma dessas etapas pode causar efeitos negativos irreversíveis a planta na maioria dos casos (Rajjou et al., 2012).

A semente é a forma em que ocorre a disseminação das plantas, ou seja, é o meio de um vegetal sobreviver para que ocorra o desenvolvimento da sua próxima geração, sendo também uma forma de assegurar o aparecimento da espécie em próximos períodos de desenvolvimento (Carneiro, 2007; Koornneef et al., 2002). Logo, para que ocorra esse processo de forma adequada são necessárias condições ambientais favoráveis (Dias et al., 2008).

A germinação pode ser afetada pelos mais variados aspectos ambientais, como, por exemplo, temperatura, luz, quantidade de água e oxigênio disponível (Nassif et al., 1998), alterações nas características físicas e químicas do solo (Borges et al., 1995) assim como também do ar (Dias et al., 2008).

As alterações nesses parâmetros que são essenciais para a germinação das sementes podem afetar a velocidade de germinação assim como diversas outras condições normais da planta, acarretando na diminuição da produção comercial de uma espécie (Nassif et al., 1998).

Em espécies pertencentes a família Asteraceae como, por exemplo, *Lactuca sativa* L. o principal fator que limita a germinação da semente é o rompimento do endosperma, essa limitação ocorre também para espécies de *Solanaceae* e *Rubiaceae* (Leubner-Metzger, 2003), esse fator pode ser influenciado dependendo das condições ambientais, que podem dificultar esse rompimento, e o solo é um local em que podem conter diversas substâncias químicas contaminantes que influenciam na germinação provocando sua inibição e causando alterações no endosperma diminuindo a sua capacidade de desenvolver uma radícula saudável (Floriano, 2004).

3. Metodologia

3.1 Montagem do experimento

O trabalho foi realizado nos laboratórios de Química e biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco/Unidade Acadêmica de Serra Talhada. Para a realização do

experimento, esterilizou-se em autoclave água destilada, béqueres, pinças e placas de Petri, cada uma contendo uma folha de papel filtro como substrato.

Após esse processo, o material foi transferido para uma estufa de 80 °C durante um período de 24h. Posteriormente, todos os materiais a serem utilizados no preparo do experimento foram levados a uma capela de luz UV, onde ficaram expostos durante um período de 15 minutos. Após isso, a preparação do experimento ocorreu dentro da capela de fluxo laminar, para que se pudesse evitar contaminação do material. As sementes a serem utilizadas foram deixadas em hipoclorito de sódio durante um período de cinco minutos e posteriormente lavadas com água destilada.

As concentrações de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) utilizadas foram de (1,065 mM), 0,25% (v/v); (2,131 mM), 0,5% (v/v); (4,262 mM), 1%, (v/v) e (5,327 Mm), 1,25% (v/v), e um grupo controle contendo apenas água destilada (Fig. 1). Para cada concentração, foram feitas quatro repetições e em cada placa foram adicionados 3 mL da solução de H_2O_2 e 25 sementes de alface, cultivar Mônica da marca Feltrin. As placas foram isoladas com papel filme e deixadas em uma câmara de germinação B.O.D (*Biochemical oxygen demand*) com temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas, durante um período de 7 dias.

Diariamente foi feita a análise do número de sementes germinadas a cada dia, como também as características diferentes que um tratamento apresentava em relação a outro como, por exemplo mudança de coloração nas sementes e nas plântulas, ao grupo controle. No último dia do experimento foram selecionadas 10 plântulas de cada placa e realizou-se a morfometria utilizando o programa (*ImagePro Plus*), onde foram feitas medições do comprimento de hipocótilo e radícula (cm) de cada plântula.

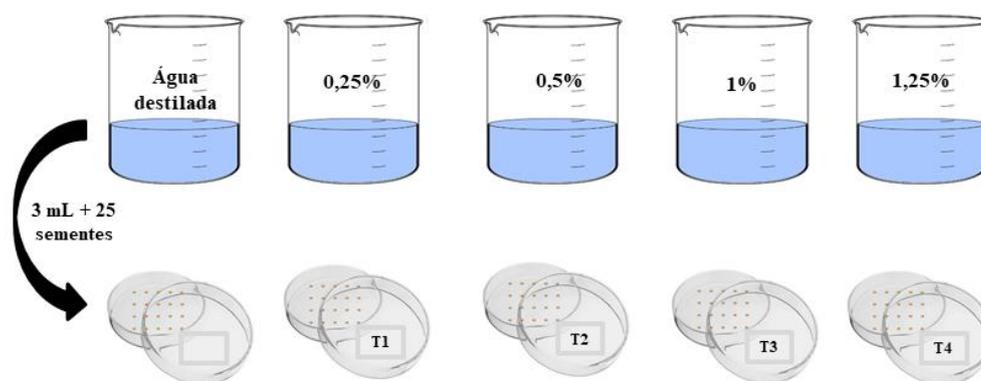


Fig 1: Demonstração das concentrações utilizadas de H_2O_2 no teste de germinação com sementes de *Lactuca sativa* L. (alface).

3.2 Índice de tolerância (IT)

Para a determinação do índice de tolerância do Peróxido de hidrogênio (H₂O₂), foi feita uma relação entre o crescimento das plantas do tratamento observado (concentrações de H₂O₂) e o crescimento do tratamento esperado (grupo controle), onde se obtém a informação do quanto a planta é tolerante em comparação com o tratamento controle, utilizando a seguinte fórmula:

$$IT = 1 + \log \frac{C(E)}{C(O)}$$

Onde, C(E) = Comprimento das plântulas do grupo controle e C(O) = Comprimento das plântulas do grupo observado (tratamento).

3.3 Índice de velocidade de germinação (IVG)

O índice de velocidade de germinação é a relação entre o número de sementes germinadas em um dividido pelo número de dias do experimento. Este foi calculado usando a seguinte fórmula proposta por Maguire (1962).

$$IVG = \sum \frac{NG}{D}$$

Onde, NG = número de sementes germinadas em um dia e D = dia observado.

3.4 Concentração inibitória média (IC₅₀)

A concentração inibitória (IC₅₀), indicará o quanto de concentração da substância (H₂O₂) é necessária para que haja inibição de 50% do comprimento da radícula das plântulas de *Lactuca sativa* L.

3.5 Vigor

O vigor das plântulas foi determinado de acordo com a fórmula proposta por Abdul-Baki and Anderson (1973):

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

Onde, Ct = Comprimento total das plântulas e ng = número de sementes germinadas.

3.6 Determinação de níveis de pigmentos fotossintéticos

Para a determinação dos níveis dos pigmentos fotossintéticos (clorofilas a, b, totais e carotenoides) de plântulas de *Lactuca sativa* L. seguiu-se a metodologia de Lichthenthaler (1987). Foi realizada a coleta das folhas das plântulas dos grupos controle e da concentração de 5,327 mM de H₂O₂, pesou-se 0,03 g das folhas de cada tratamento, em seguida foram alocadas em tubos de ensaios identificados e protegidos com papel alumínio.

Posteriormente adicionou-se 4 mL de acetona 80% (VETEC, Brasil) em cada tubo e esses foram armazenados em refrigerador (-20 °C), (fig. 1) por um período de (sete) 7 dias, para que ocorresse a extração desses pigmentos. Após esse tempo de extração, foram retiradas alíquotas dos extratos obtidos das amostras de cada tratamento e realizou-se a leitura em espectrofotômetro (Biochrom Libra S60) nos comprimentos de onda de 470, 646,8 e 663,2 nm. As concentrações de clorofilas e de carotenoides (em µg.mL⁻¹) foram calculadas por meio das seguintes fórmulas:

$$\text{Clorofila } a = C_a = 12,25 A_{663,2} - 0,2,79 A_{646,8}$$

$$\text{Clorofila } b = C_b = 21,50 A_{646,8} - 5,10 A_{663,2}$$

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

$$\text{Carotenoides (xantofilas + carotenos)} = (1000 A_{470} - 1,82 C_a - 85,02 C_b) / 198$$



Fig. 2: Tubos de ensaios armazenados em refrigerador para extração dos pigmentos fotossintéticos.

3.7 Análise estatística

Realizou-se a análise dos dados utilizando o teste ANOVA seguido de teste de Tukey, com dados expressos em média \pm desvio padrão e analisados no *software Graphpad prism 6*, sendo considerado significativo quando $p < 0,05$. Para a análise dos pigmentos fotossintéticos foi feito o teste t de Student pareado.

4. Resultados

O peróxido de hidrogênio em altas concentrações provocou uma diminuição no crescimento das plântulas, nos níveis de pigmentos fotossintéticos, como também nos parâmetros de germinação das sementes, o que comprova a hipótese de que essa substância em altas concentrações pode interferir nos parâmetros normais de desenvolvimento das espécies. Quanto ao desenvolvimento inicial das plântulas de *Lactuca sativa* L., quando analisada a radícula dessas plântulas (fig 3 - A), as concentrações estudadas apresentaram uma diminuição significativa no seu crescimento que em comparação com o grupo controle a concentração de 1,065 mM apresentou uma diminuição de 13%, a concentração de 2,131 mM 35%, a concentração de 4,226 mM, 71% e a concentração de 5,327 mM apresentou uma diminuição de 65%, como estão representadas as médias do crescimento de cada tratamento na tabela 1. O grupo tratado com a concentração de 1,065 mM não apresentou diferença significativa quando comparado ao grupo controle, indicando assim que essa concentração de peróxido de hidrogênio não afeta a radícula da planta no seu desenvolvimento inicial. Diferentemente os outros grupos tratados com 2,131 mM, 4,262 mM e 5,327 mM, apresentaram diferença significativa quando comparados ao grupo controle, sendo que as concentrações de 4,262 mM e 5,327 mM não diferiram entre si.

Tabela 1: Crescimento médio da radícula das plântulas de *Lactuca sativa* L. submetidas a diferentes concentrações de H₂O₂

Controle	1,065 mM (0,25%)	2,131 mM (0,5%)	4,262 mM (1%)	5,327 mM (1,25%)
4,851 \pm 1,163	4,271 \pm 0,9719	3,080 \pm 1,196	1,428 \pm 0,8845	1,716 \pm 1,164

Houve uma redução gradativa do tamanho do hipocótilo das plântulas conforme aumentou a concentração de H₂O₂, a concentração de 1,065 mM apresentou diminuição de 23% em comparação com o grupo controle, a de 2,131 mM diminuiu 35%, a concentração de 4,262 mM diminuiu 61% e a de 5,327 mM apresentou diminuição de 67%. As médias do crescimento de cada tratamento estão descritas na tabela 2.

Tabela 2: Crescimento médio do hipocótilo das plântulas de *Lactuca sativa* L. submetidas a diferentes concentrações de H₂O₂

Controle	1,065 mM (0,25%)	2,131 mM (0,5%)	4,262 mM (1%)	5,327 mM (1,25%)
2,132 ± 0,4656	1,650 ± 0,4906	1,397 ± 0,4697	0,8465 ± 0,3994	0,7201 ± 0,2603

A concentração 2,131 mM apresentou diferença significativa quando comparado ao grupo controle e a concentrações maiores. As concentrações 1,065 mM e 2,131 mM não apresentaram diferenças entre si, como também nas concentrações de 4,262 mM e 5,327 mM que apresentou o crescimento do hipocótilo na mesma proporção.

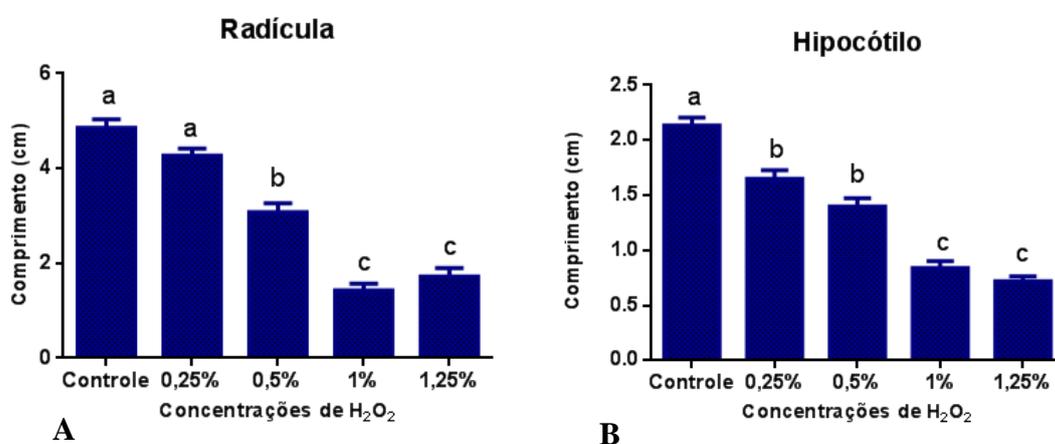


Figura 3 - Efeito das diferentes concentrações de H₂O₂ no comprimento da radícula (A) e do hipocótilo (B) em plântulas de *Lactuca sativa* L.. Letras diferentes significam médias que diferem significativamente entre si (p<0,05).

Inesperadamente, durante o processo de germinação, foi observado o aparecimento de uma coloração rosa nas radículas das plântulas (fig. 5). A medida que se aumentou a concentração de peróxido de hidrogênio, visualmente aumentou também a intensidade dessa coloração (fig. 6). A concentração de 1,065 mM não apresentou danos as radículas das plântulas, e como demonstra na (fig. 3-A), não ocorreu o aparecimento dessa coloração rosa nas suas radículas.

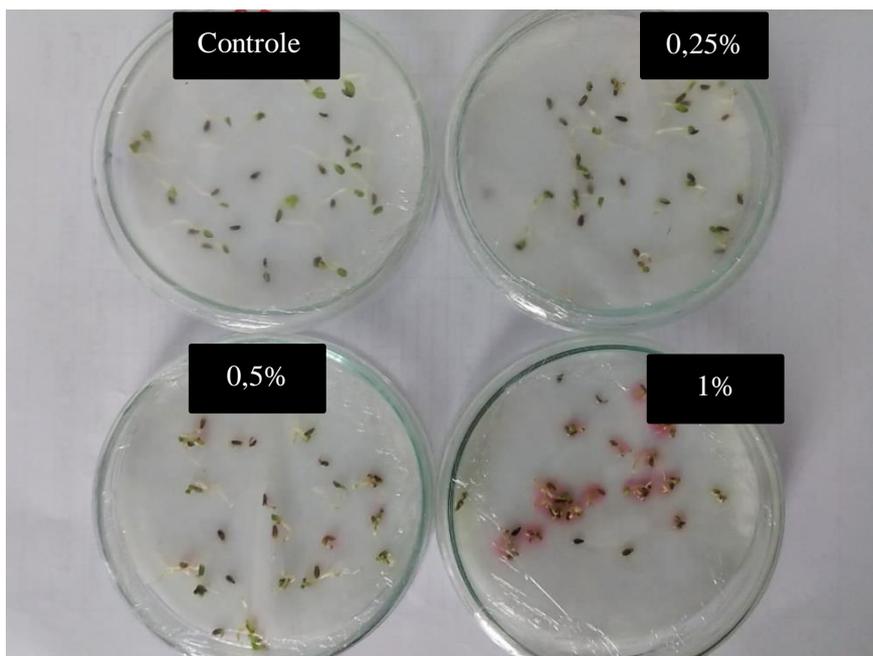


Figura 4- Presença de coloração rosa na germinação de plântulas na presença de H₂O₂.

Observou-se também o aparecimento em maior quantidade de raízes secundárias nas plântulas germinadas com concentração maior que de 2,131 mM. (fig. 4).

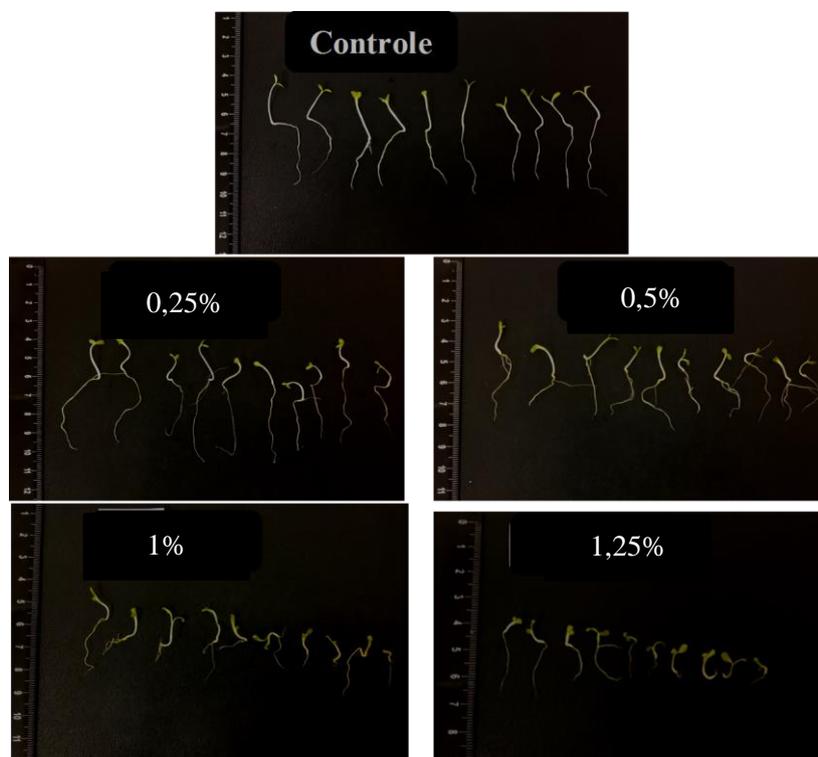


Figura 5 - Efeito das diferentes concentrações H₂O₂ no comprimento dos plântulas de *Lactuca sativa* L.. Onde T1=Concentração de (1,065 mM) 0,25%; T2= Concentração de (2,131 mM) 0,5%; T3=Concentração de (4,262 mM) 1% e T4=Concentração de (5,327 mM) 1,25%.

O índice de velocidade de germinação (IVG, fig. 7), observou-se que a concentração de 1,065 mM e o grupo controle não apresentaram diferença significativa na velocidade de germinação. A concentração de 2,131 mM não apresentou diferença significativa das concentrações 1,065 mM e 4,262 mM. Já a concentração de 5,327 mM apresentou uma velocidade de germinação menor, que diferiu significativamente de todos os outros tratamentos, sendo a mais afetada de todos os outros grupos.

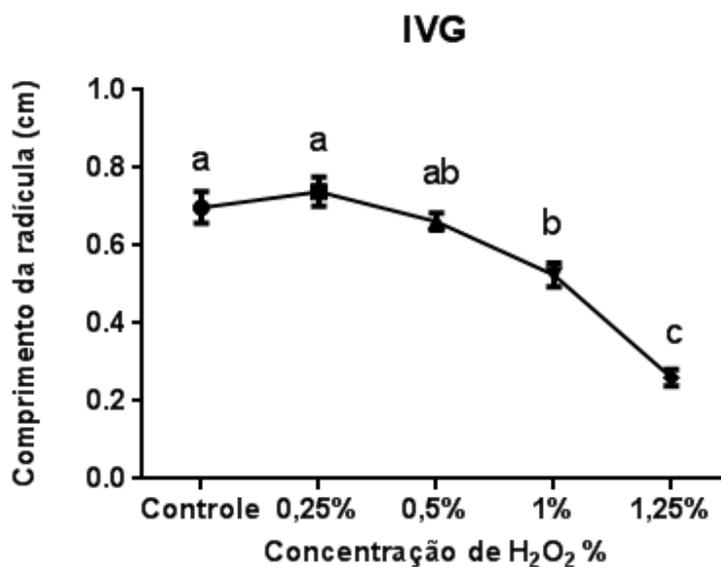


Figura 6- O gráfico mostra o índice de velocidade de germinação (IVG) em plântulas germinadas em diferentes concentrações de H₂O₂. Letras diferentes significam médias que diferem significativamente entre si (p<0,05).

Quanto ao índice de tolerância (IT), que demonstra o quanto a plantas é sensível a substância química, notou-se que à medida que se tinha o aumento das concentrações de H₂O₂, maior era a sensibilidade das plântulas a substância, possuindo menos tolerância em comparação com o grupo controle (fig.8).

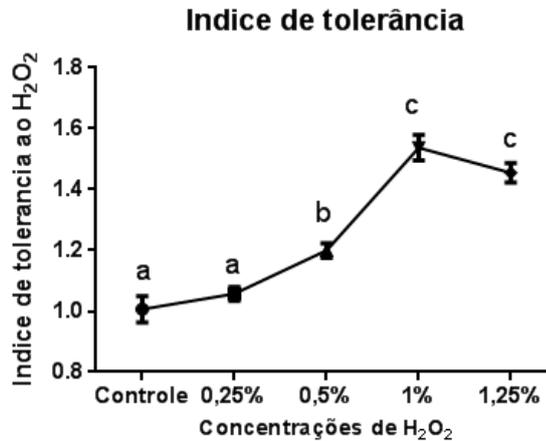


Figura 7- Índice de tolerância (IT) em plântulas de *Lactuca sativa* L. germinadas na presença de H₂O₂ exógeno. Letras diferentes significam médias que diferem significativamente entre si ($p < 0,05$), letras iguais médias que não diferem significativamente entre si.

Na concentração inibitória média das radículas, a concentração de 1,980 mM já é capaz de inibir 50% do crescimento das radículas das plântulas de *Lactuca sativa* L. frente ao H₂O₂, com R² de 0,9164.

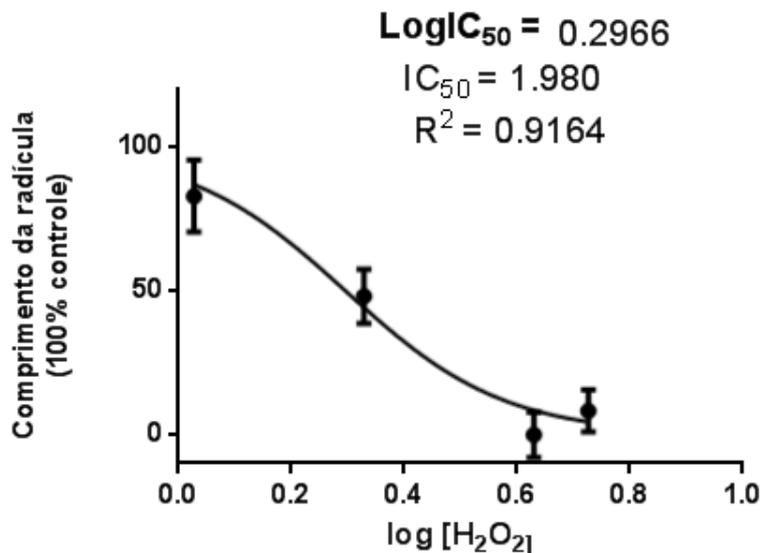


Fig 8: Curva do índice de concentração inibitória média das radículas das plântulas de *Lactuca sativa* L. com diferentes concentrações de H₂O₂ exógeno.

No vigor, observou-se que houve uma diminuição acentuada desse índice a partir da concentração de 1,065 mM e todas as outras concentrações maiores apresentaram diminuição significativa no índice de vigor.

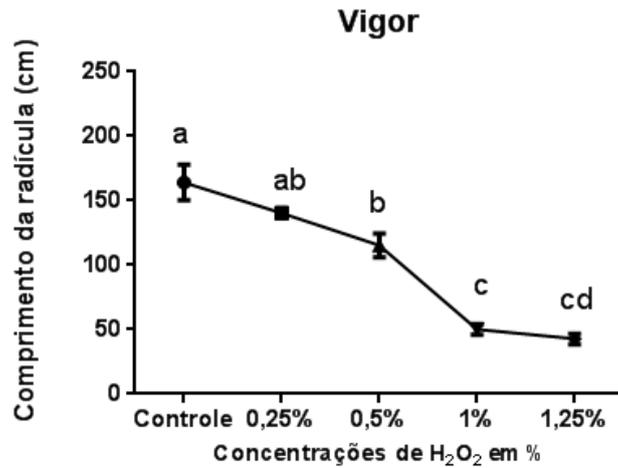


Fig 9: Índice de vigor das sementes de *Lactuca sativa* L. em diferentes concentrações de o H₂O₂ exógeno.

Os níveis de pigmentos fotossintéticos demonstraram que houve diminuição significativa desses pigmentos na concentração de 5,327 mM em comparação ao grupo controle (fig. 11, tab.3).

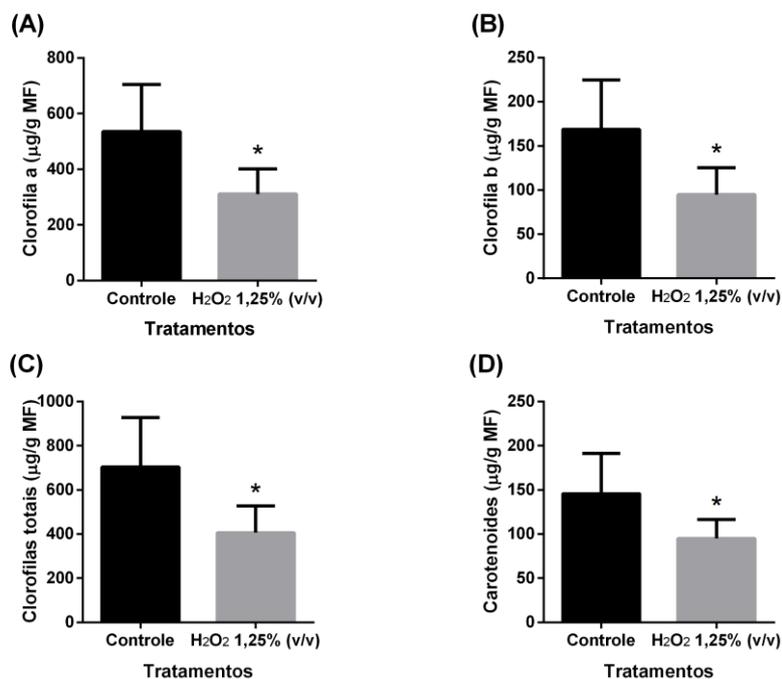


Fig 10: Níveis de pigmentos fotossintéticos observados no grupo controle e nas concentração de 1,25% v/v (5,327 mM) de H₂O₂.

Tabela 3: Média dos níveis de pigmentos fotossintéticos do grupo controle e da concentração de 1,25% (5,327 mM) de H₂O₂.

	Controle	H ₂ O ₂ - 5,327 mM (1,25%)
Clorofila a	535,5 ± 169,0 µg/g MF	311,0 ± 91,0 µg/g MF
Clorofila b	168,9 ± 55,7 µg/g MF	94,9 ± 30,4 µg/g MF
Clorofilas totais	704,4 ± 224,6 µg/g MF	405,9 ± 121,3 µg/g MF
Carotenoides	145,7 ± 45,7 µg/g MF	95,1 ± 21,3 µg/g MF

5. Discussão

A redução do crescimento e no índice de tolerância das plântulas nas concentrações maiores, provavelmente se deve ao fato de que o H₂O₂ possui essa capacidade de interagir com biomoléculas essenciais ao metabolismo e crescimento da planta (Ryter e Tyrrel., 1998). Visto que o estresse causado pelo H₂O₂ é capaz de provocar alterações na expressão dos genes (Mittle et al., 2004).

Em nível molecular o H₂O₂ é responsável por desempenhar diversas atividades essenciais para o bom funcionamento do metabolismo das plantas, incluindo a participação nos mecanismos de resistências das espécies, quando essas são expostas a algum tipo de estresse, atuando no aumento da resistência da parede celular vegetal (Dempsey & Klessig, 1995), na regulação de alguns processos fisiológicos como, por exemplo, senescência (Peng et al., 2005), fotorrespiração, fotossíntese (Noctor et al., 1998), crescimento, desenvolvimento e ciclo celular (Foreman et al., 2003).

Hancock et al. (2011) também explanam que o peróxido de hidrogênio pode prejudicar as reações biológicas. Por possuir a capacidade de provocar alargamento na parede celular (Palma & Kermode, 2013), e se movimentar facilmente por ela (Cheeseman; 2007) podendo assim, ter maior facilidade de reagir com proteínas, carboidratos, aminoácidos e lipídios de membrana (Ryter e Tyrrel., 1998), como também provocar alterações genéticas. O que pode explicar também a diminuição do crescimento das plântulas em diferentes concentrações de H₂O₂. Fato também observado por Benabdellah et al., (2009) quando estudaram a aplicação de concentrações maiores que 1,0 mM de peróxido de hidrogênio exógeno na espécie *Phaseolus vulgaris*.

Cheeseman (2007) também destaca que altas concentrações dessa substância desencadeia estresse oxidativo nas células, podendo provocar até a morte celular, pois este ocasiona uma série de desequilíbrios metabólicos, complementando assim a explicação dos danos observados nas plântulas de *Lactuca sativa* L. quando expostas a altas concentrações de H₂O₂.

Entretanto, há registros de que o H₂O₂ em baixas concentrações pode atuar de forma positiva. Deng et al., (2012) ao avaliarem o H₂O₂, também de forma exógena no crescimento de raízes de mudas de batata doce, concluírem que a substância em concentrações de até 0,5 mM age de forma positiva, induzindo o crescimento da radícula das plantas. Fato semelhante também foi observado por Guzel & Terzi (2013), quando utilizou o H₂O₂ exógeno em concentração de 0,5 mM para atenuar os efeitos provocados pelo cobre (Cu) em mudas de milho (*Zea mays* L.), observando assim que o H₂O₂ em baixas concentrações também influencia de forma positiva nas plântulas, sendo capaz de diminuir o estresse provocado pelo cobre.

A diminuição do crescimento e do índice de tolerâncias das plântulas em diferentes concentrações de H₂O₂ também pode ser explicado pelo fato de ter ocorrido diminuição nas aquaporinas que foi uma característica observada por Ktitorova et al., (2002) quando analisaram o H₂O₂ é aplicado de forma exógena em raízes de plantas, este é capaz de provocar diminuição nas aquaporinas que são proteínas responsáveis pelo transporte de água nesse órgão das plantas, e com a diminuição da absorção de água, consequentemente ocorrerá um menor desenvolvimento das mesmas, Essa característica também foi observada nas radículas de plantas de *Triticum aestivum* L. estudadas por Hameed et al., (2004) quando em altas concentrações de H₂O₂.

De acordo com Pes & Arenhardt (2015) as raízes são os principais órgãos de absorção de água e nutrientes para a planta, e o aparecimento de maior quantidade ou de ramificações dessas raízes nas plântulas de *Lactuca sativa* L., quando em concentrações maiores que 2,131 mM, ocorreu devido ao estresse provocado pelo H₂O₂. Com isso Pes & Arenhardt (2015) ainda concluem que as plântulas tentam buscar maior quantidade de nutrientes para suprir o estresse provocado pela substância e fazem isso com a expansão de suas raízes, ou seja, o aparecimento dessas raízes em maior quantidade ocorre como uma estratégia de sobrevivência das plantas. Hameed et al., (2004) observou essa mesma característica quando analisou a influência do H₂O₂ em plântulas de *Triticum aestivum* L. e também associaram a uma forma de defesa da planta, para compensar o estresse provocado pela substância, que quando tinha o crescimento da raiz primária interrompido, logo passavam a surgir raízes secundárias para tentar atingir o crescimento adequado.

A coloração rosa na radícula das plântulas nas concentrações maiores que 2,131 mM de H₂O₂, pode ter ocorrido uma possível produção de metabolitos secundários para tentar compensar o estresse provocado pelo H₂O₂. Wit (2007) relata que as plantas

desempenham diversas reações que agem em sua defesa. Segundo Souza Filho & Alves (2002) uma das características que a planta apresenta em função da sua defesa contra algum estresse, é a produção de metabólitos secundários. Possivelmente, a produção desses metabólitos pela planta, é uma alternativa de defesa ao estresse oxidativo produzido pelo H_2O_2 , o que também pode ter influenciado no menor desenvolvimento das plântulas à medida que se aumentava a concentração da substância.

Segundo Dinalli et al (2010), o índice de velocidade de germinação e o vigor das sementes, possuem ligação direta com as características que a plântula apresenta durante o seu desenvolvimento inicial. Sementes com baixo vigor, conseqüentemente, terão o índice de velocidade de germinação afetados. Esses parâmetros podem ser influenciados se a semente for exposta a alguma condição de estresse (Kolchinski et al., 2005; Dinalli et al., 2010). Fato esse que se observou com *Lactuca sativa* L. na presença do peróxido de hidrogênio exógeno, provocando diminuição na velocidade de germinação das plântulas como também no índice de vigor das mesmas quando na presença do H_2O_2 em maiores concentrações.

A redução do crescimento da radícula das plântulas de *Lactuca sativa* L. em diferentes concentrações de H_2O_2 , demonstradas nas figuras 3 (a) e 4 mostra que a concentração de 1,980 mM a responsável por inibir o crescimento de 50% das radículas das mesmas com $R^2 = 0,9164$. Esses resultados ocorrem devido a substância não ser acumulada na planta, característica, que ocorre em outras espécies que possuem resistência quando expostas a estresse durante o seu desenvolvimento, como em casos de algumas espécies germinadas na presença de metal (Chandra et al., 2010). Isso indica que nem todas as espécies são tolerantes a esse contaminante, pois este influencia diretamente no seu desenvolvimento.

Os níveis de pigmentos fotossintéticos, a diminuição nos níveis de clorofilas *a* e *b* na concentração de 5,327 mM, se deve ao fato das plântulas estarem expostas ao estresse provocado pelo H_2O_2 e conseqüentemente ocorreram alterações nos mecanismos fotossintéticos das plântulas que, de acordo com Carlin et al., (2012) o estresse oxidativo provoca desequilíbrio entre a produção e eliminação de EROs e pode provocar a foto oxidação dos pigmentos fotossintéticos, causando assim degradação da clorofila. Stenbaek & Jensen (2011) afirmam que quando a planta está sobre algum tipo de estresse pode provocar alterações na enzima Mg-quelatase que é um precursor essencial na síntese de clorofila, e isso também pode ter sido uma das causas que provocou a diminuição da produção desse pigmento.

Mesmo os carotenoides sendo considerados antioxidantes, ocorreu diminuição desses pigmentos quando na presença do H₂O₂ exógeno na concentração e 5,327 mM, e isso pode ser explicado pelo fato de o alto nível de estresse oxidativo provocado pelo H₂O₂ causar degradação do β - caroteno e assim acarretar a diminuição desses níveis de carotenoides. Augspole & Rakcejeva (2013), também observaram um efeito negativo dos carotenoides quando analisaram a influência do H₂O₂ exógeno em amostras de cenouras desfiadas com concentrações maiores que 0,5 % (2,131 mM).

6. Conclusão

Conjuntamente, essas informações indicam que decorrente das diversas utilizações do peróxido de hidrogênio, o seu descarte de forma inadequada pode interferir na germinação das sementes, quando em altas concentrações, alterando as características morfofisiológicas da planta, como a estrutura, desenvolvimento e níveis de pigmentos fotossintéticos. A concentração de 1,065 mM foi a concentração que não afetou os parâmetros de germinação da semente, como também de crescimento para a radículas das plântulas. Logo, esse trabalho fornece um subsídio de grande relevância, servindo também como alerta para se determinar concentrações adequadas de H₂O₂ liberadas no ambiente, de forma a não causar desequilíbrios em ecossistemas. Visto isso, serve também como alerta para horticultores para que possam realizar o manejo adequado de horticulturas, para assim evitarem-se perdas de plantações e colheitas e possíveis quedas econômicas.

No entanto, são necessários outros trabalhos futuros que demonstrem a influência do H₂O₂ sobre outras espécies, que possam avaliar os níveis de pigmentos fotossintéticos das concentrações que não puderam ser analisadas, juntamente com a realização de outros testes complementares como, por exemplo, análise de massa fresca e massa seca das plântulas.

7. Referências

- Agency for toxic substances and disease registry, hydrogen peroxide, april. 2002.
- APEL, K.; HIRT, H. Espécies reativas de oxigênio: metabolismo, estresse oxidativo e transdução de sinal, Annu. **Plant Biology**; 55: 73 – 399. 2004.
- AUGSPOLE, I.; RAKCEJEVA, T.; Effect of hydrogen peroxide on the quality parameters of shredded carrots. In **Proceedings of Annual 19th International Scientific Conference Research for Rural Development**; 91-97. 2013.
- BALDRY, M.G.C. The bactericidal, fungicidal and sporocidal properties of hydrogen peroxide and peracetic acid. **Journal of Applied Bacteriology**; 54(3): 417-423. 1983.
- BENABDELLAH, K.; RUIZ-LOZANO, J. M.; AROCA, R.; Hydrogen peroxide effects on root hydraulic properties and plasma membrane aquaporin regulation in *Phaseolus vulgaris*. **Plant molecular biology**; 70(6): 647. 2009.
- BENITEZ, F.J.; BELTRAN-HEREDIA, J.; ACERO, J. L.; RUBIO, F.J. Contribution of free radicals to chlorophenols decomposition by several advanced oxidation processes. **Chemosphere**; 41 (8): 1271-1277. 2000.
- BERGENDI, L.; DURACKOVÁ, Z.; FERENCIK, M. Chemistry, physiology and pathology of free radicals. **Life sciences**; 65: 18-19. 1999.
- BHATTACHARJEE, S. Reactive oxygen species and oxidative burst: roles in stress, senescence and signal transduction in plants. **Current Science**; 99, 1113-1121. 2005.
- BORGES, A.L.; LIMA, A. A.; CALDAS, R.C. Adubação orgânica e química na formação de mudas de maracujazeiros. **Revista Brasileira de Fruticultura**; Cruz das Almas, 17:(2) 17-22. 1995.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Resolução do CONAMA n. 430, de 13 de maio de 2011, disponível em: <https://www.tratamentodeagua.com.br/artigo/resolucao-conama-430-11/> acesso em: 09/03/2020

- CARLIN, S. D.; RHEIN, A. F. de L.; SANTOS, D. M. M. Efeito simultâneo da deficiência hídrica e do alumínio tóxico no solo na cultivar IAC91-5155 de cana-de-açúcar. **Semina: Ciências Agrárias**; 33(2): 553-564, 2012.
- CARNEIRO, J.W.P. *Stevia rebaudiana* (Bert) Bertoni: Stages of plant development. **Canadian Journal of Plant Science**; 87:(4) 861-865. 2007.
- CARR, G.M.; NEARY, J.P. Water quality for ecosystem and human health. **UNEP/Earthprint**. 2008.
- CHANDRA, R. P.; ABDUSSALAM A.K.; SALIM, N.; Distribution of bio-accumulated Cd and Cr in two Vigna species and the associated histological variations. **Journal of Stress Physiology & Biochemistr**; India, 6 (1), 4-12. 2010.
- CHEN, C.; DICKMAN, M.B. Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen *Colletotrichum trifolii*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**; 102:(9) 3459-3464.2005.
- CIOLINO, H.P.; LEVINE, R. L.; Free Radical Biol. **Med.**, 22: 1277. 1997.
- CONAMA-Conselho Nacional de Meio Ambiente, Resolução, N. 357, de 17 de Março de 2005. 2005. Disponível em: http://pnqa.ana.gov.br/Publicacao/RESOLUCAO_CONAMA_n_357.pdf acesso em: 14/06/2020.
- CONNELL, D.W.; MILLER, G.J. Chemistry and ecotoxicology of pollution. **John Wiley & Sons**; 65. 1984.
- CONNOR, R.; UHLENBROOK, S. Águas residuais: O recurso inexplorado. Relatório Mundial das Nações Unidas sobre o Desenvolvimento dos Recursos Hídricos, UNESCO, 2017.
- COSTA, C.R.; OLIVI, P.; BOTTA, C.M.; ESPINDOLA, E.L. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**; 31:(7)1820-1830. 2008.
- CRANE, M.; BURTON, G.A.; CULP, J.M.; GREENBERG, M.S.; MUNKITTRICK, K.R.; RIBEIRO, R.; ST-JEAN, S.D; Review of aquatic in situ approaches for stressor and

effect diagnosis. *Integrated Environmental Assessment and Management: An International Journal*; 3:(2) 234-245. 2007.

CROOM, E. Metabolism of xenobiotics of human environments. *Progress in molecular biology and translational science* , **Academic Press**; 112, 31-88. 2012.

DALTON, T.P.; SHERTZER, H.G.; PUGA, A. Regulação da expressão gênica por oxigênio reativo Annu. **Review Pharmacology Toxicology**; 39, 67 – 101. 1999.

DE WIT, P.J. How plants recognize pathogens and defend themselves. **Cellular and Molecular Life Sciences**; 64:(21) 2726-2732. 2007.

DEMPSEY D.A.; KLESSIG, D.F.; Signals in plant disease resistance. **Bulletin Institut Pasteur**; 93, 167–186. 1995.

DENG, X. P.; CHENG, Y. J.; WU, X. B.; KWAK, S. S.; CHEN, W.; ENEJI, A. E.; Exogenous hydrogen peroxide positively influences root growth and exogenous hydrogen peroxide positively influences root growth and metabolism in leaves of sweet potato seedlings. **Australian Journal of Crop Science**; 6:(11), 1572. 2012

DIAS, M.A.; LOPES, J.C.; CORRÊA, N.B.; DIAS, D.C. Germinação de sementes e desenvolvimento de plantas de pimenta malagueta em função do substrato e da lâmina de água. **Revista brasileira de sementes**, 30:(3) 15-121. 2008.

DINALLI, R. P.; CHAVES, D. C. D.; GAZOLA, R. N.; CASTILHO, R. M. M.; Germinação de Espécies Ornamentais e Medicinais. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**; Garça, 17:(2) 3-59. 2010.

FISPQ, Ficha de informações de segurança de produto químico; peróxido de hidrogênio, 2. Joinville – SC. 2014.

FLORIANO, E. P.; Germinação e dormência de sementes florestais. **Caderno Didático**; 2. 2004.

FLYNN, M.N.; PEREIRA, W.R.L. Abordagem populacional na ecotoxicologia. *Revista Intertox de Toxicologia*. **Risco Ambiental e Sociedade**; 4:(3): 79-91. 2011.

FONSECA, J.C.L. Manual para gerenciamento de resíduos perigosos. **Cultura Acadêmica**; 2009.

FOREMAN, J.; BOTHWELL J.H., DEMIDCHIK, V., MYLONA P.; MIEDEMA. H.; TORRES M.A. Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant cell growth. **Nature**; 422, 442–446. 2003.

FOYER, C.H.; NOCTOR G. Redox homeostis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. **Plant Cell**; 17, 1866-1875. 2005.

FRANCO, H. A.; OLIVEIRA MARTINS, G. M.; MUSSEL, Y. L.; MORENO, S. C.; THODE FILHO, S.; COSTA MARQUES, M. R.; Ecotoxicidade de lixiviado de aterro sanitário na germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) e pepino (*Cucumis sativus* L.). **Revista de Estudos Ambientais**, 19:(1), 36-43. 2017.

FREIRE, R.S.; PELEGRINI, R.; KUBOTA, L. T.; DURÁN, N.; PERALTA-ZAMORA, P. Novas tendências para o tratamento de resíduos industriais contendo espécies organocloradas. **Química nova**; 2000.

GAVRILESCU, M. Fate of pesticides in the environment and its bioremediation. **Engineering in life sciences**; 5:(6) 497-526. 2005.

GONDIM, A. F., et al. Pretreatment with H₂O₂ in maize seeds: effects on germination and seedling acclimation to salt stress. **Brazilian Society of Plant Physiology**; 22:(2) 103-112, 2010.

GONDIM, F. A.; GOMES-FILHO, E.; MARQUES, E. C. PRISCO, J. T.; Efeitos do H₂O₂ no crescimento e acúmulo de solutos em plantas de milho sob estresse salino. **Revista Ciência Agronômica**, 42:(2), 373–381. 2011.

GRATÃO, P.L.; POLLE A.; LEA, P.JA; AZEVEDO, R.A. Facilitando um pouco a vida de plantas com tensão de metais pesados. **Plant Biol.** , 32. 481 – 494.2005.

GUZEL, S.; TERZI, R.; Exogenous hydrogen peroxide increases dry matter production, mineral content and level of osmotic solutes in young maize leaves and alleviates deleterious effects of copper stress. **Botanical studies**, 54:(1), 1-10. 2013

HAMEED, A.; FAROOQ, S., IQBAL, N.A.Y.Y.E.R.; ARSHAD, R.U.B.I.N.A.; Influence of exogenous application of hydrogen peroxide on root and seedling growth on

wheat (*Triticum aestivum* L.). **International Journal of Agriculture & Biology**; 6:(2), 366-369. 2004.

HANCOCK, J.T.; DESIKAN, R.; NEILL, S. J. Role of reactive oxygen species in cell signalling pathways; 2001.

HEALE, E.L.; ORMROD, D.P. Effects of nickel and copper on *Acer rubrum*, *Cornus stolonifera*, *Lonicera tatarica*, and *Pinus resinosa*. **Canadian Journal of Botany**; 60 (12): 2674-2681. 1982.

JONES, C. W.; CLARK, J. H. Applications of Hydrogen Peroxide and Derivatives. 3. 2000.

KESKINEN, L.A.; BURKE, A.; ANNOUS, B.A.; Efficacy of chlorine, acidic electrolyzed water and aqueous chlorine dioxide solutions to decontaminate *Escherichia coli* O157: H7 from lettuce leaves. **International journal of food microbiology**, 132:(2-3): 134-140. 2009.

KLAIS, O.; Hydrogen peroxide decomposition in the presence of organic material: a case study. **Thermochimica Acta**; 225:(2) 13-222. 1993.

KOLCHINSKI, E.M.; SCHUCH, L.O.B.; PESKE, S.T. Vigor de sementes e competição intra-específica em soja. **Ciência Rural**; 35:(6) 1248-1256, 2005.

KOORNNEEF, M.; BENTSINK, L.; HILHORST, H. Seed dormancy and germination. **Current opinion in plant biology**; 5:(1)33 -36. 2002.

KTITOROVA, I.N.; SKOBELEVA, O.V.; SHAROVA E.I.; ERMAKOV E; Hydrogen peroxide appears to mediate a decrease in hydraulic conductivity in wheat roots under salt stress. **Russ J Plant Physiology**; 49, 369–380. 2002.

LASSALI, T. A. Gerenciamento de resíduos químicos normas e procedimentos gerais. Ribeirão Preto: USP. 2003.

LEGRINI, O.; OLIVEROS, E.; BRAUN, A.M. Photochemical processes for water treatment. **Chemical reviews**, 93:(2) 671-698. 1993.

- LEUBNER-METZGER, G. Functions and regulation of β -1, 3-glucanases during seed germination, dormancy release and after-ripening. **Seed Science Research**, 13:(1) 17-34. 2003.
- LICHTHENTHALER, H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: PACKER, L., DOUCE, R. (Eds.) **Meth Enzimol**. 148, 350-382. 1987.
- MAGALHÃES, D.P.; FILHO, A.S.F. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**; 12:(3) 355-381. 2008.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science, Madison**; 2:(1) 176-177. 1962.
- MANZ, B.; MÜLLER, K.; KUCERA, B.; VOLKE, F.; LEUBNER-METZGER, G. Water uptake and distribution in germinating tobacco seeds investigated in vivo by nuclear magnetic resonance imaging. **Plant physiology**; 138:(3) 1538-1551. 2005.
- MELLO-DA-SILVA, C.A.; FRUCHTENGARTEN, L. Environmental chemical hazards and child health. **J. Pediatr**; 81: 205-211. 2005.
- MILLENNIUM ECOSYSTEM ASSESSMENT (MA). Ecosystems and Human Well-Being: Wetlands And Water Synthesis. **World Resources Institute**, Washington, DC.-CONFERIR. 2005.
- MITTLER, R.; VANDERAUWERA, S.; GOLLERY, M.; VAN BREUSEGEM, F.; MITTLER, R.; VANDERAUWERA, S.; GOLLERY, M.; VAN BREUSEGEM, F. Rede de genes de plantas reativas de oxigênio, **Tendências Plant Science**.; 9, 490 – 498. 2004.
- NASSIF, S.M.L.; VIEIRA, I.G.; FERNANDES, G.D. Fatores externos (ambientais) que influenciam na germinação de sementes. **Informativo Sementes IPEF**; 1998.
- NAVROT, N.; ROUHIER, N.; GELHAYE, E.; JACQUOT, J. P. Reactive oxygen species generation and antioxidant systems in plant mitochondria. **Physiologia Plantarum**; 129:(1) 185-195. 2007.
- NETO, A.D.A.; PRISCO, J.T.; ENÉAS-FILHO, J.; MEDEIROS, J.V.R; GOMES-FILHO, E.; Hydrogen peroxide pre-treatment induces salt-stress acclimation in maize plants. , 162:(10), 0–1122. 2005.

- NOCTOR, G.; FOYER, C.H. Ascorbate e glutathione: mantendo o oxigênio ativo sob controle, Annu. Ver. **Plant physiology Plant Molecular Biology**; 49, 249-279. 1998.
- NOCTOR, G.; ARISI, A.M.; JOUANIN, L.; KUNERT, K.J.; RENNENBERG, H.; FOYER, C.H.; . Glutathione: biosynthesis, metabolism and relationship to stress tolerance explored in transformed plants. **Journal of Experimental Botany**; 49, 623–647. 1998
- NONOGAKI, H.; BASSEL, G. W.; & BEWLEY, J. D. Germination still a mystery. **Plant Science**; 179:(6) 574-581. 2010.
- OLIVEIRA, A.C.B.; SEDIYAMA, M.A.N.; PEDROSA, M.W.; GARCIA, N.C.; GARCIA, S.L.R. Divergência genética e descarte de variáveis em alface cultivada sob sistema hidropônico. **Acta Scientiarum. Agronomy**; 26:(2) 211-217. 2004.
- OLIVEIRA, M.; USALL, J.; VINAS, I.; ANGUERA, M.; GATIUS, F.; ABADIAS, M.; Microbiological quality of fresh lettuce from organic and conventional production. **Food Microbiology**; 27:(5) 679-684. 2010.
- OLIVEIRA, R.A.; ZANONI, T. B.; BESSEGATO, G. G.; OLIVEIRA, D. P.; UMBUZEIRO, G.A.; ZANONI, M. V. B. A química e toxicidade dos corantes de cabelo. **Química Nova**, 1037-1046. 2014.
- PALANIAPPAN, M.; GLEICK, P. H.; ALLEN, L.; COHEN, M. J.; CHRISTIAN-SMITH, J.; SMITH, C. Cuidando das Águas Soluções para melhorar a qualidade dos recursos hídricos. 2ed. Traduzido e adaptado do original “Clearing the waters: a focus on water quality solutions” Produzido em Nairobi, Kenya em março de 2010; Brasília – DF. 2013.
- PALMA, K.; KERMODE, A.R. Metabolism of hydrogen peroxide during reserve mobilization and programmed cell death of barley (*Hordeum vulgare* L.) aleurone layer cells. **Free Radical Biology and Medicine**; 35:(10) 1261-1270. 2003.
- PALMIERI, M.J.; LUBER, J.; ANDRADE-VIEIRA, L. F.; DAVIDE, L. C. Cytotoxic and phytotoxic effects of the main chemical components of spent pot-liner: A comparative approach. Mutation Research/Genetic **Toxicology and Environmental Mutagenesis**; 763, 30-35. 2014.

- PANDEY, N.; SHARMA, C.P. Effect of heavy metals Co_2^+ , Ni_2^+ and Cd_2^+ on growth and metabolism of cabbage. **Revista Plant Science**; 163:(4): 753-758. 2002.
- PENG, L.T., JIANG, Y.M.; YANG, S.Z.; PAN, S.Y.; Accelerated senescence of fresh-cut Chinese water chestnut tissues in relation to hydrogen. 2005.
- PEREIRA, J.A.R. Geração de resíduos industriais e controle ambiental. Centro Tecnológico da Universidade Federal do Pará. Pará. 2002.
- PEREIRA, M. P., PEREIRA, F. J., DE ALMEIDA RODRIGUES, L. C., BARBOSA, S., & DE CASTRO, E. M.; Fitotoxicidade do chumbo na germinação e crescimento inicial de alface em função da anatomia radicular e ciclo celular. **Revista Agro@ mbiente** Online, 7:(1), 36-43. 2013.
- PES, L.Z.; ARENHARDT, M.H. Fisiologia Vegetal. Colégio Politécnico da UFSM, Santa Maria - RS. 81, 2015.
- RAJJOU, L.; DUVAL, M.; GALLARDO, K.; CATUSSE, J.; BALLY, J.; JOB, C.; JOB, D. Seed germination and vigor. **Annual review of plant biology**; 63, 507-533. 2012.
- Rede reativa de genes de oxigênio de plantas. **Trends Plant Science**; 9 , 490-49. 2004.
- RIBEIRO, M.A.D.C. Contaminação do solo por metais pesados. **Master's thesis**; 2013.
- ROCHA, J.C.; ROSA, A.H.; CARDOSO, A.A. Introdução à química ambiental. **Artmed Editora**; 2009.
- ROMERO, P.R.; CANTÚ, A.M. Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo: la experiencia en México. **Instituto Nacional de Ecología**; 2008.
- ROSA, A.D.S. Fitorremediação de pesticidas utilizados em lavouras de arroz através do cultivo hidropônico de alface (*Lactuca sativa* L.). 2013.
- RYTER, S.W.; TYRRELL, R.M. Singlet molecular oxygen ($^1\text{O}_2$): a possible effector of eukaryotic gene expression. **Free radical biology and medicine**; 24:(9) 1520-1534. 1998.
- SANDERMANN JR, H. Plant metabolism of xenobiotics. **Trends in biochemical sciences**; 17:(2) 82-84. 1992.

SCHOPFER, P.; PLACHY, C. Control of seed germination by abscisic acid: II. Effect on embryo water uptake in *Brassica napus* L. **Plant Physiology**, 76:(1) 155-160. 1984.

SIES, H.; CADENAS, E. Oxidative stress: damage to intact cells and organs. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*. **Biological Sciences**; 311:(1152) 617-631. 1985.

SILVA, M.S.R.; RAMOS, J.F.; PINTO, A.G.N.. Metais de transição nos sedimentos de igarapés de Manaus-AM. **Acta Limnologica Brasiliensis**; 11, 89-100. 1999.

SOARES, C.R.F.S.; SIQUEIRA, J.O.; CARVALHO, J.D.; MOREIRA, F.M.S.; GRAZZIOTTI, P.H. Crescimento e nutrição mineral de *Eucalyptus maculata* e *Eucalyptus urophylla* em solução nutritiva com concentração crescente de cobre. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**; 12:(3) 213-225. 2000.

SOARES, G.L.G.; VIEIRA, T.R. inibição da germinação e do crescimento radicular de alface (**CV. Floresta e Ambiente**; 7, 190-197. 2012.

SODRÉ F.F.; MONTAGNER C.C.; LOCATELLI M.A.F.; JARDIM W.F. Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos em águas superficiais da região de Campinas. **J Braz Soc Ecotoxicology**; 2, 187-96. 2007.

SOUZA FILHO, A. D. S.; ALVES, S. Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais. **Embrapa Amazônia Oriental**; 2002.

STEINER, N.; GEC, R.; **Environ. Prog**; 11: 261. 1992.

STENBAEK, A.; JENSEN, P. E.; Redox regulation of chlorophyll biosynthesis. **Phytochemistry**, 71(8-9), 853-859. 2010

STEPHENSON, J. Testimony Before the Subcommittee on Commerce, Trade, and Consumer Protection, Committee on Energy and Commerce, House of Representatives: Options for Enhancing the Effectiveness of the Toxic Substances Control Act. **US Government Accountability Office**; 2009.

TEIXEIRA, L.A.C.; PATRIARCA, P.; BONFATTI, J.M.; MONDONI, M. Tratamento de águas e efluentes com peróxido de hidrogênio: possibilidades interessantes para a indústria de celulose e papel. 2013.

TRANI, P.; TIVELLI, S.; PURQUERIO, L.; AZEVEDO FILHO, J.A. Hortaliças-Alface (*Lactuca sativa* L.). **Instituto Agronômico de Campinas (IAC)**; 2005.

TUTEJA, N. Mecanismos de alta tolerância à salinidade em plantas. **Meth. Enzymol .: Osmosens. Osmosignal**; 428, 419 – 438. 2007.

WALKER, C.H.; SIBLY, R.M.; HOPKIN, S.P.; PEAKALL, D.B. Princípios de ecotoxicologia . **Pressione CRC**; 2002.

WOJTYLA, L.; LECHOWSKA, K.; KUBALA, S.; GARNCZARSKA, M. Different modes of hydrogen peroxide action during seed germination. **Frontiers in plant Science**; 7:(66). 2016.

ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações. 2. ed. São Carlos: **RiMa**; 486. 2008.

ZEMAN, C.; RICH, M.; ROSE, J. World water resources: trends, challenges, and solutions. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**; 5:(4) 333-346. 2006.