



BRASSICA JUNCEA L. (BRASSICACEAE) E CHUMBO: FITORREMEDIAÇÃO E TRANSFERÊNCIA PELA CADEIA TRÓFICA

Thiago Mendonça¹

Leila Teresinha Maranhão²

1 - Universidade Positivo, Curso de Ciências Biológicas, Rua Prof. Viriato Parigot de Souza, 5300, CEP: 81.280 - 330, Curitiba, PR, Brasil - thiago_mendonca@hotmail.com;

2 - Universidade Positivo, Mestrado Profissional em Gestão Ambiental e Curso de Ciências Biológicas, Rua Prof. Viriato Parigot de Souza, 5300, CEP: 81.280 - 330, Curitiba, PR, Brasil-Phone number: 55 41 3317 3277 - maranhao@up.edu.br;

INTRODUÇÃO

A presença de áreas contaminadas com metais pesados como o Chumbo (Pb), pode causar, em um contexto mais amplo, prejuízos à saúde ambiental e de forma bastante prática, redução da produção agrícola (Sharma & Dubey, 2005). Das diferentes formas de remediar uma área contaminada, a Fitorremediação vem sendo estudada como alternativa aos tradicionais métodos de escavação e remoção.

Definida como o uso de espécies vegetais e da microbiota associada às suas raízes, agrega uma série de estratégias, entre essas, a Fitoextração, que relaciona - se à absorção e translocação de determinados contaminantes do meio para a biomassa vegetal (USEPA, 2000).

Neste contexto, a tolerância de uma espécie (Sharma & Dubey, 2005), pode ser verificada para caracterizá - la fitorremediadora, bem como o seu rápido crescimento e alta produção de biomassa (Ghosh & Singh, 2005).

Muitos estudos relatam *Brassica juncea* como espécie fitorremediadora de solos contaminados com metais pesados (Kumar *et al.*, 1995; Begonia *et al.*, 1998). Kumar *et al.*, 1995) relatam esta espécie como fitoextratora, devido à alta quantidade de Pb absorvido e à translocação de Pb das raízes para as folhas, sugerindo ainda grande variabilidade genética na espécie com relação a esta habilidade.

A absorção de metais e consequente armazenamento nos tecidos vegetais pode auxiliar no tratamento de diferentes resíduos que são dispostos no ambiente (Salt *et al.*, 1995), muito embora possa haver risco de transferência do contaminante para os demais organismos que compõem a cadeia trófica. Ainda assim, Peralta - Videira *et al.*, (2009), afirmam que não existem dados contundentes sobre a transferência de metais de plantas para animais, em especial para o ser humano.

OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi avaliar a fitoextração de Pb por *B. juncea* em condição experimental controlada, bem como relacionar este parâmetro com alguns dos riscos relacionados à transferência deste metal para outros níveis tróficos.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1-Montagem do experimento

O experimento foi conduzido durante 49 dias em casa de vegetação, com a temperatura variando de 17°C pela manhã e 30°C à tarde.

Ao todo, 28 vasos com capacidade de 1 kg cada foram impermeabilizados e preenchidos com substrato (Riga Snikers®). Dentre os principais atributos deste, destacam - se o pH 6,5 (em CaCl₂), a ausência de Alumínio e bons níveis de nutrientes como Cálcio (7,70 cmol_c.kg⁻¹), Magnésio (3,00 cmol_c.kg⁻¹), Potássio (2,78 cmol_c.kg⁻¹), Nitrogênio (2,7 g.kg⁻¹) e Fósforo (375 mg.kg⁻¹).

Quatro foram os grupos amostrais, cada um com 7 vasos e cada qual destes com uma muda de *B. juncea* com cerca de 15 cm de altura, previamente cultivadas em substrato vermiculta. A determinação das concentrações de Acetato de Chumbo neutro P.A. (C₄H₆O₄Pb.3H₂O-Lafan®) utilizadas no experimento baseou - se no trabalho de Kumar *et al.*, (1995), onde espécies do gênero *Brassica*, dentre as quais *B. juncea*, foram cultivadas em meio contaminado com 500 mg.L⁻¹ de nitrato de chumbo. No presente estudo, entretanto, além da forma química do contaminante ser diferente, o substrato utilizado foi contaminado com quatro concentrações de Acetato de Chumbo: 0 mg.kg⁻¹ (Tcontrole), 250 mg.kg⁻¹ (T250), 500 mg.kg⁻¹ (T500) e 750 mg.kg⁻¹ (T750) de substrato.

As unidades experimentais foram dispostas de maneira casualizada e a irrigação foi feita diariamente, com água destilada, mantendo a capacidade de campo de 85%. A in-

specção e remoção de pragas foi realizada manualmente durante todo o experimento.

2.2. - Parâmetros analisados

Avaliou - se o índice de sobrevivência dos indivíduos de *B. juncea* em cada tratamento. Após 49 dias de experimentação fez - se o desplante dos materiais, mensurou - se o teor de clorofila conforme proposto por Barnes *et al.*, (1992); mensurou - se o volume das raízes pelo método de volume desprezado em proveta (Ferrera - Cerrato *et al.*, 006); o comprimento das raízes e a altura da parte aérea com régua.

Após a secagem do material em estufa (60°C) até massa constante, estimou - se a biomassa produzida nas raízes e parte aérea por meio da pesagem do material. Depois de triturado e peneirado, o pó proveniente de cada tratamento foi homogeneizado e submetido à digestão nitro - perclórica proposta por Zazoski & Burau (1977) e adaptada por Carneiro *et al.*, (2006), para posterior leitura em Espectrofotometria de Absorção Atômica Shimadzu® (AA - 680) e determinação do teor de Pb absorvido nas raízes e parte aérea.

2.3-Análise estatística

Os dados foram analisados com o auxílio do software Statistica for Windows®, empregando - se a análise das variâncias (ANOVA) seguida pelo teste de Levene. A hipótese avaliada procurou verificar se as médias dos grupos testados ao nível de 5% de probabilidade ($p > 0,05$) eram estatisticamente iguais.

RESULTADOS

A tolerância dos vegetais cultivados em substrato contendo Pb foi atribuída ao índice de sobrevivência dos mesmos, de 100%, independentemente do tratamento. Além disso, os vegetais não exibiram sinais visíveis de alterações morfológicas que pudessem ser atribuídos ao Pb. Fato este que não corrobora com o que foi relatado por Begonia *et al.*, (1998), uma vez que ao analisar o comportamento de *B. juncea* em solo contaminado com Pb, observaram pigmentação antocianínica nas folhas em substrato com a presença de Pb, o que os autores relacionaram a uma provável deficiência de fósforo devido à formação de complexos insolúveis no solo. No presente estudo, não foram observados sintomas como clorose ou mudanças na coloração, sendo verificado bom crescimento e desenvolvimento das plantas em todos os tratamentos.

As análises dos teores de clorofila a, b e total (a+b) não revelaram diferenças significativas, exceto por esta última, em que constatou - se diferença entre T250 e T500 em relação ao Tcontrole ($p=0,04$). Em relação à clorofila a, Tcontrole apresentou teor mais alto (2,91 mmol.mg⁻¹ ± 0,90) que T250 (1,72 mmol.mg⁻¹ ± 0,55), T500 (1,41 mmol.mg⁻¹ ± 0,24) e T750 (2,24 mmol.mg⁻¹ ± 0,48). Tendo por base Tcontrole como referência a 100%, houve redução no teor de clorofila a em T250 (40,89%), T500 (51,55%) e T750 (23,02%).

Em relação à clorofila b, resultado semelhante foi observado, sendo o maior teor encontrado em Tcontrole (0,61 mmol.mg⁻¹ ± 0,19). Em T250 (0,41 mmol.mg⁻¹ ± 0,10), T500 (0,32 mmol.mg⁻¹ ± 0,06) e T750 (0,44 mmol.mg⁻¹

± 0,08) os valores foram menores. Ainda assim, representam redução de 32,79% em T250, 47,54% em T500 e 27,87% T750, em relação ao Tcontrole.

Quando comparados os teores de clorofila total, novamente os maiores teores foram encontrados em Tcontrole (3,52 mmol.mg⁻¹ ± 1,08), quando comparados ao T250 (2,13 mmol.mg⁻¹ ± 0,64), T500 (1,74 mmol.mg⁻¹ ± 0,28) e T750 (2,68 mmol.mg⁻¹ ± 0,56). Por ser a soma de ambas as clorofilas a e b, a redução mais expressiva foi entre T250 (39,49%), T500 (50,57%), estatisticamente distintos. T750 apresentou redução de 23,58% em relação ao controle. Mesmo que não sejam conhecidos todos os mecanismos que regem a absorção, translocação e a interação deste metal no interior do vegetal, parâmetros como o teor de clorofila podem auxiliar na compreensão global do processo. Sharma & Dubey (2005), em revisão sobre a toxicidade do Pb nas plantas, destacaram que a diminuição da taxa de fotossíntese na presença de Pb pode ocorrer devido à deformação da estrutura dos cloroplastos e conseqüente diminuição da síntese de clorofila, o que não pode ser relacionado ao presente estudo, pois os resultados demonstram teores de clorofila semelhante entre os grupos.

Os demais parâmetros analisados não revelaram diferença significativa entre os grupos amostrais, muito embora tenha havido tendência ao aumento da biomassa naqueles expostos ao Pb. A biomassa produzida em Tcontrole foi de 4,19 g ± 1,52 nas raízes e de 6,41 ± 1,16 na parte aérea. Nas raízes de T250, a biomassa foi de 8,76 g ± 5,55, o que representou aumento de 109,07% em relação ao Tcontrole. Na parte aérea deste grupo, a biomassa de 7,46 g ± 1,22, o que representou aumento de 15,77%, também em relação ao controle.

Nas raízes de T500 foram produzidos 6,82 g ± 5,17 de biomassa (aumento de 62,86%), enquanto na parte aérea 6,71 g ± 2,85 (aumento de 4,68%). Já para as raízes de T750, o total produzido foi de 6,25 g ± 3,00 (aumento de 49,1%) e, na parte aérea, o total foi de 6,85 g ± 1,41, (aumento de 6,86%).

Conforme supracitado, embora não estatisticamente significativos, estes resultados demonstram tendência ao aumento na produção de biomassa nos indivíduos submetidos ao Pb no substrato.

Ao analisar a biomassa produzida por *Brassica rapa* subsp. *chinensis* em solo contaminado com Pb, utilizando como quelante o ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), Shen *et al.*, (2002) verificaram que a biomassa produzida foi similar no grupo controle e tratamento. Esses resultados corroboram com o presente estudo, onde mesmo na ausência de um agente quelante, pode - se verificar que a presença de Pb no solo não provocou alterações quanto a esse aspecto.

O volume e comprimento das raízes e a altura da parte aérea foram parâmetros que se mantiveram semelhantes entre os grupos amostrais, o que pode indicar baixa influência do Pb nestas variáveis.

O fato de *B. juncea* ter apresentado tolerância ao Pb, enquanto poluente presente no substrato, é uma das principais características de espécies potencialmente fitorremediadoras. Além disso, também é importante a habilidade de se ajustar e sobreviver ao meio contaminado (Peralta - Videia *et al.*, 2009).

Neste sentido, *B. juncea* mostrou - se promissora na fitorremediação de áreas contaminadas com Pb, principalmente por ter tolerado e sobrevivido na presença de Pb. Sharma & Dubey (2005) citam que esse comportamento pode ser atribuído à capacidade que algumas plantas apresentam em restringir o metal em suas paredes celulares, por meio de ligações estabelecidas em locais específicos deste componente.

O Pb foi absorvido em maiores quantidades nas raízes, sendo verificado um aumento gradativo na concentração do metal na biomassa vegetal conforme houve o aumento da sua concentração no substrato. Nos três grupos onde houve absorção de Pb, as raízes apresentaram teores de 616,33 mg.kg⁻¹ ± 46,81 em T250, 995,34 mg.kg⁻¹ ± 44,01 em T500 e de 1128,68 mg.kg⁻¹ ± 47,88 em T750.

Na parte aérea, foi verificada relação oposta, uma vez que as concentrações diminuíram em função do aumento na concentração de Pb no substrato. Em T250 foram encontrados os maiores teores (107,71 mg.kg⁻¹ ± 5,59), que diminuíram gradativamente em T500 (89,49 mg.kg⁻¹ ± 20,18) e T750 (58,96 mg.kg⁻¹ ± 12,60). Begonia *et al.*, (1998) encontraram resultados semelhantes no que tange às raízes, porém opostos aos do presente estudo no que se refere à parte aérea, pois, em ambos os compartimentos vegetais, os autores verificaram aumento na concentração de Pb no vegetal conforme o aumento da concentração encontrada no solo.

Deve - se ressaltar que a distribuição dos metais não se dá de forma homogênea no solo (Podar *et al.*, 004), sendo afetada pelo pH e tamanho das partículas do solo, dentre outros fatores (Sharma & Dubey, 2005) e que a maior retenção de Pb nas raízes do vegetal pode ser associada à barreira imposta pela endoderme à passagem do metal das raízes para a parte aérea do mesmo, o que justificaria os menores teores de Pb nas folhas e caules (Sharma & Dubey, 2005).

Estudando a transferência de selênio, cádmio, zinco, arsênio e chumbo do substrato para espécies de diferentes níveis tróficos de um lago australiano, Barwick & Maher (2003) verificaram as maiores concentrações de Pb nos níveis tróficos inferiores, como nos poliquetas da espécie *Eunicida* sp. (13 ± 2 µg.g⁻¹), epífitas (7 ± 5 µg.g⁻¹) e ainda no zooplâncton e substrato do lago. Ainda assim, não constataram a transferência de Pb pela cadeia alimentar de maneira expressiva, o que incita, entretanto, a necessidade de acompanhar fontes de contaminação com maior atenção e desenvolver estratégias de manejo para regular os níveis de poluição.

Embora no presente trabalho se tenha estudado uma espécie comumente citada na literatura como fitorremediadora de metais pesados, é importante salientar que se trata de uma espécie popularmente empregada na alimentação. Por este motivo e, mesmo que a concentração do metal tenha sido baixa nas folhas, outros componentes da cadeia trófica poderiam ser contaminados por Pb, sendo necessário reconhecer que há um risco de contaminação associado à exposição uma espécie tolerante a um ambiente contaminado.

Há, ainda, a necessidade de incluir os riscos associados e medidas necessárias à minimização da transferência de elementos tóxicos para outros elos da cadeia trófica (Peralta - Videira *et al.*, 2009).

Neste ínterim, Abou - Shanab *et al.*, (2007), afirmam que do ponto de vista toxicológico, não translocar para as folhas seria uma característica desejável, pois a transferência supracitada seria dificultada.

CONCLUSÃO

Mesmo que os maiores teores de Pb absorvido tenham permanecido nas raízes dos vegetais expostos, *B. juncea* mostrou - se tolerante ao metal presente no solo e apresentou bom crescimento independentemente do tratamento.

A espécie mostrou - se promissora na fitorremediação de áreas impactadas com Pb, uma vez que em escala de Casa de Vegetação, a mesma atingiu bons resultados. Apesar das maiores parcelas de Pb terem permanecido nas raízes, o seu uso em programas de fitorremediação é viável, pois seu sistema de raízes favorece a remoção completa do vegetal do solo após o cultivo e, ainda, a disposição adequada de sua biomassa. Pode - se afirmar, ainda, que a conexão entre os diferentes níveis da cadeia trófica foi, parcialmente, inviabilizada pelo acúmulo nas raízes, fato este considerado positivo.

REFERÊNCIAS

- Abou - Shanab, R.; Ghanem, N.; Ghanem, K.; Al - Kolaibe, A. 2007. Phytoremediation Potential of Crop and Wild Plants for Multi - metal Contaminated Soils. *Res. J. Agric. & Biol. Sci.* 3(5): 370 - 376.
- Barwick, M. & Maher, W. 2003. Biotransference and biomagnification of selenium copper, cadmium, zinc, arsenic and lead in a temperate seagrass ecosystem from Lake Macquarie Estuary, NSW, Australia. *Mar. Environ. Res.*, 56, 471-502.
- Barnes, J.D.; Balagher, L.; Manrique, E.; Elvira, S.; Davison, A.W. 1992. A reappraisal of use of DMSO for extraction and determination of chlorophylls a and b in lichens and higher plants. *Environ. Exp. Bot.*, 32: 85 - 100.
- Begonia, G.B.; Favis, C.D.; Begonia, M.F.T. & Gray, C.N. 1998. Growth Responses of Indian Mustard [*Brassica juncea* (L.) Czern.] and its Phytoextraction of Lead from a Contaminated Soil. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 61: 38 - 43.
- Carneiro, C.; Reissmann, C.B. & Marques, R. 2006. Comparação de métodos de análise química de K, Ca, Mg e Al em folhas de erva - mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). *Cerne*, 12 (2): 113 - 122.
- Ferrera - Cerrato, R.; Lopes - Ortiz, C.; Alarcon, A.; Delgadillo - Martinez, J.; Trejo - Aguilar, D.; Mendoza - Lopez, R.; Cruz - Sanchez, S. 2006. Tolerancia y fitorremediacion de suelo contaminado con combustoleo por tres especies de gramineas. In: Valardo - Poggi *et al.*, Environmental Biotechnology and Engineering Proceedings of the Second International Meeting on Environmental Biotechnology and Engineering (21 MTBE), Mexico City, Mexico, 2006.
- Ghosh, M. & Singh, S.P. 2005. A review on Phytoremediation of heavy metals and utilization of its byproducts. *Appl. Ecol. Environ. Res.*, 3(1): 1 - 18.

- Kumar, P.B.A.N.; Dushenkov, V. & Motto, H. 1995.** Phytoextraction: the use of plants to remove Heavy Metals from soils. *Environ. Sci. Technol.*, 29 (5): 1232 - 1238.
- Peralta - Videira, J.R.; Lopez, M.L.; Narayan, M.; Saupe, G. & Gardea - Torresdey, J. 2009.** The biochemistry of environmental heavy metals uptake by plants: Implications for the food chain. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 41: 1665 - 1677.
- Podar, D.; Ramsey, M.H. & Hutchings, J. 2004.** Effect of cadmium, zinc and substrate heterogeneity on yield, shoot metal concentration and metal uptake by *Brassica juncea*: implications for human health risk assessment and phytoremediation. *New Phytol.*, 163: 313-324.
- Salt, D.E.; Blaylock, M.; Kumar, N.P.B.A., Dushenkov, V.; Ensley, B.D.; Chet, I. & Raskin, I. 1995.** Phytoremediation: A Novel Strategy for the removal of toxic metals from the Environment Using plants. *Biotechnology*, 13: 468 - 474.
- Sharma, P. & Dubey, R.S. 2005.** Lead toxicity in plants. *Braz. J. Plant Physiol.*, 17(1): 35 - 52.
- Shen, Z.G.; Li, X.D.; Wang, C.C.; Chen, H. M. & Chua, H. 2002.** Lead Phytoextraction from Contaminated Soil with High - Biomass Plant Species. *J. Environ. Qual.*, 31:1893-1900.
- USEPA-United States Environmental Protection Agency. 2000.** Introduction to Phytoremediation. Report EPA/600/R - 99/107, Washington D.C., p.104.
- Zazoski, R.J. & Burau, R.G. 1977.** A rapid nitric - perchloric acid digestion method for multi - element tissue analysis. *Comm. Soil. Sci. Plant Anal.*, 8: (5), 425 - 436.