

POTENCIAL FITOEXTRATOR DE *LIPPIA GRACILIS* SHAUER EM UM SOLO CONTAMINADO POR CHUMBO

Yáskara Karine Fernandes Saraiva Brandão (1); Marcos Emanuel de Sousa Silva (1); Lais Fernanda de Pontes Santos (2); Cynthia Cavalcanti de Albuquerque (3).

Universidade do Estado do Rio Grande do Norte - UERN, ykfsb@hotmail.com

INTRODUÇÃO

O elemento químico chumbo (Pb) é um metal de cor cinza-azulado, pertence ao IVA da Tabela Periódica, potencialmente tóxico e que pode afetar homens, animais, plantas e solos (GONÇALVES et al., 2012).

O Pb é um metal pesado, não essencial, que apesar de sua toxicidade, apresenta uma série de utilidades (BOCCHIET et al., 2000). Nos solos, a presença dos metais pesados é encontrada em condições naturais e não oferece riscos ao meio ambiente. No entanto, com o aumento da demanda populacional e suas necessidades diárias, acabam adicionando ao solo materiais que contêm esses elementos, comprometendo a qualidade do ecossistema (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2001).

Neste sentido, solos contaminados por Pb precisam ser tratados para permitir a sustentabilidade agroecológica e trazer benefícios humanos (BHARGAVA et al., 2012). Na busca de alternativas para despoluir áreas contaminadas, tem-se optado por soluções que agreguem eficiência na descontaminação, facilidade na execução, menor custo e tempo no processo (PIRES et al., 2003). Nesse contexto, surge o interesse pela fitorremediação, que, de acordo com Accioly e Siqueira (2000), envolve o emprego de plantas, sua microbiota associada e de amenizantes (corretivos, fertilizantes, matéria orgânica etc.) do solo. No entanto, uma das limitações da fitoextração deve-se à baixa disponibilidade dos metais pesados no solo.

Assim, Shen et al. (2002) têm sugerido a utilização de quelantes que podem dessorver o metal da matriz do solo para formar complexo solúvel na solução do solo e favorecer o transporte dos metais para a parte aérea. O ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA) tem sido amplamente utilizado, e conforme trabalho de Lee e Sung (2014) este quelante se mostrou muito eficiente para fitorremediação de solo contaminado com metais. Trabalhos comprovam a tolerância de plantas medicinais ao Pb, como no caso da *Mentha crispata* (SÁ et al., 2014). Estudos sobre fitorremediação nas condições brasileiras precisam ser intensificados, avaliando-se a tolerância e adaptação de espécies vegetais aos níveis crescentes de contaminação de Pb (PEREIRA, 2005).

Espécies de plantas encontradas na Caatinga possuem diversas potencialidades medicinais e dentre estas, *Lippia gracilis* (Verbenaceae) se destaca por produzir óleo essencial com atividade antimicrobiana comprovada (ALBUQUERQUE et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2008; BITU et al., 2012). O rendimento de óleos essenciais pode ser aumentado quando as plantas são submetidas a estresses bióticos ou abióticos e nesse contexto, o estresse causado pelo metal pesado pode contribuir para o incremento de óleos essenciais. Além de produzir óleo de interesse econômico para as indústrias farmacêuticas e de cosméticos e ainda ser adaptada às condições da Caatinga, *L. gracilis* foi utilizada em trabalhos de fitorremediação de Na⁺ em solos salinizados, comprovando sua tolerância e provável capacidade de extrair do ambiente o sódio em excesso (RAGAGNIN et al., 2014). Portanto, diante deste cenário, faz-se importante avaliar se esta espécie poderá ser utilizada nos trabalhos de fitorremediação do Pb. Sendo assim, esse trabalho teve como objetivo analisar o crescimento, o rendimento do óleo essencial e o potencial fitoextrator de *L. gracilis* em solos contaminados com Pb.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na casa de vegetação da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte (UERN) durante o período de novembro de 2014 a fevereiro de 2015. As estacas de *L. gracilis* mediram aproximadamente 20 cm de comprimento e 1,20 mm de diâmetro e foram plantadas em sacos de polietileno com capacidade para 2L. O substrato foi obtido a partir de uma camada superficial do solo natural, proveniente da área onde as estacas foram coletadas. Este solo foi seco, peneirado e misturado na proporção de 1:3:1 (v:v) com areia lavada e substrato comercial Topstrato HT[®], respectivamente. O estabelecimento das estacas durou 31 dias.

O estresse foi estabelecido após o transplântio e teve a duração de 30 dias. Para tanto, as plantas foram regadas semanalmente com solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) e com a solução modificada com Pb, as regas foram quinzenais. A fonte de Pb foi o acetato de chumbo trihidratado (PbCH₃COO)₂. 3H₂O, aplicado nas doses: 0,0; 200; 550 e 900 mg kg⁻¹ a cada 15 dias, totalizando 02 aplicações. O agente quelante utilizado foi o etilenodiaminotetraacetato dissódico (EDTA DISSÓDICO). Os tratamentos com EDTA foram misturados ao acetato de Pb na proporção de 1:1 e nas plantas controles foram adicionadas 97 g de EDTA DISSÓDICO. O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial (4 x 2), com seis repetições. O primeiro fator foi equivalente as doses crescentes de Pb (0,0; 200; 550 e 900 mg de Pb Kg⁻¹) e o segundo, à presença ou ausência de EDTA, perfazendo 8 tratamentos.

Após 30 dias, as variáveis analisadas foram: a área foliar (AF) que foi determinada através da leitura em medidor a laser portátil (CI-202, CID Bio-Science Inc., Camas, Wa, USA), utilizando-se 10 folhas por tratamento. As amostras de tecidos foliar e radicular foram submetidas ao processo de digestão úmida com ácido nítrico/peróxido de hidrogênio (PLANCK, 1992). Em seguida, as concentrações de Pb nos referidos tecidos foram determinadas por espectrofotometria de absorção atômica por chama (FAAS) (modelo SpectraAA-50, Varian Inc., Palo Alto, CA, USA), com um comprimento de onda de 217 nm. O fator de translocação (FT) foi adquirido através da razão das concentrações de Pb (mg.kg⁻¹) contidas na parte aérea [Pb]_{PA} e no sistema radicular [Pb]_{SR}, dos respectivos tratamentos (Equação 1). O Fator de bioacumulação (FB) foi verificado utilizando-se a razão da [Pb]_{Planta} pela [Pb]_{Solo} (Equação 2). Essas duas variáveis foram estimadas utilizando-se as equações 1 e 2, respectivamente:

$$FT = \frac{[Pb]_{PA}}{[Pb]_{SR}} \quad \text{(Equação 1)}$$

$$FB = \frac{[Pb]_{Planta}}{[Pb]_{Solo}} \quad \text{(Equação 2)}$$

O óleo foi obtido a partir de folhas secas a temperatura ambiente, por meio de hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado. O teor do óleo essencial (TO) foi quantificado através da razão da massa do óleo pela fitomassa seca foliar (FSF) x 100, conforme equação 3. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as equações de regressão foram ajustadas por meio do software Assistat[®] versão 7.7.

$$TO(\%) = \frac{\text{massa(g)óleo}}{FSF} \times 100 \quad \text{(Equação 3)}$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Área foliar (AF)

A área foliar das plantas de *L. gracilis* não diferenciou estatisticamente do tratamento controle (Gráfico 1). No entanto, durante o experimento, evidenciou-se encurtamento internodal (dados não disponíveis) das plantas com doses de Pb mais elevadas. Esse comportamento pode estar relacionado à produção massiva de folhas no intuito de aumentar o crescimento vegetativo para compartimentalização do metal, produção de metabólitos de defesa contra tal estresse, distúrbios

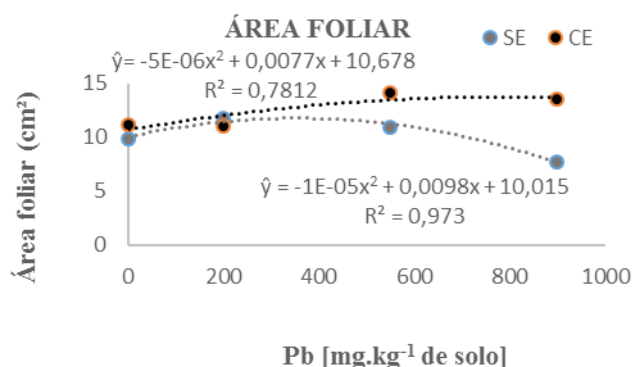
(83) 3322.3222

contato@conidis.com.br

www.conidis.com.br

nutricionais gerados por deficiência de elementos minerais essenciais. Diferentemente desse resultado, Rossato (2010) analisando *P. sagittalis*, verificou que a área foliar foi reduzida quando as plantas foram expostas a concentrações crescentes de Pb, principalmente nas concentrações de 600 e 1000 μM . Em plantas de ameixeira a deficiência de zinco pode causar encurtamento dos entrenós e, em casos mais severos, estes se tornam tão curtos, que há a formação de rosetas (CASTRO; FREIRE; MATTOS, 2016).

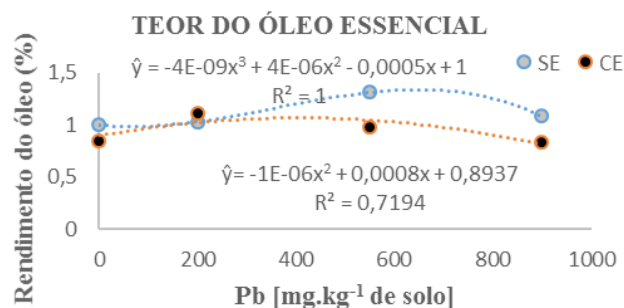
Gráfico 1: Área Foliar (AF) em plantas de *Lippia gracilis* S. submetidas a diferentes doses de Pb sem EDTA e com EDTA durante 30 dias, Mossoró, RN, 2015.



Teor do óleo essencial (TO)

O teor do óleo essencial não sofreu interferência negativa na produção, quando comparado à testemunha (Gráfico 2). O impacto de doses crescentes de Pb e o favorecimento do seu acúmulo, através da adição do agente quelante não interferiram na produção do óleo. Jezler et al. (2015) verificaram que em plantas de *Menta arvensis* submetidas a doses crescentes de Pb e Cd não tiveram o crescimento, o rendimento e a composição do óleo essencial afetados. Como não houve alteração no teor do óleo essencial de *L. gracilis*, provavelmente o estresse abiótico causado pelo Pb em conjunto com o quelante não foram suficientes para alterar as rotas na produção de metabólitos secundários.

Gráfico 2: Teor do óleo Essencial (TO) em plantas de *Lippia gracilis* S. submetidas a diferentes doses de Pb sem EDTA e com EDTA durante 30 dias, Mossoró, RN, 2015.



Fator de Translocação (FT)

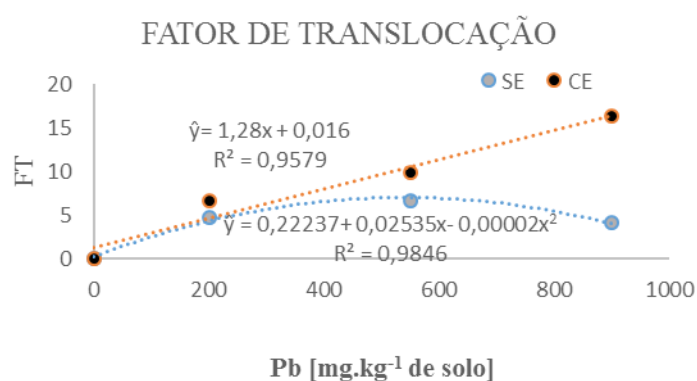
(83) 3322.3222

contato@conidis.com.br

www.conidis.com.br

Observou-se que a maior média foi encontrada nas plantas que continham EDTA na dose de 900 mg.kg⁻¹ de Pb no solo (Gráfico 3). O FT > 1 indica eficiência na translocação do íon do metal pesado absorvido pelas raízes e transferido para a parte aérea (FAYIGA; MA, 2006). A medida que as doses de Pb foram crescentes, o FT cresceu nos tratamentos sem e com EDTA até a dose de 550 mg.kg⁻¹ de Pb no solo. A partir desta, plantas sem EDTA apresentaram queda e com EDTA continuou crescente. Assim, presume-se que a planta foi eficiente em translocar o Pb do sistema radicular para o sistema foliar e esse fato é compatível com a quantidade de Pb que é superior nas raízes em relação à parte aérea nas plantas tratadas com a mesma dose do metal. Semelhantemente a esse resultado, Melo et al. (2009) verificaram que em plantas de azévem os fatores de translocação foram crescentes à medida que aumentavam as doses de arsênio. Contrariamente a esse resultado, plantas de *Aeluropus littoralis* apresentaram os FT diminuídos à medida que as concentrações de Pb no solo aumentavam (REZVANI; ZAEFARIAN, 2011). Assim, nesse trabalho, o principal mecanismo de defesa provavelmente se configurou na capacidade que a planta teve de translocar e compartimentalizar o metal na parte aérea, sem comprometer o seu desenvolvimento. Dessa forma, *Lippia gracilis* nestas condições se mostrou promissora para novos estudos.

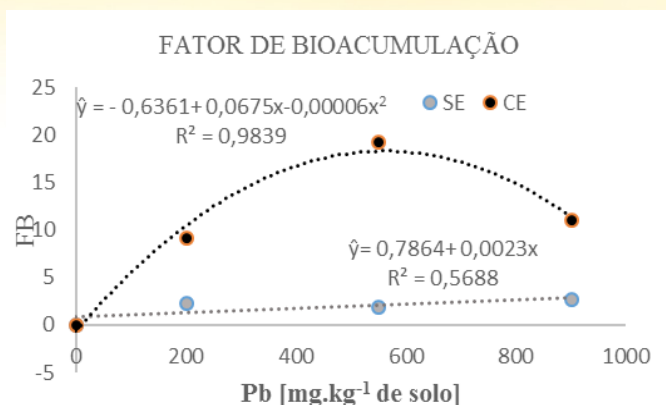
Gráfico 3: Fator de Translocação (FT) de Pb em plantas de *Lippia gracilis* S. submetidas a diferentes doses de Pb sem EDTA e com EDTA durante 30 dias, Mossoró, RN, 2015.



Fator de Bioacumulação (FB)

O resultado indica que o FB de Pb atingiu um ponto máximo na dose de 550 mg.kg⁻¹ de Pb na presença do EDTA quando comparado ao controle. Logo em seguida decresceu, sugerindo que mecanismos de saturação de transportadores e, ou, de desintoxicação fossem ativados com a maior dose (Gráfico 4). No entanto, o menor FB aconteceu também na dose de 550 mg.kg⁻¹ de Pb, porém sem EDTA. O FB > 1 sugere plantas acumuladoras (Ma et al, 2001). Rezvani e Zaefarian (2011), atestam que as plantas são hiperacumuladoras quando ambos os fatores de translocação e bioacumulação são maiores que 1. De acordo com o gráfico 2, observou-se que para ambas as condições, com e sem EDTA, as plantas de *L. gracilis* S. apresentaram FB >1, configurando assim a capacidade de bioacumulação dessa espécie para o Pb.

Gráfico 4: Fator de Bioacumulação (FB) de Pb em plantas de *Lippia gracilis* S. submetidas a diferentes doses de Pb sem EDTA e com EDTA durante 30 dias, Mossoró, RN, 2015.



Estudo com plantas da espécie *Trifolium alexandrinum*, o fator de bioacumulação de 1,544, classifica a espécie utilizada em programas de fitorremediação (ALI; NASEER; SAJAD, 2012).

CONCLUSÕES

Assim, nas condições em que o presente trabalho foi realizado, os resultados permitem concluir que a área foliar não foi influenciada pelo estresse abiótico, e conseqüentemente o teor do óleo essencial. O potencial fitoextrator foi estimado através do FT e do FB e em ambos foram encontradas para todas as doses de Pb com ou sem EDTA médias >1, indicando eficiência na translocação do metal pesado extraído do solo e levado para as raízes e parte aérea do vegetal.

Sendo assim, *L. gracilis* mostrou-se capaz de acumular, em seus tecidos vegetais, o Pb extraído do solo, sinalizando a possibilidade de ser utilizada para programas de remediação de áreas contaminadas pelo Pb pela técnica de fitoextração. E ainda, mostrou-se tolerante às doses de Pb avaliadas.

REFERÊNCIAS

- 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. Tópicos em ciência do solo. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v. 1, p. 299-352, 2000.
- ALBUQUERQUE, C. C. *et al.* Antimicrobial Action of the Essential Oil of *Lippia gracilis* Schauer. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v. 49, n. 4, p. 527-535, 2006.
- ALVES, J. C. *et al.* Absorção e distribuição de chumbo em plantas de vetiver, jureminha e algaroba. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.32, n.3, p.1329-1336, 2008.
- ALI, H.; NASEER, M.; SAJAD, M. A.; Phytoremediation of heavy metals by *Trifolium alexandrinum*. *International Journal Of Environmental Sciences*, v. 2, n.3, p. 1459-1469, 2012.
- BITU, V. *et al.* Phytochemical screening and antimicrobial activity of essential oil from *Lippia gracilis*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 22, n.1, p. 69-75, 2012.
- BHARGAVA, Atul *et al.* Approaches for enhanced phytoextraction of heavy metals. **Journal of Environmental Management**, p. 103-120, 2012.
- BOCCHIET, N.; FERRACIN, L. C.; BIAGGIO, S. R. Pilhas e Baterias: Funcionamento e Impacto Ambiental. *Química Nova Na Escola*, Santa Catarina, n. 11, p.3-9, 2000.
- CASTRO, L. A. S. DE; FREIRE, C. J. DA S.; MATTOS, M. L. T. Sintomas deficiência em ameixa. Agência Embrapa de Informação Tecnológica (AGEITEC). Disponível em: <<https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/ameixa/arvore/CONT000gix2jq9302wx5ok05vadr1w2fzo4p.html>>. Acesso em: 20 jan 2016.
- FAYIGA, A. O.; MA, L. Q. Using phosphate rock to immobilize metals in soil and increase arsenic uptake by hyperaccumulator *Pteris vittata*. **Science of The Total Environment**. v. 359, n. 1-3, p.17-25, 2006.

- GONÇALVES, J. G. *et al.* Avaliação da bioacessibilidade de Platina (Pt) e Chumbo (Pb) em solos urbanos. 35º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. 2012.
- HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. California Agricultural Experimental Station, Berkeley, n. 347, 1950.
- JEZLER, C. N. *et al.* Pb e Cd no crescimento, ultraestrutura foliar e produção de óleo essencial de hortelã (*Mentha arvensis* L.). **Ciência Rural**. Santa Maria. v. 45, n. 3, p. 392-398, 2015.
- KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. Trace elements in soil and plants. 3. ed. Boca Raton: CRC Press, 2001. 413 p.
- LEE, J.; SUNG, K. Effects of chelates on soil microbial properties, plant growth and heavy metal accumulation in plants. **Ecological Engineering**. v. 73, p. 386-394, 2014.
- MA, J. F.; MIYAKE, Y.; TAKAHASHI, E. Silicon as a beneficial element for crop plants. In: DANTNOFF, L. E.; SNEDER, G. H.; KORNDORFER, G. H. (Ed.). Silicon in Agriculture. Amsterdam: **Elsevier**, p. 17-39, 2001.
- MELO, R. F. *et al.* Potencial de quatro espécies herbáceas forrageiras para fitorremediação de solo contaminado por arsênio. **Rev. Bras. Ciênc. Solo**, Viçosa, v. 33, n. 2, p. 455-465, 2009.
- OLIVEIRA, G. L. *et al.* Enraizamento de estacas de *Lippia sidoides* Cham utilizando diferentes tipos de estacas, substratos e concentrações do ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Botucatu, v. 10, n.4, p.12-17. 2008.
- PEREIRA, B. F. **Potencial fitorremediador das culturas de feijão-de-porco, girassol e milho cultivadas em latossolo vermelho contaminado com chumbo**. 2005. 68p. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agrônômico.
- PIRES, F.R. *et al.* Fitorremediação de solos contaminados com herbicidas. **Planta Daninha**, Viçosa, v.21, n.2, 2003.
- PLANK, C. OWEN (EDITOR). PLANT ANALYSIS REFERENCE PROCEDURES FOR THE SOUTHERN REGION OF THE UNITED STATES. SOUTHERN COOPERATIVE SERIES BULLETIN 368. 1992. 83 P.
- RAGAGNIN, R. C. G. *et al.* Effect of salt stress on the growth of *Lippia gracilis* S. and on the quality of its essential oil. **Acta bot. bras.** v. 28, n.3, p. 346-351, 2014.
- REZVANI, M.; ZAEFARIAN, F. Bioaccumulation and translocation factors of cadmium and lead in *Aeluropus littoralis*. **Journal of Agricultural Engineering**, Australian, v. 4, n. 2, p. 114-119, 2011.
- ROSSATO, L. V. **Efeitos bioquímicos e fisiológicos do chumbo em plantas de Quitoco (*P. sagittalis*): possível papel fitorremediador**. 2010. 83 p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica toxicológica) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.
- SÁ, R. A. *et al.* Phytoaccumulation and effect of lead on yield and chemical composition of *Mentha crispata* essential oil. **Desalination and Water Treatment**. v.53, p. 3007-3017. 2014.
- SHEN, Z.G. *et al.* Lead phytoextraction from contaminated soil with high-biomass plant species. **Journal of Environmental Quality**, v.31, p.1893-1900, 2002.
- SOUZA, E. P. *et al.* Mecanismos de tolerância a estresses por metais pesados em plantas. **R. Bras. Agrociência**, Pelotas, v.17, n.2-4, p.167-173, 2011.