



JIDeTEV

Jornadas de Investigación y Desarrollo Tecnológico
Extensión, Vinculación y Muestra de la Producción



EFEITOS DA EXPOSIÇÃO DE MERCÚRIO (HgCl_2) NA ESPÉCIE DE MACRÓFITA *Andropogon virgatus* (Poaceae)¹

Lucas Adriano Pachla², Núbia Cristina Weber Freitas³ Maikow Zago⁴ Tatiana Reckziegel⁵

¹ Trabalho de Conclusão de Curso Ciências Biológicas – URI/Santo Ângelo-RS- Brasil

² Graduando do curso de Ciências Biológicas-Bacharelado, lucas.pachla@hotmail.com

³ Professora Departamento de Ciências Biológicas, nwfreytas@san.uri.br

⁴ Graduando do Curso Química Industrial, maikowzago@hotmail.com

⁵ Professora Engenharia Civil, Tatiana Reckziegel, tati.reck@gmail.com

Resumo

Dentre os metais, o mercúrio é considerado um dos mais tóxicos e ainda não apresenta função biológica. Resiste a processos naturais de degradação, podendo permanecer por muitos anos em ecossistemas aquáticos e terrestres, sem perder sua toxicidade. Nas últimas décadas surgiram tecnologias com base na promessa de que organismos fossem usados para descontaminar e recuperar ecossistemas afetados por contaminantes, essas baseadas no uso de plantas, sendo esse processo chamado de fitorremediação. A pesquisa objetivou verificar através de microscopia eletrônica de varredura a absorção de Cloreto de mercúrio (HgCl_2), diluído em diferentes concentrações, através de reatores contendo *Andropogon virgatus*, além de, avaliar os aspectos morfológicos da mesma após o período de detenção. Foram coletados quarenta e sete indivíduos. Um exemplar foi enviado para identificação no Laboratório de Botânica da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC) e outro exemplar foi utilizado para análise de microscopia eletrônica de varredura na Universidade Integrada da Alto Uruguai e das Missões (URI/Santo Ângelo) como amostra teste. Os quarenta e cinco exemplares restantes, foram divididos em três reatores que foram mantidos em temperatura e umidade ambiente. O sistema de tratamento dos efluentes foi constituído de três reatores cilíndricos de 30 L. Após a adaptação de três dias foi adicionado cloreto de mercúrio (HgCl_2) em três diferentes concentrações (0,1 mg/L, 0,3 mg/L, 0,5 mg/L), uma concentração para cada reator. Uma planta de cada reator foi submetida ao Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), e foi realizada uma comparação morfológica entre os reatores. Não foi encontrado Hg em nenhuma amostra, porém houve divergências morfológicas entre as plantas submetidas em diferentes reatores.

Palabras Clave: *Efeitos, HgCl₂, Andropogon virgatus* .

Introdução

Os metais pesados em sua maioria são substâncias altamente tóxicas e não são compatíveis com a maioria dos tratamentos biológicos de efluentes existentes. Essa

carência de possibilidade de tratamentos abre uma ampla janela de pesquisa em torno de tecnologias ambientais sustentáveis, além disso efluentes contendo esses metais não devem ser descartados na rede pública, para tratamento em conjunto com o esgoto doméstico, considerando que as principais fontes de poluição por metais pesados são provenientes dos efluentes industriais, de mineração e das lavouras (GUARINO et al, 2002).

O mercúrio é um metal pesado e os riscos toxicológicos da presença no ambiente são relevantes no Brasil. Em muitas áreas, existem as fontes humanas além das naturais (MELAMED et al., 1999) provenientes principalmente de atividades antropogênicas, o que é um problema de grande relevância provocando desequilíbrio ecológico e prejuízos à saúde humana, principalmente devido ao seu forte potencial de bioacumulação e bioamplificação ao longo da cadeia alimentar (LACERDA E MALM, 2008). Dentre os metais, o mercúrio é considerado um dos mais tóxicos e ainda não apresenta função biológica, resiste a processos naturais de degradação, podendo permanecer por muitos anos em ecossistemas aquáticos e terrestres, sem perder sua toxicidade (MENDES, 2009). Em plantas, Hg pode substituir alguns nutrientes, como Mg, Zn e Mn, causando redução da produção de clorofila e inibição da Cadeia de transporte de elétrons fotossintéticos (PATRA et al., 2004).

Os processos de adsorção e biossorção surgem como alternativas as técnicas convencionais, devido principalmente à simplicidade e à alta eficiência dos mesmos para concentrações baixas de poluentes (FEBRIANTO et al., 2009). Como citado por Zhang et al. (2010) e Ryba (2012), a adsorção pode ser considerada um método efetivo e de baixo custo, em se tratando de remoção de íons mercúrio. Dentre os diversos materiais utilizados como biomassa, as macrófitas têm se destacado por sua eficiência na remoção de íons metálicos (MÓDENES et al, 2009). Nas últimas décadas surgiram tecnologias com base na promessa de que organismos fossem usados para descontaminar e recuperar ecossistemas afetados por contaminantes, essas baseadas no uso de plantas, sendo esse processo chamado de fitorremediação, que envolve o uso de plantas para a remoção de contaminantes do ambiente ou para reduzir a sua quantidade (VOLKE et al.,2004).

Estudos com a família Poaceae e suas propriedades de fitorremediação, necessidades de nutrição e biorremediação, vem sendo feitos por Chen e Yang, (2012); Lopes et al., (2013). Porém a espécie *Andropogon virgatus* e os efeitos do Hg em diferentes concentrações não são bem conhecidos. Nesse contexto a pesquisa objetivou verificar através de microscopia eletrônica de varredura MEV a absorção de Cloreto de mercúrio (HgCl₂), diluído em diferentes concentrações, através de reatores contendo *Andropogon virgatus*, além de, avaliar os aspectos morfológicos da mesma após o período de detenção.

Metodología

Área de estudo

O experimento foi realizado no período de outubro a novembro de 2016, na cidade de Porto Vera Cruz, localizada no noroeste do estado Rio Grande do Sul (Figura 1), seu

bioma é a Mata Atlântica e o clima é sub tropical úmido e sua localização conforme as coordenadas Latitude: -27.7381, Longitude: -54.9022 27° 44' 17" Sul, 54° 54' 8" Oeste (IBGE, 2016).

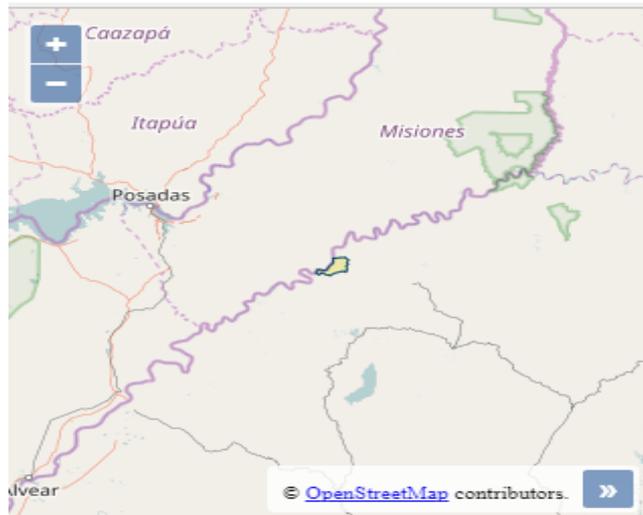


Figura 1: Localização da área de estudo. Fonte: IBGE 2016.

Como método de amostragem realizou-se uma busca ativa da planta alvo na região, já que, a macrófita *Andropogon virgatus* distribui-se em todas as regiões no Brasil (ZANIN, 2010), sempre associada a solos úmidos e brejosos dos remanescentes de campos litorâneos, e em beira de riacho. As coletas foram realizadas em um ecossistema preservado, e todos os indivíduos foram coletados com raízes de até dez centímetros. O local de coleta é uma região propícia para a ocorrência da mesma, localizado nas proximidades do Rio Uruguai, divisa com Argentina.

Os indivíduos dessa espécie foram coletados no mês de outubro de 2016. Quarenta e sete (47) indivíduos foram coletados. Um exemplar foi enviado para identificação no Laboratório de Botânica da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC) e outro exemplar foi utilizado para análise de microscopia eletrônica de varredura na URI/Santo Ângelo como amostra teste. Os outros quarenta e cinco (45) exemplares foram divididos em grupos de quinze (15) indivíduos em três (3) reatores que foram mantidos em temperatura e umidade ambiente. A biomassa da espécie vegetal preencheu aproximadamente 80% da superfície das unidades experimentais. A concepção e montagem seguiu dados recomendados em Metcalf, Eddy (2003). O sistema de tratamento dos efluentes foi constituído de três reatores cilíndricos de 30 L, material PVC. Os reatores possuem uma base de 30x30 cm com altura de 45 cm. Após a adaptação de três dias foi adicionado cloreto de mercúrio (HgCl_2) em três diferentes concentrações (0,1 mg/L, 0,3 mg/L, 0,5

mg/L), uma concentração para cada reator. Não foi adicionada nenhum meio nutritivo aos reatores.

Para verificar a influência do mercúrio na macrófita *Andropogon virgatus*, analisou-se as amostras em microscopia eletrônica de varredura (MEV) no Laboratório de Química da URI-Santo Ângelo, RS. As amostras avaliadas na microscopia eletrônica de varredura foram dispostas nas seguintes concentrações: A1; Planta em ambiente natural, na mesma área onde foram coletadas. A2; Planta de 30 dias com concentração 0,1 mg/L de Hg. A3; Planta de 30 dias com concentração 0,3 mg/L de Hg. A4; Planta de 30 dias com concentração 0,5 mg/L de Hg. Através destes dados, gerou-se laudos com quantidade específica de massa de Oxigênio (O) e Silício (Si). Após o tempo de detenção de trinta dias, foi feita uma análise morfológica comparativa visual entre as amostras de cada reator.

Para preparação das análises de microscopia eletrônica, baseou-se na metodologia descrita por Carrasco-Gil (2011), onde as amostras sólidas de raízes, talos e folhas, foram secas a 40 ° C até peso constante e moídas com almofariz e pilão. O material vegetal seco (100 mg de cada amostra) foi preservado para posterior análise.

Resultados e Discussão

As amostragens apresentaram diferenças nos valores de massa referentes ao Oxigênio (O) e Silício (Si). O indivíduo teste apresentou dados referente ao O de 100,00% de massa. A amostra 1 apresentou valores de O 82,40% e Si 17,60%. A amostra 2 não apresentou valores de Si, porém, os valores de O chegaram a 100,00% de massa. A amostragem 3 apresentou valores referente ao O de 84,90% e Si 15,10% de massa, conforme figura 2. Em nem uma das amostras houve indício de mercúrio.

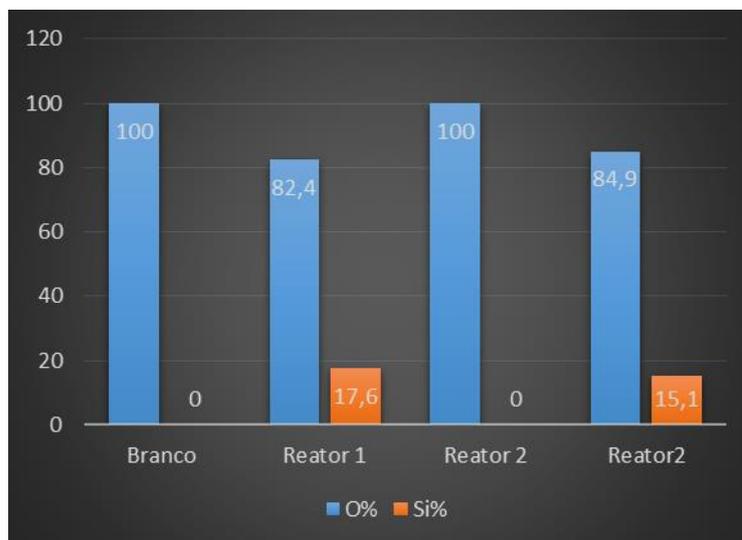


Figura 2: Resultados dos valores de O e Si para as quatro amostragens.

A alta porcentagem de O tanto na amostra teste como nas demais, pode estar relacionada com algum agente patológico juntamente com o stress ocasionado pelo Hg. Pois, plantas submetidas a fatores ambientais estressantes, os quais são comumente divididos em bióticos e abióticos, produzem uma reação a esses fatores estressantes,

caracterizada como estresse oxidativo sendo esse um mecanismo de defesa da planta (HUANG, et al, 2012). Além disso, em condições de estresse por metais pesados, as plantas podem adquirir tolerância devido ao desenvolvimento de outros mecanismos que as tornam adaptadas a este estresse, sendo que uma planta pode ter vários mecanismos de tolerância. Neste sentido, as respostas ao estresse variam amplamente dependendo das características intrínsecas da espécie, do elemento responsável pelo estresse, assim como das condições ambientais (SOUZA et al,2011).

Em estudo realizado por Venisse et al., (2002), constatou-se que quando a planta está sobre efeitos de estresse biótico e abiótico, produz enzimas Peroxidases do ascorbato (APX), que tem papel de degradar o composto causador do estresse, caracterizado como o mais importante mecanismo oxidativo das plantas. Esta característica oxidativa faz com que estas enzimas estejam associadas ao mecanismo de defesa, e, diversos estudos têm demonstrado a participação destas enzimas no processo de defesa em diferentes patossistemas (FERNANDES, 2004).

O efeito tóxico do Hg varia de acordo com a sua forma química, a concentração, a via de exposição e a vulnerabilidade do indivíduo exposto (UNEP, 2002). Os possíveis mecanismos de toxicidade Hg em plantas, são alterações na permeabilidade da membrana celular, colapso das células do córtex (CARRASCO-GIL et al., 2013) e alteração da atividade oxidativa celular (CHEN; YANG, 2012). Contudo, não encontrou-se Hg nas amostras, isto pode estar relacionado com a alta volatilização, segundo Vidal et al. (2010) a maior parte do metal que atinge as folhas é potencialmente fitovolatilizado, o que implica que não é todo o mercúrio que atinge esta parte da planta. Em relação as raízes, Carrasco-Gil (2013) usando Microscópio de fluorescência de raios-X de sincronização em raízes de *Marrubium vulgare*, observaram que o sinal de Hg mais intenso foi nas raízes, onde foram encontrados nas camadas externas lesões na parede celular ocasionadas pelo mesmo, e o Hg não foi detectado nos tecidos internos.

Outro fator importante na intoxicação do Hg são as bactérias endofíticas que vivem nos tecidos internos das plantas e favorecem a eficiência do processo de fitorremediação e aumentam a produção de biomassa vegetal. Principalmente as bactérias do gênero *Xanthomonas* tendo a capacidade de resistir a altas concentrações de mercúrio (Hg) (MA et al, 2015).



Figura 3: Fotos das três amostras em diferentes soluções de Hg. A) *Andropogon virgatus* exposta a 0,1 mg/L; B) *Andropogon virgatus* exposta a 0,3 mg/L; C) *Andropogon virgatus* exposta a 0,5 mg/L.

Os aspectos morfológicos das plantas se alteraram de acordo com a concentração da solução (figura 3). Após os 30 dias de detenção as amostras do reator 1 (0,1 mg/L) tiveram uma maior vitalidade, já o reator 2 (0,3 mg/L) apresentou grande descoloração das folhas e manchas escuras nas raízes e o reator 3 (0,5 mg/L) apresentou raízes bem escuras, folhas secas e murchas.

Estas características morfológicas podem ser ocasionadas pela acumulação de Hg nas raízes causando desequilíbrio nutricional e homeostático (WANG; GREGER, 2004). O Hg pode também estar relacionado com a ligação aos grupos SH de muitas aquaporinas, presentes nas membranas plasmáticas, podendo levar a obstrução do transporte de água do solo para a planta (PATRA; SHARMA, 2000). Além disso, o Hg pode substituir alguns nutrientes, tais como Mg, Zn e Mn, causando uma redução na produção de clorofila e inibição cadeia de transporte de elétrons fotossintéticos (CALGAROTO et al, 2016).

Conclusões

Pelas características apresentadas pelas plantas durante o experimento, constatou-se que quanto maior a disponibilidade de Hg, maior são as dificuldades da *Andropogon virgatus* em absorver nutrientes essenciais para o seu desenvolvimento, além do metal poder desencadear processos fisiológicos que podem levar a morte ou enfraquecimento tornando-a suscetível a patologias. Esta pesquisa necessita de estudos mais aprofundados tanto em níveis moleculares como em ambientes controlados para entender melhor a ação fisiológica da planta quando submetida ao Hg.

Referências

- CALGAROTO, NICÉIA SPANHOLI et al 2016. Nutritional disorder in *Pfaffia glomerata* by mercury excess in nutrient solution. *Ciência Rural*, v. 46, p. 279-285.
- CARRASCO-GIL, S. et al. Mercury localization and speciation in plants grown hydroponically or in a natural environmental. *Environmental Science and Technology*, v.47, p.3082- 3090, 2013.
- CARRASCO-GIL, et, al 2011. Complexation of Hg with phytochelatin's is important for plant Hg tolerance. *Plant, Cell and Environment* 2011, 34, 778–791.
- CHEN, J.; YANG, Z.M. Mercury toxicity, molecular response and tolerance in higher plants. *Biometals*, v.25, p.847- 857, 2012. Available from: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22639189>>. Accessed: 15 Nov 2016. doi: 10.1007/s10534-012-9560-8.
- FEBRIANTO, J. et al. Equilibrium and kinetic studies in adsorption of heavy metals using biosorbent: a summary of recent studies. *Journal of Hazardous Materials*, v. 162, p. 616-645, 2009.
- FERNANDES, C. F. Expressão de enzimas relacionadas ao estresse oxidativo e ao mecanismo de defesa do feijão-decorda [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] ao fungo *Colletotrichum*

lindemuthianum (Sacc. & Magn.) Briosi & Cav. 2004.162f. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

GUARINO, L; JARVIS, A et al. Geographic information systems (GIS) and the conservation and use of plant genetic resource. IN RINGELS, J, M, M. 2002.

HUANG G, et al, Signal transduction during cold, salt and drought stress in plants. Molecular biology Reports 39:969-987, 2012.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 28 nov 2016.

LACERDA, L.D. E MALM, O. (2008). Mercury contamination in aquatic ecosystems: an analysis of the critical areas. Estudos avançados [online], 22 (63): 173-190.

LOPES, M.S. et al. Molecular and physiological mechanisms associated with root exposure to mercury in barley. Metallomics, v.5, p.1305-1315, 2013. Available from: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23925371>>. Accessed: nov. 19, 2016. doi:10.1039/c3mt00084b.

MA, Y.; OLIVEIRA, R.; NAI, F.; RAJKUMAR, M.; LUO, Y.; ROCHA, I.; FREITAS, H. 2015. The hyperaccumulator *Sedum plumbizincicola* harbors metal-resistant endophytic bacteria that improve its phytoextraction capacity in multi-metal contaminated soil. J. Environm. Managem. 156:62-69.

MELAMED, R.; MAURO, J.B.N ; GUIMARAES, J.R.D . Aguapé agrava a contaminação por mercúrio.. Ciência Hoje. SBPC, Rio, , v. 25, p. 68 - 71, 01 jun. 1999.

MENDES, P. L. A.; MEYER, S.T.; NORONHA, I. A. S.; GOMES, S. M. A.; SANTOS, M. H. Alterações Morfológicas em *Eichhornia crassipes* (Aguapé) (Mart.) Solms-Laubach (Pontederiaceae), Exposta a Elevadas Concentrações de Mercúrio. Pesticidas – Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente. 19, 29-38, 2009

METCALF & EDDY. Inc. Wastewater Engineering treatment Disposal Reuse. 4. ed. New York, McGraw - Hill Book, 1815p. 2003.

MÓDENES, A.N.; PIETROBELLI, J.M.T.A.; ESPINOZA-QUIÑONES, F.R. Cadmium biosorption by non-living aquatic macrophytes *Egeria densa*. Water Science and Technology, v. 60, n. 2, p. 293-300, 2009.

PATRA, M.; SHARMA, A. Mercury toxicity in plants. Botanical Review, v.66, p.379-422, 2000.

PATRA, M. et al. Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. Environmental Experimental Botany, v.52, p.199-223, 2004. Available from: < Available from: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0098847204000346> >. Accessed: out de 2016. doi: 10.1016/j.envexpbot.2004.02.009. [Links]

RYBA, A et al, 2012. Modelagem Matemática da Biossorção de Mercúrio por *Eichhornia crassipes* Envolvendo Equações Diferenciais de Ordem Inteira e Fracionária. In: XIX Congresso

- Brasileiro de Engenharia Química, 2012, Búzios-RJ. Anais do XIX Congresso Brasileiro de Engenharia Química. Rio de Janeiro-RJ: Editora da UFRJ, v. 1. p. 11762-11771.
- SOUZA, E. P. S.; SILVA, I. F.; FERREIRA, L. E. Mecanismos de tolerância a estresses por metais pesados em plantas. Revista Brasileira de Agrociência, Pelotas, v. 17, n. 2, p.167-173, 2011.
- VENISSE, J.-S.; MALNOY, M.; FAIZE, M.; PAULIN, J.-P.; BRISSET, M.-N. Modulation of defense responses of *Malus* spp. during compatible and incompatible interactions with *Erwinia amylovora*. Molecular Plant-Microbe Interactions, St. Paul-MN, v. 15, n. 12, p. 1204-1212, 2002.
- VIDAL, J.; MARRUGO, J.; JARAMILLO, B.; PEREZ, L. 2010. Remediación de suelos contaminados con mercurio utilizando guarumo (*Cecropia peltata*). Ing. Desarrollo. 27:113-129.
- VOLKE, T. et al. (2004) Evaluación de tecnologías de remediación para suelos contaminados con metales. Dirección General del Centro Nacional de Investigación y Capacitación Ambiental y Dirección de Investigación en Residuos y Proyectos Regionales. México.
- UNEP (2002). Global Mercury Assessment. United Nations Environment Programme – Chemicals. 258p.
- ZANIN, A. 2010a. *Andropogon*. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB012955> (Acesso em 27/11/2016).
- ZANIN, A. & LONGHI-WAGNER, H.M. 2006. Sinopse do gênero *Andropogon* L. (Poaceae-Andropogoneae) no Brasil. Revista Brasileira de Botânica 29(2): 289-299.
- ZHANG M, et al. (2010) Creation of a hyperpermeable yeast strain to genotoxic agents through combined inactivation of PDR and CWP genes. Toxicol Sci 113(2):401-11.
- WANG, Y.; GREGER, M. Clonal differences in Mercury tolerance, accumulation and distribution in willow. Journal of Environmental Quality, v.33, p.1779-1785, 2004.