

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE PEROXIDÁSICA COMO INDICADORA TOXICOLÓGICA NA PLANTA *VETIVERIA ZIZANIOIDES* EXPOSTA A METAIS TÓXICOS

Modalidade: (x) Ensino () Pesquisa () Extensão

Nível: () Médio (x) Superior () Pós-graduação

Área: () Química () Informática () Ciências Agrárias () Educação (x) Multidisciplinar

Autores : Georgiana Bossardi RISSARDI (Acadêmico); Albertina Xavier da Rosa CORRÊA (Orientador UNIVALI); Dalva SOF (Pesquisador); Claudemir Marcos RADETSKI (Pesquisador) e Renan C. TESTOLIN (Pesquisador)

Introdução

Nos últimos anos, o nível de compostos xenobióticos nos ecossistemas aquáticos vem aumentando de forma significativa como resultado da atividade antropogênica sobre o meio ambiente. Tal fato tem contribuindo para a redução da qualidade ambiental, bem como para o comprometimento da saúde dos seres vivos que habitam esses ecossistemas (ARIAS et al., 2007).

A utilização de bioindicadores para avaliação da qualidade de um ambiente é um parâmetro significativo e sensível que por intermédio de suas reações pode-se identificar um poluente/estressor ambiental. A exposição de um bioindicador a uma ou mais substâncias tóxicas provoca uma série de respostas que podem ser medidas quantitativamente e relacionadas ao problema ambiental e conseqüentemente a disponibilidade do estressor, por isso torna-se essencial estudos com variados tóxicos e bioindicadores permitindo assim um conhecimento maior sobre os efeitos dos tóxicos nas plantas e em quais quantidades este pode colocar em risco os ecossistemas e a vida humana (PERIN, 2005).

No presente estudo, foi avaliada a atividade peroxidásica como indicadora toxicológica na planta *Vetiveria zizanioides* exposta a metais pesados (Cádmio e Chumbo). Para a obtenção dos dados foram realizadas as análises na atividade peroxidásica na planta em diferentes concentrações dos tóxicos cádmio e chumbo, assim como em diferentes tempos de exposição. Por fim, houve a determinação por espectrofotometria de plasma IPC - óptico a quantidade absorvida dos tóxicos pela massa da seca da raiz da planta.

Material e Métodos

O capim vetiver não é originalmente uma espécie vegetal aquática, por este fato foi realizada a adaptação das mudas, sendo colocadas em recipientes de vidro com água destilada. Após 24 h foram adicionados 250 ml de solução nutritiva da solução de Hoagland modificada

por Arnon, (1950). Após a adaptação da planta, o meio foi contaminado com os metais tóxicos (cádmio e chumbo), sendo a via de exposição através do contato com as raízes.

O experimento foi feito com concentrações e tempos de exposição diferentes, em quintuplicata. Os níveis utilizados foram: 10, 20, 40 e 80 vezes acima do nível permitido de metais pesados pela Resolução do CONAMA 357/2005 para lançamento de efluentes, conforme tabela 1.

Tabela 1: Concentração dos metais Cádmio e Chumbo utilizados no experimento.

<i>Metal</i>	<i>Limite da Resolução CONAMA 357/2005</i>	C_1	C_2	C_3	C_4
Cd	0,2 mg / L	2,0 mg / L	4,0 mg / L	8,0 mg / L	16,0 mg / L
Pb	0,5 mg / L	5,0 mg / L	10,0 mg / L	20,0 mg / L	40,0 mg / L

Para determinação da atividade da peroxidase, as plantas foram expostas ao tóxico em um período total de 12 dias para o chumbo, sendo coletadas dos recipientes em um intervalo de 4 em 4 dias. Para o cádmio, as plantas ficaram expostas ao tóxico 20 dias, sendo coletadas em um intervalo de 3 em 3 dias. No cádmio as plantas ficaram um maior tempo em adaptação no meio aquoso.

No teste foi realizado dois controles. No controle 1 (solo), o experimento foi realizado por amostragem logo após a padronização das mudas, já o controle 2 (água), permaneceu em meio aquoso no decorrer do experimento, sendo realizados testes nos mesmos tempos de exposição dos tóxicos.

A determinação da atividade enzimática da peroxidase na planta foi avaliada pelo método descrito por Chance (1970 *apud* RADETSKI, 1996). Já a quantificação dos metais seguiu o método relatado por

Resultados e discussão

Análise Química da Planta pelo Método de IPC

Os resultados da espectrofotometria de plasma para a massa seca das partes da raiz indicaram que o capim vetiver absorveu os tóxicos (Figura 1). De maneira geral, pode-se observar que o efeito da aplicação de doses crescentes dos metais Cd e Pb, na massa seca da raiz do capim vetiver apresentaram níveis crescentes de absorção em quase todas as concentrações estudadas. Analisando isoladamente cada tóxico, pode-se observar que a fitoextração (ou bioabsorção) do capim vetiver pelo cádmio apresenta um comportamento crescente e linear com uma maior quantidade de Cd 2+ no maior nível estudado (40,0 mg/L).

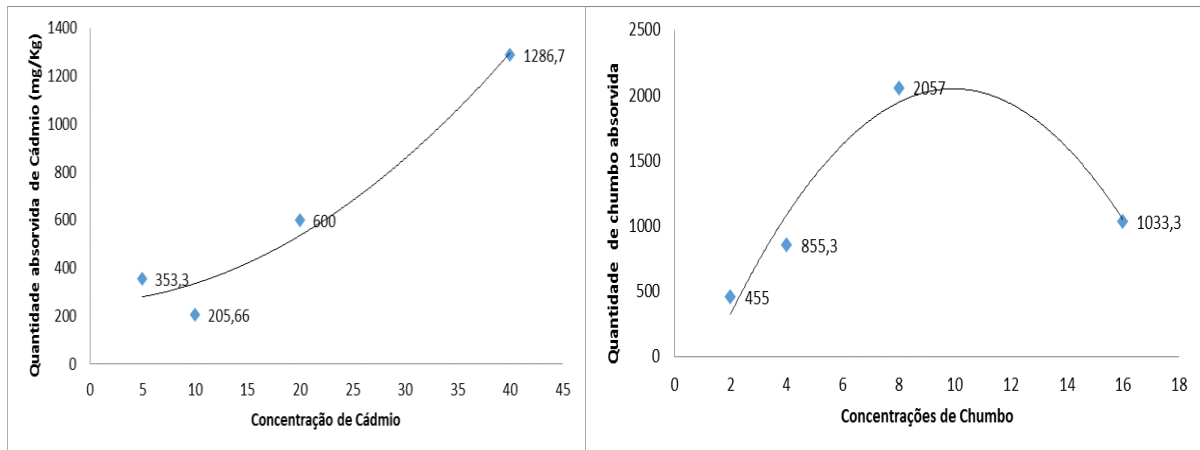


Figura 1 - Quantidade absorvida de Cádmio e Chumbo sob diferentes concentrações do tóxico.

Segundo Raskin *et al.* (1994), uma planta para ser hiperacumuladora de Cd^{2+} tem de ser capaz de extrair e acumular no seu tecido seco mais de 100 mg/kg, isto foi observado neste estudo já na menor concentração analisada para o cádmio (2,0 mg/L), mais de três vezes o mínimo (100 mg/kg). Tavares (2009), comparando a fitoextração do aguapé *Eichhornia crassipes* Nash e da *Vetiveria zizanioides* encontrou o valor de 170 mg/Kg para a menor concentração estudada da parte seca da raiz do capim vetiver. Ainda o mesmo autor, comenta que o Cd^{2+} mesmo não sendo um elemento essencial, mostrou-se ser eficientemente absorvido pelas raízes do capim vetiver. Alguns fatores conforme citados por Araujo (2000), podem facilitar a absorção do cádmio pela planta como pH, influência dos níveis de cálcio, presença de enxofre e de metais pesados.

De acordo com Brown *et al.* (1995), uma planta para ser hiperacumuladora de Pb tem de ser capaz de acumular no seu tecido seco mais de 1.000 mg/kg, ou seja 0,1% do chumbo na massa seca da planta. Neste trabalho, foram encontrados os maiores níveis nas concentrações C3 e C4. Na concentração C3 foi encontrado o dobro do mínimo (1.000 mg/kg) e na concentração C4 o mínimo (1.000 mg/kg). Segundo Romeiro *et.al*, (2007) apesar de não ser um elemento essencial, o Pb é facilmente absorvido e acumulado em diferentes partes das plantas. A absorção de chumbo é regulada pelo pH, tamanho de partículas, entre outras. O autor ainda comenta, que a planta ideal para fitoextração de metais pesados deve ser tolerante aos seus altos níveis, acumular grandes quantidades na parte aérea, ter alta taxa de crescimento, produzir muita biomassa e ter sistema radicular abundante.

Análise Enzimática da Planta – Atividade da Peroxidase

Os resultados estatísticos mostraram que os desvios da linearidade nas análises de regressão não foram significativos, exceto aos 12 dias de exposição das raízes ao chumbo (tabela 2), indicando que não há uma relação consistente entre as concentrações dos metais e a atividade da peroxidase, bem como entre o tempo de exposição e a atividade enzimática nas folhas e raízes da planta *Vetiveria zizanioides*.

Tabela 2. Influência do chumbo na atividade da peroxidase (média $\pm$ desvio padrão, expresso em nmols de H_2O_2 decomposto $\min^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína $^{-1}$) nas raízes de *Vetiveria zizanioides*, ao longo de 12 dias. É apresentado o valor do teste de Fisher (F) para o desvio da linearidade com a respectiva probabilidade (p) ao nível de significância de 5%. Valores de p em negrito indicam significância estatística.

Dias	Concentração (mg L^{-1})				Desvio da linearidade	
	2	4	8	16	F	P
Controle	9,44 $\pm$ 13,295	18,021 $\pm$ 7,404	16,07 $\pm$ 13,717	14,05 $\pm$ 8,368		
4	3,365 $\pm$ 4,876	3,406 $\pm$ 4,676	4,158 $\pm$ 5,272	9,285 $\pm$ 9,347	3,063	0,097
8	3,973 $\pm$ 3,642	3,199 $\pm$ 3,204	1,074 $\pm$ 1,669	1,715 $\pm$ 2,013	1,878	0,187
12	0,330 $\pm$ 0,357	0,458 $\pm$ 0,570	0,028 $\pm$ 0,062	1,888 $\pm$ 1,587	8,212	0,010

Alguns autores consideram as defesas antioxidantes e parâmetros de dano oxidativo como ferramentas de baixa sensibilidade à poluição, de dificuldade em compreender o mecanismo de resposta, de moderada relevância toxicológica ao organismo e presença de outros fatores externos que podem afetar esses parâmetros (VAN DER OOST, BEYER & VERMEULEN, 2003). Autores que trabalham com esses parâmetros também reconhecem a dificuldade em lidar com fatores como diferenças de sensibilidade entre as espécies, tempo e intensidade de exposição, além da variação de respostas entre os diferentes parâmetros analisados (WINSTON & DI GIULIO, 1991; REGOLI *et al.*, 2002).

Conclusão

O uso da planta *Vetiveria zizanioides* como uma planta fitoextratora dos metais tóxicos (Cd e Pb) foi confirmada, assim como seu potencial de absorção e acumulação dos tóxicos, mostrando que a planta pode ser utilizada em programas de remediação ambiental.

A atividade da peroxidase tanto nas folhas como nas raízes da planta *Vetiveria zizanioides*, de modo geral, não apresentou alterações em função das concentrações e do tempo de exposição ao cádmio e ao chumbo.

Sugestões para trabalhos futuros: realizar experimentos analisando outros tipos de enzimas, podendo comparar com a atividade da peroxidase; promover teste de IPC na parte aérea da planta, para saber se houve ou não o translocamento dos tóxicos; efetuar ensaios com

a *Vetiveria zizanioides* durante um período maior de tempo e em intervalos mais longos; analisar a fisiologia do vegetal para saber em qual lugar está armazenado o tóxico, e se está na forma quelada.

Referências

- ARAUJO, J.M. **Alterações morfofisiológicas induzidas pelo cádmio em células de *Saccharum officinarum* L. var. Murcote (laranja) cultivadas em suspensão.** Campinas, 2000. 108 p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas.
- ARIAS, A.R.L.; BUSS, F.D.; ALBURQUERQUE, C; INÁCIO, A.F.; FREIRE, M.M.; EGLER, M.; MUGNAI, R.; BAPTISTA, D.F. **Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos.** Ciência e Saúde Coletiva, Rio de Janeiro, (12)1:61-72, 2007.
- BROWN, J. K.; FROHLICH, D. R.; ROSELL, R. C. **The sweet potato or silverleaf whiteflies: biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex.** Annual Review Entomology, Palo Alto, v. 40, p. 511-534, 1995a.
- CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente (2005). **Resolução, nº 357, de 17 de março de 2005.** Ministério do Meio Ambiente, 23 p. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>. Acesso em: 10 de abril de 2011.
- G.W. WINSTON, R.T. DI GIULIO.1991.**Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms** Aquat. Toxicol., pp. 137–161
- PERIN, G. **Ecotoxicologia integrada quantitativa.** Joinville: UNIVILLE, 2005.
- RADETSKI, M.C. **Interet de l'utilisation de quelques enzymes du stress oxydant chez les vegetaux: relations avec les tests de phytotoxicite et de phytogenotoxicite.** Dissertação (Doutorado em toxicologia ambiental) – Universidade de Metz, França, 1996.
- RASKIN, I.; P.B.A. DUSHENKOV, S. & SALT, D.E., 1994. **Bioconcentration of heavy metal by plants.** Current Opininions in Biotechnology, v.5, p.p. 285-290.
- REGOLI F.; PELLEGRINI D.; WINSTON GW.2002. **Application of biomarkers for assessing the biological impact of dredged materials in the Mediterranean: the relationship between antioxidant responses and susceptibility to oxidative stress in the red mullet (*Mullus barbatus*).** Mar Pollut Bull 44:912–922
- R Deepa, P Senthilkumar, S Sivakumar, P Duraisamy, CV Subbhuraam **Copper availability and accumulation by *Portulaca oleracea* Linn. stem cutting** Environ Monit Assessment, 116 (2006), pp. 185–195
- ROMEIRO, S., LAGÔA, A.M.M.A. ; FURLANI, P.R. ; ABREU, C.A. ; PEREIRA, B.F.F. **Absorção de chumbo e potencial de fitorremediação de *Canavalia ensiformes* L. Bragantia** (Campinas), v.66, n.2 , p.327-334, 2007.
- VAN DER OOST R, BEYER J, VERMEULEN NPE.2003. **Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review.** Environ Toxicol Pharmacol 13:57–149.