

POTENCIAL DE UTILIZAÇÃO DE *Cyperus rotundus* NA DESCONTAMINAÇÃO DE ÁREAS DE DESCARTE DE RESÍDUOS INDUSTRIAIS COM ELEVADOS TEORES DE METAIS¹

Potential to Use Cyperus rotundus in Areas of Industrial Waste Disposal

JESUS, S.L.², ARÉVALO, R.A.³, ROMÃO, G.O.⁴, ROSSI, L.M.⁵, COSCIONE, A.R.⁶e
NOGUEIRA, N.L.⁷

RESUMO - A fitorremediação é um processo promissor de descontaminação de solos em que a planta é utilizada como um mecanismo de alocação do agente contaminante e indesejável ao sistema tratado. Plantas de *Cyperus rotundus*, colhidas em área onde ocorreram descartes de resíduos industriais, foram avaliadas utilizando microscopia óptica (MO) e plasma de argônio indutivamente acoplado (ICP-AES). O trabalho objetivou avaliar as alterações causadas pelos poluentes químicos na estrutura morfológica do corpo epígeo de plantas juvenis de *C. rotundus* e seu potencial fitorremediador em comparação a plantas colhidas em região não poluída do mesmo solo (testemunha). As alterações anatômicas estruturais identificadas demonstram o potencial efeito poluidor dos contaminantes e também sugerem o comportamento hiperacumulador da planta avaliada.

Palavras-chave: *Cyperus rotundus*, anatomia vegetal, poluição do solo, microscopia óptica, ICP-AES.

ABSTRACT - *Phytoremediation is a promising process of soil decontamination when the plant is used as a mechanism of allocation of the undesirable contaminant agent in the treated system. Samples of Cyperus rotundus collected in a contaminated area with industrial residues were evaluated through optical microscopy and inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy (ICP - AES). This work aimed to evaluate the phytoremediator potential and the morphological alterations in young epigeous body of C. rotundus caused by pollutant chemicals in comparison with plants collected in the same soil with no contamination (witness). The observed anatomic alterations compared with the witnesses demonstrated the potential polluting effect of contaminants and also indicated the hyperaccumulating behavior of the analyzed plants.*

Keywords: *Cyperus rotundus*, plant anatomy, soil pollution, optical microscopy, ICP-AES.

INTRODUÇÃO

A fitorremediação é um processo promissor de descontaminação de solos em que a planta é utilizada como um mecanismo de alocação do agente contaminante e indesejável ao sistema tratado. Os aspectos positivos do processo

residem no fato de que metais atuando como contaminantes são absorvidos na estrutura da planta, concentrando sua ação tóxica nesse organismo, sendo, portanto, imobilizados, contidos, transformados ou combinados para posterior extração e processamento mecânico ou químico (Accioly & Siqueira, 2000).

¹ Recebido para publicação em 17.4.2008 e na forma revisada em 13.11.2009.

² Pesquisador, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares/Comissão Nacional de Energia Nuclear – IPEN/CNEN/USP, Av. Lineu Prestes 2242 – Cidade Universitária, 05508-000 São Paulo-SP, <slgel@esalq.usp.br>; ³ Pesquisador, APTA/Polo Centro Sul - Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Piracicaba-SP, <r_a_arevalo@yahoo.com.br>; ⁴ Doutorando, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo – ESALQ/USP, <goromao@esalq.usp.br>; ⁵ Especialista do Laboratório, Centro de Energia Nuclear na Agricultura/Universidade de São Paulo – CENA/USP, Piracicaba-PS, <monicalr@cena.usp.br>; ⁶ Pesquisadora, Instituto Agrônomo – IAC, Campinas-SP, <aline@iac.sp.gov.br>; ⁷ Pesquisadora, CENA/USP, <nogueira@cena.usp.br>.



A eficiência com que uma espécie é capaz de absorver o metal contaminante é baseada no metabolismo da planta; presume-se que, em maior ou menor grau, diferentes espécies podem apresentar desempenhos semelhantes. Um interesse imediato decorrente desse comportamento é refletido também em casos de contaminantes orgânicos, como ocorre com herbicidas (Pires et al., 2003; Santos et al., 2004; Procópio et al., 2007). Entretanto, em ambos os casos, orgânicos e inorgânicos (metais), a disponibilidade do contaminante depende, também, do tipo de solo onde ocorreu a contaminação. De qualquer forma, o produto final que se quer avaliar deve ser abordado com técnicas analíticas adequadas à identificação dos contaminantes e à avaliação do impacto que esses elementos produzem na estrutura das plantas contaminadas.

Portanto, este trabalho objetivou avaliar as alterações causadas pelos poluentes químicos na estrutura morfológica do corpo epigeo de plantas juvenis de *C. rotundus* e seu potencial fitorremediador, em comparação às plantas colhidas em região não poluída do mesmo solo (testemunha).

MATERIAL E MÉTODOS

Em um solo onde ocorreram sucessivos lançamentos de rejeito industrial foram feitas coletas seletivas de amostras de *CYPRO* que apresentavam sintomas de toxidez e amostras coletadas em área adjacente onde não foram identificados esses sintomas, a fim de avaliar a capacidade de absorção de metais e, posteriormente, detalhar estudos nas plantas que agem como fitorremediadoras, entre outros aspectos.

Para isso, foi feita a avaliação por microscopia óptica (MO) em caules e folhas da espécie estudada e, após a moagem integral da planta (caule + folhas), foram realizadas análises por plasma induzido (ICP-AES).

Assim, amostras de plantas de *Cyperus rotundus* (*CYPRO*) foram colhidas em Cambissolo Háplico distrófico, localizado no município de Piracicaba, Estado de São Paulo, onde foram descartados resíduos industriais, como carcaças metálicas, óleos combustíveis e lubrificantes, juntamente com igual amostragem de plantas crescidas em área adjacente

onde não houve contaminação (testemunha).

Amostras de filódios e escapo floral foram fixadas em paraformaldeído 4% durante dez dias a 4 °C. Posteriormente, foram lentamente desidratadas em duas séries de metilcelosolve, etanol, propanol e butanol e pré-infiltradas em butanol com meio de infiltração (3:1 v/v), (2:1) e (1:1), durante 24 horas, respectivamente.

Em seguida, as amostras foram imersas em meio à base de historesina durante quatro dias, até se tornarem translúcidas e precipitarem no fundo do recipiente. Após essa etapa, foram emblocadas em historesina com endurecedor, onde permaneceram durante quatro dias.

Os cortes histológicos (5 µm de espessura) foram obtidos com micrótomo e contrastados com azul de toluidina 2% em solução de bórax 1%. As lâminas foram cobertas com lamínula, utilizando entelan, e observadas em microscópio óptico.

Para as análises de teor de metais, filódios e escapo floral das plantas amostradas foram lavados em água corrente, secos em papel-toalha, colocados em sacos de papel e mantidos em estufa a 70 °C com ventilação forçada. Após dez dias, o material foi macerado sob imersão de nitrogênio líquido e peneirado. Novamente as amostras foram secas em estufa de ventilação forçada a 60 °C até apresentarem massa constante e trituradas em moinho tipo Wiley. Foi pesado 0,500 g de cada amostra em tubos de teflon de micro-ondas e adicionados 2,0 mL de H₂O₂ 30% e 3,0 mL de HNO₃ concentrado. A digestão foi conduzida segundo o método EPA 3051 em forno pré-programado. Após o resfriamento, os extratos foram filtrados em papel-filtro quantitativo (filtração lenta) e avolumados para 25 mL com água desionizada (MiliQ® Gradient).

As leituras dos elementos químicos foram feitas em plasma de argônio indutivamente acoplado com tocha axial com potência de 1,2 kW.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram observadas altas concentrações dos metais alumínio (Al), cobre (Cu), manganês (Mn) e zinco (Zn), entre outros relacionados na Tabela 1, avaliados por espectrometria em

plasma de argônio indutivamente acoplado (ICP-AES) nas plantas contaminadas, comparadas com as análises das plantas colhidas em área não contaminada.

As análises por ICP-AES mostraram versatilidade seja no preparo de amostras, seja em vista da ampla faixa de detecção elementar obtida, embora, em rotina, tais análises sejam conduzidas por espectrometria de absorção atômica (AAS). Por exemplo, Branquinho et al. (2007) estudaram por espectroscopia de absorção atômica (AAS) *Plantago almogravensis*, uma espécie hiperacumuladora de alumínio, determinando a acumulação de Al, Ca, Cd, Co, Cr, Fe, K, Mg, Mn, Ni, Pb e Zn. Min et al. (2007) avaliaram a acumulação de Mn em *Phytolacca*

americana em solo contaminado com esse metal em Human, no sudeste da China, também utilizando AAS, e confirmaram o comportamento da planta como hiperacumuladora de Mn.

Por outro lado, o presente estudo também se aprofundou nas análises por MO, a fim de avaliar os impactos que os metais detectados por ICP-AES podem produzir na estrutura das plantas.

As plantas colhidas no solo contaminado (plantas contaminadas - PC) apresentaram expressivas alterações anatômicas estruturais do corpo primário, nos tecidos dermal, fundamental e vascular, em relação àquelas colhidas na região adjacente não contaminada (plantas não contaminadas - PNC), como ilustram as Figuras 1A, B e 2A, B.

Nesse sentido, a estrutura da lâmina foliar da PC se apresentou pronunciadamente lanceolada estreita e de espessura fina quando comparada à lâmina foliar da PNC, possivelmente em razão da atuação conjunta do excesso de Zn, Cu e Mn nas plantas intoxicadas.

Devido à diminuição do tamanho das folhas (lanceolada estreita e mais fina), haverá uma diminuição da área fotossintética. Isso, em adição aos sintomas de toxicidade do Zn, Mn e Al (que diminuem ou limitam o crescimento), influenciará o surgimento de plantas menores, com conseqüente diminuição em sua

Tabela 1 - Concentração (mg kg^{-1}) de metais, analisados por ICP-AES, em plantas de *Cyperus rotundus*

Elemento	Área contaminada	Desvio-padrão	Área não contaminada	Desvio-padrão
Alumínio	1.519,0	+/- 15,1	924,0	+/- 9,8
Cádmio	0,5	+/- 0,1	ND	+/- 0,1
Chumbo	6,1	+/- 0,5	0,6	+/- 0,1
Cobre	17,4	+/- 0,2	5,6	+/- 0,1
Cromo	2,0	+/- 0,1	0,6	+/- 0,1
Manganês	244,0	+/- 15,0	41,0	+/- 3,0
Molibdênio	1,3	+/- 0,2	ND	+/- 0,2
Níquel	4,1	+/- 0,1	0,2	+/- 0,1
Zinco	189,0	+/- 8,0	22,6	+/- 1,5

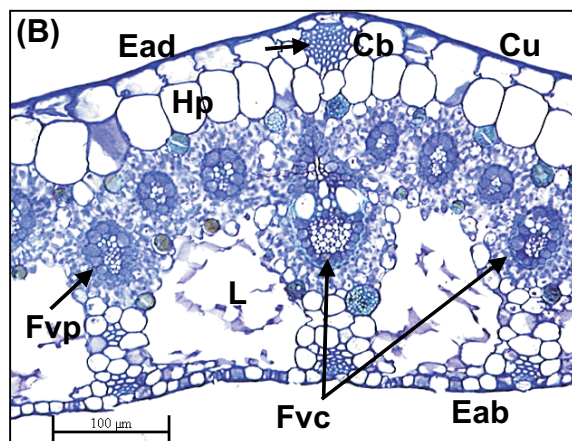
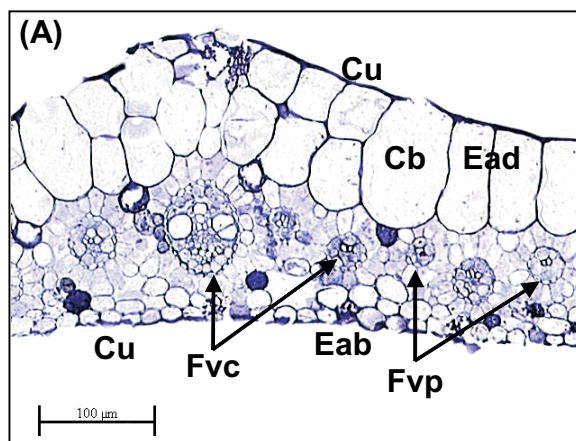


Figura 1 - Seções transversais de filódio de *Cyperus rotundus*: A - área contaminada; B - área não contaminada. Cu - cutícula; Ead - epiderme adaxial; Hp - hipoderme; Cb - célula buliforme; Fvc - feixe vascular central; Fvp - feixes vasculares periféricos; L - lacuna do parênquima lacunoso; Eab - epiderme abaxial; Nc - nervura com colênquima.



floração/frutificação. Em tiriricas (*Cyperus*), quando não existem condições favoráveis para multiplicação reprodutiva, há indução para propagação vegetativa, ou seja, na prática, poderá haver aumento no número de bulbilhos ou ainda entouceiramento.

Com a anatomia alterada nas PCs, também foi constatada cutícula descontínua e menos espessa em ambas as faces, epiderme adaxial alterada e hipoderme adaxial ligada com a epiderme, além de menor número de lacunas do parênquima lacunoso e nervura com colênquima menos densa e pouco espessa.

Diante de epiderme e cutícula frágeis há maior chance de entrada de patógenos causadores de doenças foliares, embora se conheça muito pouco a respeito de doenças em plantas daninhas, como é o caso da tiririca. Mesmo assim, é importante lembrar que as PCs de *Cyperus* podem, nesse caso, não sofrer doenças por patógenos, mas funcionar como hospedeiras. É o caso do “trevo”, que é hospedeiro de uma doença fúngica (uma das ferrugens) causadora de sérios danos na horticultura, principalmente na produção olerícola.

Nessas plantas foram observados severos sintomas de intoxicação, caracterizados por morte de folhas, necroses de ápice e margens da primeira folha com prega ligular.

Foram identificados os tecidos de epiderme e hipoderme com paredes celulares dilaceradas e deformadas, além das células epidérmicas globosas e as buliformes ovais intensamente ligadas na epiderme, em oposição às formas tabulares com saliências laterais nas PNCs, que apresentaram células buliformes esféricas.

Nas plantas intoxicadas, os mesófilos são estreitos com lacunas pequenas, e a estrutura de Kranz indicou alterações de aproximadamente 50% no número de cloroplastos. De acordo com as Figuras 1 e 2, os feixes periféricos e centrais ocupam a mesma faixa e o parênquima lacunoso apresenta pequenas e escassas lacunas. Os estômatos apresentam células oclusivas deformadas, com vestíbulo anterior e poro central irregulares.

É evidente que a diminuição expressiva no número de cloroplastos terá influência negativa no processo fotossintético, em quantidade e qualidade de fotoassimilados e na respiração, em razão de dificultar a troca gasosa em função de os estômatos das PCs possuírem células oclusivas deformadas e poro central irregular. Ainda, com estômatos deformados a planta pode sofrer com problemas de desidratação por perda excessiva de água, em virtude da transpiração mal controlada.

Como se observou, as técnicas analíticas utilizadas são complementares no estudo de

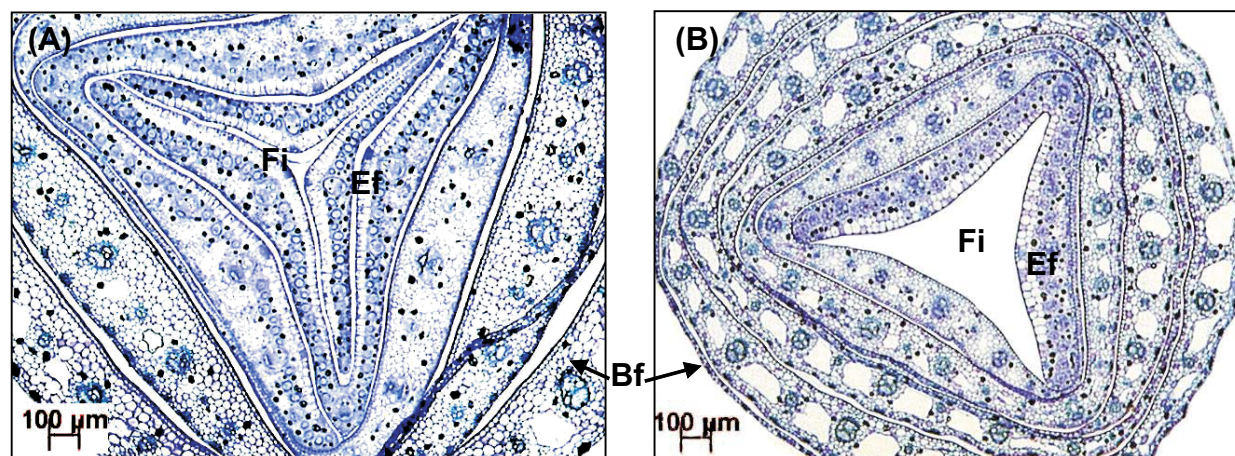


Figura 2 - Secção transversal de escapo floral de *CYPRO*. A - área contaminada; B - área não contaminada. Bf - bainha de filódios; Fi - fistula; Ef - escapo floral.

contaminantes das plantas, pois apresentam versatilidade na análise multielementar e na avaliação dos sintomas e injúrias.

As plantas colhidas em solo contaminado exibiram alterações anatômicas expressivas quando comparadas àquelas colhidas em solo não contaminado.

As constatações por microscopia óptica indicam o potencial poluidor do solo contaminado nas plantas avaliadas, que, diante dos diversos metais presentes, não permite diferenciar se há interação sinérgica entre os metais para o processo de fitointoxicação e as alterações ou se é ação isolada de um contaminante.

Por fim, a espécie CYPRO apresenta potencial para estudos posteriores para fitorremediação, em vista do comportamento hiperacumulador de metais constatado neste estudo.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP, pelo auxílio financeiro, e ao NAP-MEPA, pelo apoio técnico.

LITERATURA CITADA

ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V, V. H.; SCHAEFER, C. E. G. R., (Eds.). **Tópicos em ciências do solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. v. 1. p. 299-352.

BRANQUINHO, C. et al. Revisiting the plant hyperaccumulation criteria to rare plants and earth abundant elements. **Environ. Poll.**, v. 146, n. 2, p. 437-43, 2007.

MIN, Y. et al. Accumulation and uptake of manganese in a hyperaccumulator *Phytolacca americana*. **Miner. Eng.**, v. 20, n. 2, p. 1-5, 2007.

PIRES, F. R. et al. Fitorremediação de solos contaminados com herbicidas. **Planta Daninha**, v. 21, n. 2, p. 335-341, 2003.

PROCÓPIO, S. O. et al. Development of bean plants in soil contaminated with trifloxysulfuron-sodium after *Stizolobium terrimum* and *Canavalia ensiformis* cultivation. **Planta Daninha**, v. 25, n. 1, p. 87-96, 2007.

SANTOS, J. B. et al. Fitorremediação do herbicida trifloxysulfuron-sodium. **Planta Daninha**, v. 22, n. 2, p. 323-330, 2004.

