

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

ALTERAÇÕES ULTRA ESTRUTURAIS EM ESPÉCIES DE *PSIDIUM* INDUZIDAS POR CÁDMIO E NÍQUEL

Gabriella Silva de Aguiar¹, Amélia Carlos Tuler², Jairo Pinto de Oliveira³, Elias Terra Werner¹, Marcia Flores da Silva Ferreira¹.

¹Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Alto Universitário S/N, 295000 – Alegre – ES, Brasil. gabriella.aguiar23@gmail.com, marcia.ferreira@ufes.br, eliaswerner12@gmail.com.

²Universidade Federal de Roraima, Centro de Estudos da Biodiversidade. Avenida Capitão Ene Garcez - 2413- Mecejana 69304000 - Boa Vista- RR, Brasil. ameliatuler@gmail.com

³Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Morfologia, Maruípe 29.040-090, Vitória – ES. jairo.oliveira@ufes.br.

Resumo

Neste estudo avaliou-se as respostas ultra estruturais nos tecidos radiculares de três espécies, *Psidium cattleyanum*, *Psidium myrtoides* e *Psidium gaudichaudianum*, sob contaminação no solo por cádmio e níquel para metodologia de fitorremediação. O experimento foi instalado e conduzido em casa de vegetação por 90 dias, em delineamento inteiramente casualizado com os tratamentos controle, cádmio e níquel, e dez repetições por tratamento. Os tratamentos com cádmio e níquel consistiram na aplicação, separadamente, via solo, de 18 mg dm⁻³ de cádmio (CdCl₂), e 70 mg dm⁻³ de níquel (NiCl₂) e o controle (ausência de ambos os metais). A análise das alterações ultra estruturais dos tecidos radiculares foi realizada por microscopia eletrônica de varredura. Desorganizações dos sistemas dérmico, fundamental e vascular da raiz ocorreram sob influência do cádmio e níquel. Com os tratamentos com cádmio e níquel houve ausência de delimitação dos tecidos radiculares quanto epiderme, exoderme, parênquima cortical, endoderme; floema; xilema. As espécies apresentaram desorganização em sua ultraestrutura radicular quando submetidas a tratamentos com cádmio e níquel.

Palavras-chave: Cádmio. Níquel. Fitorremediação. Anatomia Vegetal.

Área do Conhecimento: Biologia Geral

Introdução

As florestas tropicais sofrem contínuas devastações devido ao crescimento desordenado dos centros urbanos, atividades industriais e agrícolas irregulares, resultando no aumento da contaminação do solo e das bacias hidrográficas por metais pesados (FONTES *et al.*, 2009, SEVERO, 1999). A fitorremediação é uma técnica econômica e ecologicamente segura que utiliza plantas para remover, reter ou tornar inofensivos poluentes ambientais, incluindo metais, metaloides e oligoelementos (KOELMEL *et al.*, 2015). A utilização de espécies arbóreas na fitorremediação é citada devido à sua adaptação em solos pobres em nutrientes, alta produtividade de biomassa e sistemas radiculares profundos, tornando-as economicamente viáveis (LIU *et al.*, 2013).

Entretanto, as respostas nas plantas frente à contaminação por metais pesados, como cádmio e níquel, podem promover alterações fenotípicas, como a redução no crescimento, alterações na arquitetura e na estrutura do sistema radicular (LUX *et al.*, 2011, MONNI *et al.*, 2001); anatômicas, por meio do acréscimo de concentração de materiais fenólicos na parede celular e no lúmen do xilema (VOLLENWEIDER *et al.*, 2006), redução no tamanho das células paliçádicas e da epiderme (SRIDHAR *et al.*, 2005); e genéticas, com ativação de genes que regulam positivamente a tolerância a metais pesados (PAL, 2010).

Estudos relatam a presença de diferentes espécies de *Psidium* em locais contaminados por cádmio e níquel com ausência de sintomas críticos de toxicidade a esses elementos, sugerindo tolerância da espécie à presença desses metais (PERRY *et al.*, 2010a). *Psidium* L., pertencente à família Myrtaceae, inclui espécies de importância ecológica, como *P. cattleyanum* Sabine, *P. myrtoides* O Berg. e *P.*

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

gaudichaudianum Proença & Faria. Algumas espécies do gênero são relatadas em outros lugares do mundo, resultado de possível sucesso adaptativo (SOARES-SILVA E PROENÇA, 2008).

Neste trabalho objetivou-se avaliar as respostas ultra estruturais das espécies de *Psidium cattleianum*, *Psidium myrtoide*s e *Psidium gaudichaudianum* frente à contaminação por cádmio e níquel no solo, identificando os efeitos dos metais na anatomia da raiz.

Metodologia

Mudas de origem seminal das espécies – *Psidium cattleianum*, *P. myrtoide*s e *P. gaudichaudianum* foram obtidas a partir do viveiro Frucafé credenciado pelo MAPA, da cidade de Linhares-ES e transplantadas para vasos plásticos (10 dm³), preenchidos com 9,2 kg vaso⁻¹ de solo adubado. A adubação foi realizada de acordo com Novais et al. (1991), utilizando amostras (20 - 40 cm) de um Latossolo Vermelho Amarelo. O experimento foi instalado e conduzido em casa de vegetação por 90 dias distribuído num delineamento inteiramente casualizado, com os tratamentos controle, cádmio e níquel, e dez repetições por tratamento. A repetição foi constituída por uma planta no vaso. Os tratamentos com cádmio e níquel consistiram na aplicação, separadamente, via solo, de 18 mg dm⁻³ de cádmio (CdCl₂), e 70 mg dm⁻³ de níquel (NiCl₂), e o controle (ausência de ambos os metais), para as três espécies. Os vasos foram revestidos com sacolas plásticas para evitar perda por lixiviação e a contaminação dos vasos. As doses de cádmio e níquel utilizadas neste experimento consistiram em valores orientadores de qualidade do solo e valores limites estabelecidos mediante normativa do nº 460/2013 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) (ABBASLOU; BAKHTIARI, 2017, CONAMA, 2013, LUO et al., 2016, ZULFIQAR et al., 2019).

A análise das alterações ultra estruturais a partir dos tratamentos, foi realizada mediante a microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Jeol, JEM6610 LV), operado com filamento de Tungstênio a 20kV. A análise de espectroscopia por energia dispersiva de raios-x (EDS), foi utilizada para avaliar a composição elemental nas diferentes partes da planta, por meio do detector BrukerXFlash 6/10 acoplado ao MEV. Aos 90 dias de aplicação dos tratamentos, amostras de raiz de três plantas foram coletadas a partir do ápice da raiz principal na região da coifa. Após a coleta as amostras foram lavadas em tampão PBS – pH 7,2 para limpeza total e fixadas em fixador Karnovsky (glutaraldeído 2,5% + formaldeído 2%) e PBS pH 7,2 a 0,1 mol L⁻¹ por 2 horas em temperatura ambiente, e posteriormente acondicionadas em geladeira a 4°C.

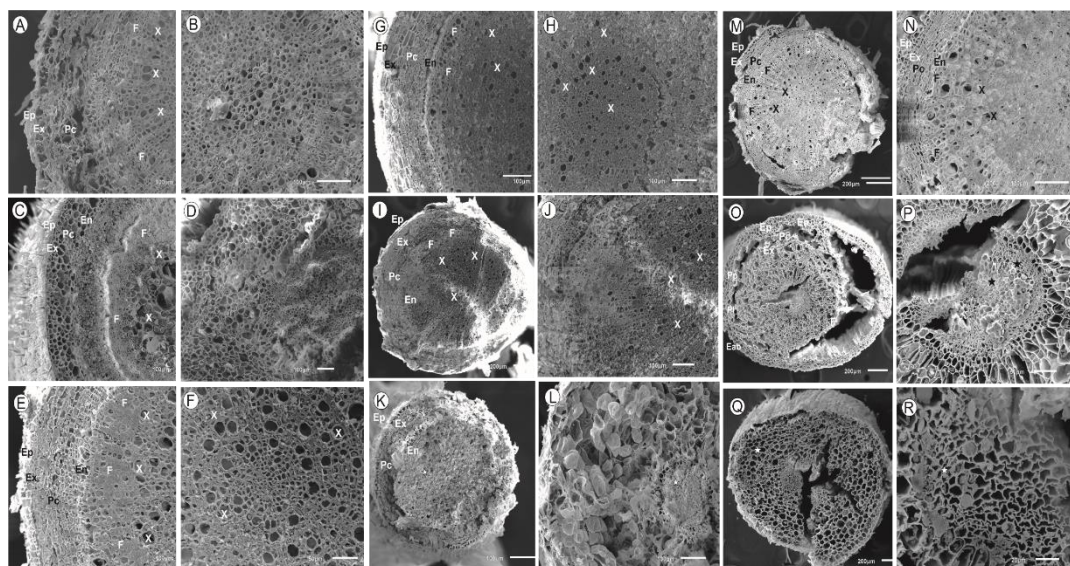
O processamento consistiu na secção transversal das amostras em 4 mm a partir do terço médio da raiz, de cada tratamento que foram lavadas em tampão PBS (pH 7,2), seguidas de pós-fixação em solução de ferrocianeto de potássio 1,25% (p/v) e Tetróxido de Ósmio 1,0% (p/v) por 1h a temperatura ambiente. Posteriormente, as amostras foram lavadas com tampão e água destilada, desidratadas em gradientes crescentes de etanol (0, 30, 50, 70, 90 e 100% v/v) por 30 minutos cada banho e conduzidas para a etapa de secagem em ponto crítico (Autosandri-815, Tousimis). Após a montagem dos *stubs*, foi realizada uma cobertura de ouro (20 nm) em metalizador (Desk V, DentonVaccum) para visualização no MEV.

Resultados

Foram observadas desorganizações dos sistemas dérmico, fundamental e vascular da raiz, sob influência do cádmio e níquel, quando comparados ao controle. Não houve delimitação dos tecidos radiculares quanto epiderme, exoderme, parênquima cortical, endoderme; floema; xilema nos tratamentos. Os tecidos radiculares das plantas controle não apresentaram alterações ultra estruturais mediante aos tratamentos (Figura 1).

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

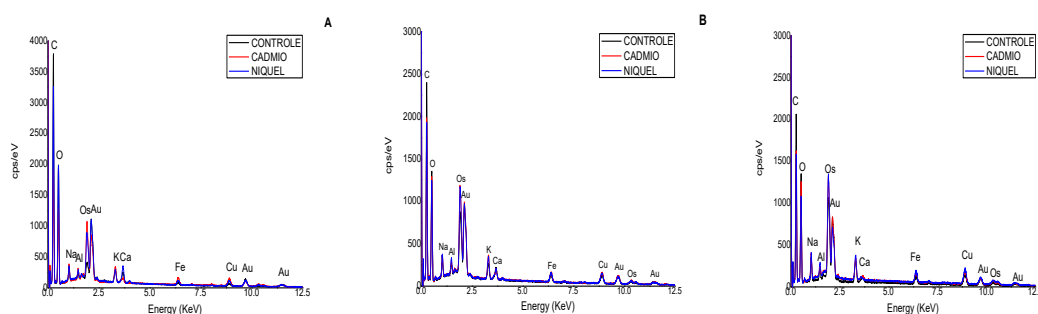
Figura 1 - Secção transversal da raiz nos tratamentos e controle de *P. cattleyanum*, 0 mg dm⁻³ (A-B), 18 mg dm⁻³ de Cd (C-D) e 70 mg dm⁻³ de Ni. (E-F). *P. myrtilloides* 0 mg dm⁻³ (G-H), 18 mg dm⁻³ (I-J), e 70 mg dm⁻³ de Ni (K-L). *P. gaudichaudianum* 0 mg dm⁻³ (M-N), 18 mg dm⁻³ (O-P), e 70 mg dm⁻³ (Q-R). Ep= Epiderme; Ex= Exoderme; Pc= Parênquima cortical; En= Endoderme; F= Floema; X= Xilema.



Fonte: Autor

De maneira geral, o EDS revelou para as raízes nos tratamentos e controle oito elementos essenciais: carbono, oxigênio, sódio, potássio, ferro, cálcio, magnésio e alumínio (Figura 2 A-C).

Figura 2 - Espectros da Energia Dispersiva dos elementos encontrados por meio do Raio-X (EDS), dos órgãos das três espécies de *Psidium* no controle, e tratamentos com cádmio e níquel. Raiz de *P. cattleyanum*, *P. myrtilloides* e *P. gaudichaudianum* respectivamente, figuras (A-C).



Fonte: Autor.

Psidium cattleyanum e *P. gaudichaudianum* quando submetidas ao cádmio, apresentaram um aumento nos valores associados de massa normalizada de ferro, sódio e potássio em todos os órgãos, em comparação ao controle. *Psidium cattleyanum* e *P. gaudichaudianum* apresentaram decréscimo de massa normalizada de carbono, em relação ao controle. *Psidium myrtilloides* apresentou decréscimo de valor associado à massa normalizada de oxigênio. O cádmio foi observado alocado na raiz de *P. gaudichaudianum* (Tabela 1).

Nas três espécies, quando submetidas ao tratamento com níquel, houve aumento no valor associado à massa normalizada de ferro, sódio e potássio em comparação ao controle. *Psidium cattleyanum*, *P. myrtilloides* e *P. gaudichaudianum* apresentaram decréscimo de massa normalizada de carbono, em

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

relação ao controle. Houve decréscimo de valor associado à massa normalizada de oxigênio em *P. myrtoides* e *P. gaudichaudianum*. Teores de níquel foram encontrados nas três espécies estudadas

Tabela 1 - Porcentagem de Massa normalizada (%) dos elementos identificados na raiz de três espécies por meio do Espectro de Energia Dispersiva por Raios-x nos tratamentos com cádmio 18 mg dm⁻³ e níquel 70 mg dm⁻³ e no controle.

	<i>P. cattleianum</i>			<i>P. myrtoides</i>			<i>P. gaudichaudianum</i>		
Elemento	Controle	Cádmio	Níquel	Controle	Cádmio	Níquel	Controle	Cádmio	Níquel
Cádmio	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
Carbono	59,63	54,47	56,84	56,51	57,28	55,58	55,69	52,36	53,26
Oxigênio	35,47	35,96	36,67	37,11	36,65	36,53	35,80	36,70	33,73
Ósmio	1,05	3,58	2,01	1,96	2,32	2,96	3,71	4,94	6,20
Ouro	2,81	3,50	2,89	2,95	2,41	3,06	2,83	3,57	3,89
Ferro	0,13	0,68	0,33	0,35	0,34	0,37	0,45	0,66	0,79
Sódio	0,31	0,76	0,37	0,54	0,39	0,63	0,67	0,88	0,95
Potássio	0,25	0,64	0,33	0,23	0,32	0,41	0,58	0,68	0,89
Alumínio	0,04	0,17	0,04	0,06	0,02	0,19	0,06	0,04	0,16
Cálcio	0,25	0,19	0,47	0,23	0,21	0,23	0,14	0,12	0,06
Magnésio	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,01	0,01
Níquel	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00

Discussão

A desorganização dos sistemas dérmico, fundamental e vascular nas raízes das espécies de *Psidium* foram relacionadas com as respostas desses tecidos à contaminação de metais. Semelhante a esses resultados De Sá e Melo Marques (2011), observaram uma desorganização tecidual nos tecidos radiculares na presença de cádmio em Eucalipto com um espessamento na epiderme e endoderme radicular. Pesquisas demonstram que, esse metal ocupa sítios de ligação de certos nutrientes essenciais, modificando suas funções nas células vegetais e também ocasiona o desvio da rota normal do transporte de elétrons para a produção de radicais livres (VIEIRA, 2015). Em particular, a absorção de íons de cádmio ocorre em competição com o mesmo transportador transmembrana de outros nutrientes como potássio, cálcio, ferro, manganês, magnésio, cobre e níquel (RIVETTA; NEGRINI; COCUCI, 1997). A toxicidade do metal afeta a permeabilidade da membrana plasmática causando uma redução no conteúdo de água, o que leva a uma interação no balanço hídrico e consequentemente o transporte de íons, desempenhando um papel na homeostase do metal, prevenindo ou reduzindo a entrada deste na célula o que justifica teores de cádmio e níquel presentes nas raízes. No entanto, exemplos de exclusão ou mecanismos de absorção reduzida em plantas superiores são limitados (BARCELÓ; VÁZQUEZ; POSCHENRIEDER, 1988).

Alguns trabalhos investigam a participação do níquel na síntese de lignina. Os autores como Gajewska et al. (2006) e Pandolfini et al. (1992) observaram que concentrações tóxicas de níquel podem induzir a atividade extracelular de enzimas peroxidases responsáveis pela produção de compostos fenólicos, como a lignina. Neste contexto, o aumento da síntese de lignina é um mecanismo que serve para reduzir a permeabilidade das células das raízes.

Por meio da energia dispersiva de raios-x (EDS) foi possível identificar a presença de níquel em alguns órgãos das plantas estudadas. Contudo, as alterações anatômicas encontradas pode estar ou não relacionadas ao efeito do metal na planta devido as diferentes interações, não estudadas, entre os elementos que compõe a estrutura da planta.

Conclusão

As espécies em estudo apresentaram desorganização em sua ultraestrutura radicular quando submetidas aos metais pesados cádmio e níquel, sugerindo que para a metodologia de fitorremediação

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

deve-se investigar a um experimento a longo prazo se tais alterações podem desencadear prejuízos fisiológicos para essas espécies.

Referências

- ABBASLOU, H.; BAKHTIARI, S. Phytoremediation potential of heavy metals by two native pasture plants (*Eucalyptus grandis* and *Ailanthus altissima*) assisted with amf and fibrous minerals in contaminated mining regions. **Pollution**, v. 3, n. 3, p. 471–486, 2017.
- BARCELÓ, J.; VÁZQUEZ, M. D.; POSCHENRIEDER, C. Structural and ultrastructural disorders in cadmium-treated bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). **New Phytologist**, v. 108, n. 1, p. 37–49, 1988.
- CONAMA. **Resolução CONAMA nº 460/2013**, 2013.
- DE SÁ E MELO MARQUES, T. C. L. L. *et al.* Respostas Fisiológicas e Anatômicas de Plantas Jovens de Eucalipto Expostas ao Cádmio. **Revista Arvore**, v. 35, n. 5, p. 997–1006, 2011.
- FONTES, I. B. M. *et al.* Avaliação dos micropoluentes inorgânicos da estação de tratamento de esgoto de Ilhéus (Bahia). **Geografia**, v.18, n.1, p.35-44. 2009.
- GAJEWSKA, E. *et al.* Effect of nickel on antioxidative enzyme activities, proline and chlorophyll content in wheat shoots. **Biol Plant** v.50: p.653–659. 2006.
- KOELMEL, J. *et al.* Bibliometric Analysis of Phytotechnologies for Remediation: Global Scenario of Research and Applications. **International Journal of Phytoremediation**, v.17, n.2: p.145-153, 2015.
- LIU, J. *et al.* Mn accumulation and tolerance in *Celosia argentea* Linn.: A new Mn-hyperaccumulating plant species. **Journal of Hazardous Materials**, v.267: p.136-141, 2013.
- LUO, J. *et al.* Phytoremediation efficiency of Cd by *Eucalyptus globulus* transplanted from polluted and unpolluted sites. **International Journal of Phytoremediation**, v. 18, n. 4, p. 308–314, 2016.
- LUX, A. *et al.* Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 62, n. 1, p. 21-37, 2011.
- MONNI, S.; UHLIG C.; HANSEN E.; MAGEL E. Ecophysiological responses of *Empetrum nigrum* to heavy metal pollution. **Environ. Pollut.**, v.112, p.121-129. 2001.
- NOVAIS, R. F.; NEVES, J. C. L.; BARROS, N. F. Ensaio em ambiente controlado. In: OLIVEIRA, A. J. de; GARRIDO, W. E.; ARAUJO, J. D. de; LOURENÇO, S. (Coord.). Métodos de pesquisa em fertilidade do solo. Brasília: **EMBRAPA-SEA**, p. 189-253.1991.
- PAL, R.; RAI, J.P.N. Phytochelatins: peptides involved in heavy metal detoxification, **Appl. biochemistry and biotechnology**, v.160, p.945-963, 2010.
- PANDOLFINI, T.; GABBRIELLI, R.; COMPARINI, C. Nickel toxicity and peroxidase activity in seedlings of *Triticum aestivum* L. **Plant Cell Environ.** v.15:p.719–725,1992.
- PERRY, C.T. *et al.* *Psidium guajava* as a bioaccumulator of nickel around an oil refinery, southern Brazil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, n. 4, p. 647–654, 2010b.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

RIVETTA, A.; NEGRINI, N.; COCUCCI, M. Involvement of Ca^{2+} calmodulin in Cd^{2+} toxicity during the early phases of radish (*Raphanus sativus* L.) seed germination. **Plant cell and Environment**. v.20, p. 600–608, 1997.

SEVERO, M. I. G. Etude de l'impact toxicologique des polluants minéraux (Cu, Cr) engendré par des rejets agricoles sur les crustacés de l'état de Bahia-Bresil. **Université Reims**, Reims, France, 1999.

SOARES-SILVA, L. H.; PROENÇA, C. E. B. A new species of *Psidium* L. (Myrtaceae) from southern Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.158, n.1: p.51-54. 2008.

SRIDHAR, B. B. M. *et al.* Anatomical changes due to uptake and accumulation of Zn and Cd in Indian mustard (*Brassica juncea*). **Environmental and Experimental Botany**, v. 54, n. 2, p. 131–141, 2005.

VIEIRA, L. R. *et al.* Cadmium toxicity in plants. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 19, n. 2, p. 1574–1588, 2015.

VOLLENWEIDER, P. *et al.* Localization and effects of cadmium in leaves of a cadmium-tolerant willow (*Salix viminalis* L.). Part II Microlocalization and cellular effects of cadmium. **Environ. Exp. Bot.** v.58: p.25–40.2006.

ZULFIQAR, U. *et al.* Lead toxicity in plants: Impacts and remediation. **Journal of Environmental Management**, v. 250, n. November 2018, 2019.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), e em parceria com a empresa VALE S.A.