

Níveis Tóxicos de Cd e Zn em Plantas de Milho (*Zea mays* L.) Cultivadas em Solo Contaminado

K.P.V. CUNHA⁽¹⁾, C.W.A. NASCIMENTO⁽²⁾, R.M.M. PIMENTEL⁽³⁾, A.M.A. ACCIOLY⁽⁴⁾, A.J. SILVA⁽⁵⁾

RESUMO – Dentre as várias formas de contaminação do meio ambiente resultante das diversas atividades industriais e agrícolas, a contaminação do solo por metais pesados e suas conseqüências ao ecossistema tem sido bastante estudada. Dessa forma, um experimento foi conduzido em casa de vegetação com o objetivo de determinar os níveis tóxicos de Cd e Zn no solo e identificar sintomas visuais de toxicidade e alterações anatômicas em folhas e raízes de milho expostas a esses metais. Plantas de milho foram cultivadas em solo contaminado com doses crescentes de Cd (0, 1, 3, 5, 10 e 20 mg kg⁻¹) e de Zn (0, 10, 30, 50, 100 e 150 mg kg⁻¹). Após 30 dias, amostras de folhas maduras e raízes foram coletadas para estudo de alterações anatômicas. A produção de matéria seca da parte aérea e das raízes de milho foi influenciada significativamente pela adição das doses crescentes. Os níveis críticos tóxicos de Cd e Zn no solo foram de 20 e 100 mg kg⁻¹, respectivamente. Os sintomas visuais de toxicidade de Zn foram clorose intermerval e marginal e necrose no ápice e margens das folhas; enquanto clorose, encarquilhamento e enrolamento de folhas foram observados para o Cd. Nas folhas, alterações anatômicas como lignificação das paredes celulares do tecido vascular, das células epidérmicas, das células colenquimáticas e da endoderme foram associadas ao aumento da exposição aos metais. Nas raízes lignificação das estrias de Caspary na endoderme possivelmente representa o aumento da barreira ao movimento apoplástico.

Introdução

A contaminação do solo por metais pesados representam sérios riscos de saúde humana e animal acarretando danos ao ecossistema em geral. Altas concentrações de metais pesados no solo são resultantes das atividades humanas, com destaque para mineração, emissões industriais, e uso de lodo de esgoto, fertilizantes e pesticidas na agricultura, além da disposição de resíduos no solo.

A determinação de níveis tóxicos de metais no solo é de extrema importância para o estabelecimento de

valores orientadores das condições de qualidade do solo tanto para a prevenção como para o controle da contaminação do ambiente. Isso porque além de atuar como recurso para a produção de alimentos, o solo atua como agentes filtrantes, degradando, imobilizando e transformando contaminantes.

Em adição a fitotoxicidade de metais pesados, alterações anatômicas e estruturais têm sido observadas em plantas submetidas a esse estresse [11]. Embora os mecanismos de tolerância das plantas a metais pesados sejam ainda pouco conhecidos, sabe-se que o comportamento das diferentes espécies de plantas frente ao excesso de metais pesados no solo é bastante variável. A elucidação desses mecanismos de tolerância que conferem à célula habilidade de acumular metais pesados é de grande interesse para o desenvolvimento de estratégias de fitoremediação, tais como, a fitoextração.

Dessa maneira, o presente trabalho teve o objetivo de determinar os níveis tóxicos de Cd e Zn no solo e identificar sintomas visuais de toxicidade e alterações anatômicas em folhas e raízes de milho expostas a esses metais.

Palavras-Chave: (metal pesado, nível tóxico, fitotoxicidade, lignificação)

Material e métodos

A caracterização física e química do solo, classificado como Argissolo Vermelho Amarelo, foi realizada de acordo com os métodos da EMBRAPA [5] (Tabela 1).

A dose de calcário para correção do pH do solo para 6,0 foi determinada a partir de curva de incubação do solo. O solo foi incubado durante 30 dias com doses crescentes de Cd (0, 1, 3, 5, 10 e 20 mg kg⁻¹ de Cd) e de Zn (0, 10, 30, 50, 100 e 150 mg kg⁻¹ de Zn) a partir de soluções preparadas com cloretos desses metais.

Duas plantas por vaso foram mantidas por 30 dias após o desbaste. Passado esse período, as raízes e a parte aérea das plantas foram separadas, lavadas em água destilada e secas em estufa até peso constante. Estes materiais foram moídos em moinho tipo Willey e após digestão nitro-perclórica [5] foram determinados os teores de Cd e Zn nos extratos por espectrofotometria de absorção atômica.

⁽¹⁾ Primeira Autora é Doutoranda do PPG-Ciência do Solo, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Endereço? E-mail: cunhakpv@yahoo.com.br (apresentadora do trabalho)

⁽²⁾ Segundo Autor é Professor Adjunto do Departamento de Agronomia, Área de Solos, Universidade Federal Rural de Pernambuco

⁽³⁾ Terceiro Autor é Professor Adjunto do Departamento de Biologia, Área de Botânica, Universidade Federal Rural de Pernambuco

⁽⁴⁾ Quarto Autor é Pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical

⁽⁵⁾ Quinto Autor é Graduando da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE. Bolsista PET/CAPEs

Apoio financeiro: CAPES e CNPq

Amostras de folhas maduras e raízes, fixadas em FAA 50 [6], foram usadas para o estudo de alterações anatómicas das plantas de milho. Seções transversais da região mediana das folhas e raízes, confeccionadas a mão livre, foram clarificadas em solução comercial de hipoclorito de sódio a 30%, neutralizadas em água acética a 1:500, lavadas em água destilada, coradas com azul de astra e safranina [2], montadas em glicerina aquosa a 50% [10]. Imagens digitais foram obtidas utilizando câmera digital Sony, acoplada a um microscópio óptico Olympus.

O experimento foi conduzido em blocos ao acaso e arranjo fatorial 6x2x2 (6 doses de metais, 2 metais e 2 níveis de calagem) com 3 repetições, totalizando 72 unidades experimentais. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e ajustes de equações de regressão pelo procedimento GLM V8 do programa estatístico SAS.

Resultados

A produção de matéria seca da parte aérea e das raízes de milho foi influenciada significativamente pela adição das doses crescentes de Cd e Zn ao solo com e sem calagem (Figura 1).

Para o Zn, a produção de matéria seca da parte aérea apresentou comportamento quadrático (Figura 1). Verifica-se aumento de até 22% com relação à testemunha, quando adicionado até 30 mg kg⁻¹ de Zn (Figura 1) seguido da queda de 10% na produção a partir da dose de 50 mg kg⁻¹ de Zn. Com base na redução de 25% da produção, a dose de 100 mg kg⁻¹ de Zn foi considerada o nível crítico tóxico de Zn no solo, visto que nessa dose ocorre a maior declividade da curva de produção de biomassa.

Para o Cd, o aumento das doses foi acompanhado de redução linear significativa na produção de matéria seca da parte aérea (Figura 1). Para o Cd a dose de 10 mg kg⁻¹ foi considerada o nível crítico tóxico do Cd no solo, que causou redução de cerca de 30% da produção.

Os sintomas visuais de toxicidade de Zn foram clorose internerval e marginal e necrose no ápice e margens das folhas; enquanto clorose, encarquilhamento e enrolamento de folhas foram observados para o Cd.

Alterações anatómicas na célula, como lignificação das paredes celulares, foram associadas ao aumento da exposição aos metais (Figura 2 e 3).

A lignificação da parede celular foi mais pronunciada nos tratamentos com Cd, quando comparados aos tratamentos com Zn (Figura 2). O efeito do Zn sobre a lignificação assemelha-se ao do Cd apenas quando em altas concentrações.

Depósitos de ligninas também foram visíveis nas paredes celulares do xilema de raízes tratadas com Cd e Zn (Figura 3). É possível observar ainda a lignificação mais acentuada das estrias de Caspary

(Figura 3).

Discussão

Para o Zn, o comportamento quadrático da produção de matéria seca da parte aérea demonstra sua função na fisiologia do milho como um micronutriente. No entanto, a redução linear de produção de matéria seca nos tratamentos de Cd, qualifica um elemento não essencial e de potencial fitotóxico elevado. Essa redução acentuada no crescimento e desenvolvimento vegetal causada pelo Cd deve-se a inibição de processos fisiológicos importantes, tais como a fotossíntese e respiração [1, 11].

Com relação aos níveis tóxicos de metais pesados, enquanto na Europa, em geral, considera-se como tóxico o teor de metal que causa a redução de 25% no crescimento de planta [9], a Agência de Proteção Ambiental dos EUA (USEPA) considera como nível tóxico apenas o teor de metal que provoca redução de 50% do crescimento da planta [7]. Para o Cd, coincidentemente, esse mesmo teor (10 mg kg⁻¹) é o valor de intervenção para Cd em solos agrícolas de acordo com CETESB [3].

A desintoxicação de metais em plantas tem sido atribuída ao acúmulo de compostos polifenólicos, como taninos e ligninas que aumentam os sítios de ligação da parede celular [11]. Polifenóis solúveis aumentaram em folhas de trigo em consequência da toxicidade de níquel [8]. E ainda o acúmulo de lignina foi observado após tratamento com Cd e Cu em folhas de ervilha [4].

A lignificação das estrias de Caspary na endoderme sugere uma limitação no movimento apoplástico do metal, restringindo a absorção dos metais a via simplástica, sendo o metal selecionado pela membrana plasmática.

Desse modo, o aumento da lignificação das paredes celulares do tecido vascular, das células epidérmicas, das células colenquimáticas e da endoderme foi associado à exposição de plantas de milho a doses crescentes de Cd e Zn.

Referências

- [1] BENAVIDES, M.P., GALLEGO, S. M., & TOMARO M. L. 2005. Cadmium toxicity in plants. *Braz. J. Plant Physiol.*, 17(1): 21-34.
- [2] BUKATSCH, F. 1972. Bemerkungen zur Doppelfärbung Astrablau-Saffranin. *Mikrokosmos*, 6: 255.
- [3] CETESB (Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental). 2001. Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo. São Paulo: Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 230p.
- [4] CHAOUI, A. & FERJANI, E. 2005. Effects of cadmium and copper on antioxidant capacities, lignification and auxin degradation in leaves of pea (*Pisum sativum* L.) seedlings. *C. R. Biol.* 328: 23-31.
- [5] EMBRAPA. 1997. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Manual de Métodos de Análise de Solo, 2.ed. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura e Abastecimento, 212p.
- [6] JOHANSEN, D. A. 1940. *Plant microtechnique*. Mc Graw Hill, New York.
- [7] KING, L. D. 1996. Soil heavy metals. In: ALVAREZ, V.; FONTES, L. E.; & FONTES, M. P. O solo nos grandes domínios morfoclimáticos do Brasil e o desenvolvimento sustentado. Viçosa: SBCS/UFV, p. 823-836.

- [8] PANDOLFINI, T., GABBRIELLI, R., & COMPARINI, C. 1992. Nickel toxicity and peroxidase activity in seedlings of *Triticum aestivum* L., *Plant Cell Environ.* 15: 719-725.
- [9] SAEFL. 1998. Critical loads of acidity for forest soils - Regionalized PROFILE model. Environmental Documentation Air/Forest No. 88. Swiss Agency for the Environment, Forests and Landscape (SAEFL), Bern, 102 pp.
- [10] STRASBURGER, E. 1924. *Handbook of Practical Botany*. New York. MacMillan, 532p.
- [11] VOLLENWEIDER, P., COSIO, C., GUNTARDT-GOERG, M. S., & KELLER, C. 2005. Localization and effects of cadmium in leaves of a cadmium-tolerant willow (*Salix viminalis* L.) Part II Microlocalization and cellular effects of cadmium. *Environmental and Experimental Botany*, 1-16.

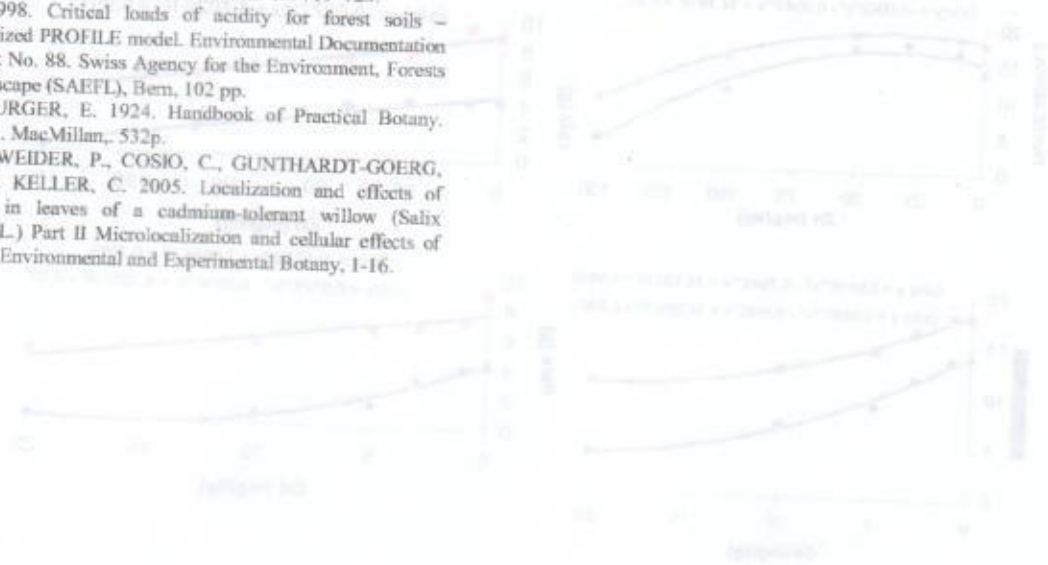


Figure 1. Effect of cadmium concentration on chlorophyll content, protein content, lipid content and cell wall thickness in *Salix viminalis* L. leaves. The data represent the mean ± standard deviation of three independent experiments. Significant differences (p < 0.05) are indicated by different letters.



Figure 2. Ultrastructure of chloroplasts in *Salix viminalis* L. leaves treated with different concentrations of cadmium. The images show chloroplasts and other cellular structures, with increasing damage and changes in structure observed at higher Cd concentrations. The data represent the mean ± standard deviation of three independent experiments. Significant differences (p < 0.05) are indicated by different letters.



Figure 3. Ultrastructure of chloroplasts in *Salix viminalis* L. leaves treated with 100 µg/g cadmium. The image shows a chloroplast with a fragmented thylakoid membrane and a loss of internal structure, indicating severe oxidative stress and cellular damage. The data represent the mean ± standard deviation of three independent experiments. Significant differences (p < 0.05) are indicated by different letters.

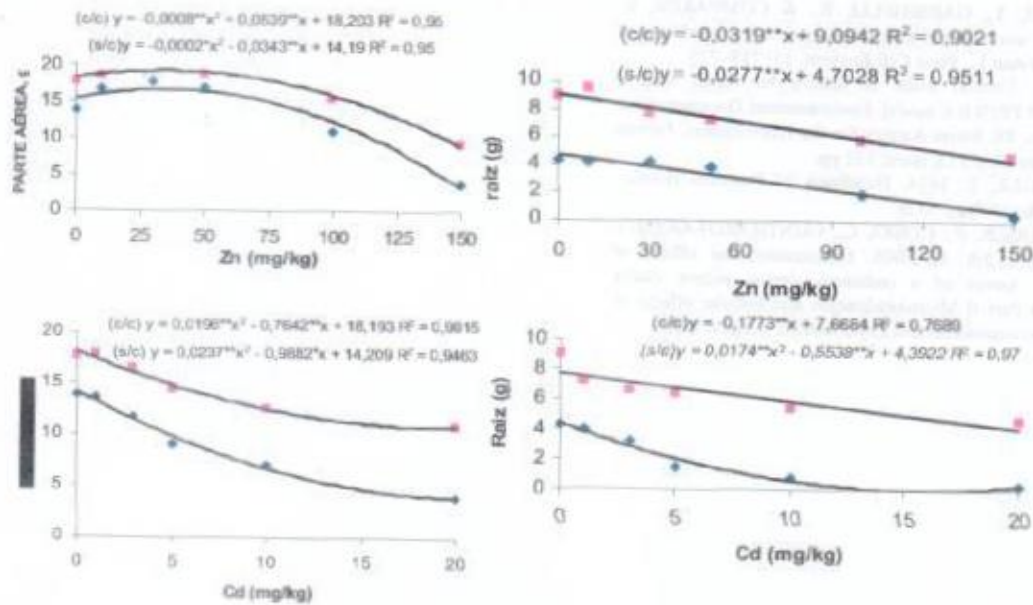


Figura 1. Produção de matéria seca das raízes e parte aérea de milho submetido a doses crescentes de Zn e Cd no solo com (■) e sem (◆) calagem.

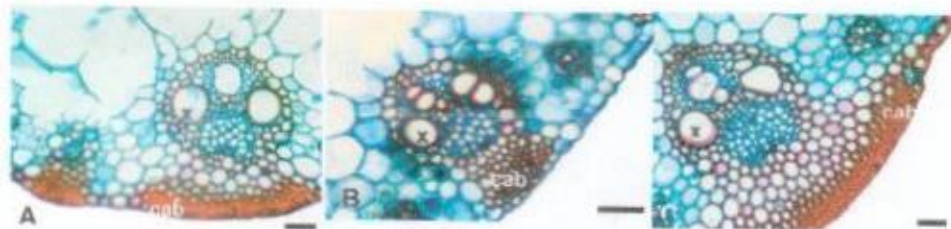


Figura 2. Alterações estruturais no tecido vascular, células epidérmicas e colenquimáticas de folhas de milho cultivadas em solo contaminado com Cd e Zn. Folhas expostas a 20 mg kg⁻¹ de Cd, (A) tratamento com calagem; (B) tratamento controle; e (C) 150 mg kg⁻¹ de Zn, tratamento com calagem x: xilema; cab: colênquima abaxial; cad: colênquima adaxial; eab: epiderme abaxial; ead: epiderme adaxial. Barras: 50 μm.

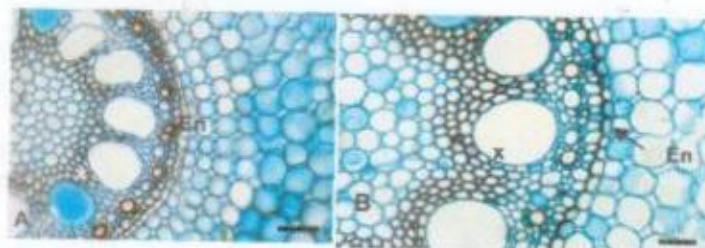


Figura 3. Alterações estruturais na raiz de milho cultivada em solo contaminado com Cd e Zn, com calagem (A-B, respectivamente expostas a 20 mg kg⁻¹ de Cd e 150 mg kg⁻¹ de Zn). x: xilema; En: endoderme. Barras: 50 μm.