

EFEITOS DO CROMO EM *H. RANUNCULOIDES*: ESTUDO PARA UTILIZAÇÃO EM BIOFILTROS

CAROLINA FACCIO DEMARCO¹; JOSIANE PINHEIRO FARIAS²; THAYS FRANÇA AFONSO³; DIENIFER ALINE BRAUN BUNDE⁴; SIMONE PIENIZ⁵; ROBSON ANDREAZZA⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – carol_demarco@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – jo.anetst@yahoo.com.br

³Universidade Federal de Pelotas – thaysafonso@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – dieniferbbunde@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – nutrisimone@yahoo.com.br

⁶Universidade Federal de Pelotas – robsonandreazza@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

A contaminação por metais pesados em ambientes aquáticos representa um grande risco devido ao seu potencial de permanência no ambiente e bioacumulação em plantas e animais em suas cadeias tróficas, causando danos aos organismos mesmo em baixas concentrações (ZHANG et al., 2019). As principais fontes de cromo em ambientes aquáticos são a disposição inadequada de efluentes industriais, bem como lixiviação de aterros sanitários e de áreas de mineração (MISHRA; BHARAGAVA, 2016).

O elemento cromo, em sua forma hexavalente é altamente solúvel e rapidamente permeável, tendo interação com proteínas e ácidos nucleicos. Os efeitos toxicológicos do cromo em sua forma Cr (VI) advêm da possibilidade da livre difusão nas membranas celulares, bem como do forte potencial oxidativo, causando efeitos tóxicos, mutagênicos, genotóxicos e cancerígenos no organismo (MISHRA; BHARAGAVA, 2016).

Os sistemas de biofiltros do tipo ilhas flutuantes são uma variação do sistema de wetland construído para melhoria da qualidade da água e podem ser utilizados para a remoção de metais pesados e outros contaminantes do ambiente aquático. São constituídos de vegetação sobre um suporte flutuante, permanecendo sob a superfície do corpo hídrico (CHANG et al., 2017). Esses sistemas apresentam a parte superior da vegetação crescendo acima do nível da água, enquanto as raízes realizam a filtração dos contaminantes em hidroponia. As raízes permitem o desenvolvimento de um biofilme de microrganismos, os quais também apresentam mecanismos de remoção de contaminantes (BENVENUTI et al., 2018).

As macrófitas aquáticas apresentam propriedades que permitem a filtragem de diferentes contaminantes no meio, tornando-as favoráveis para aplicação em biofiltros. A espécie *Hydrocotyle ranunculoides* já apresenta relato de potencial natural de remoção de metais pesados, incluindo o cromo, no Arroio Santa Bárbara, município de Pelotas (DEMARCO et al. 2018).

Um efeito importante causado pela presença de metais pesados nas plantas é o estresse oxidativo. Esse efeito ocasiona o aumento das espécies reativas de oxigênio (ERO), como por exemplo o radical superóxido (O_2^-), radical hidroxila, radical hidroperoxila (HO_2^-), peróxidos (O_2^{2-}), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio (O_2), os quais são responsáveis por causar danos como disfunção metabólica podendo levar a morte celular (ETESAMI, 2018). A peroxidação lipídica refere-se à degradação

oxidativa dos lipídios é causada pelo aumento excessivo de EROs, danificando a estrutura e o funcionamento das membranas devido a alteração na sua fluidez e permeabilidade (ISLAM et al., 2014).

Portanto, o entendimento dos efeitos ocasionados por metais pesados nas plantas é de extrema importância para aplicação em sistemas de biofiltração, de modo que a planta consiga remover os contaminantes de interesse. Assim, o objetivo desta pesquisa é compreender os efeitos do Cromo (VI) em *H. ranunculoides* em relação a peroxidação lipídica.

2. METODOLOGIA

O material vegetal foi obtido no município de Pelotas/RS, Brasil. As plantas foram coletadas, lavadas para retirada dos sedimentos associados e mantidas em solução nutritiva de Clark (1975) para ambientação. O período de luz selecionado foi de 16h/8h, com temperatura de 25°C. As plantas foram expostas a diferentes concentrações de Cr (VI) por 7 dias. A solução estoque de Cr (VI) (1000 mg L⁻¹) foi preparada com dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇) e foi usada para preparar as seguintes concentrações: 1 mg L⁻¹, 2 mg L⁻¹, 4 mg L⁻¹, 6 mg L⁻¹ e 10 mg L⁻¹. O pH foi ajustado para 6,5 com NaOH (0,1 M). Ressalta-se que as soluções com cromo foram preparadas com solução nutritiva, e o controle (0 mg L⁻¹) foi composta apenas por solução de Clark (1975).

As substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foram determinadas de acordo com Ohkawa; Ohishi; Yagi, (1979). A amostra - 500 mg de folha, foi então incubada em ácido acético (20%) pH 3,5 e ácido tiobarbitúrico (0,67%), pH 4,0. A incubação foi realizada a 95°C por 60 min, e rapidamente transferida em gelo e então centrifugados. Os produtos da reação foram determinados a 532 nm. A concentração foi calculada por meio de uma curva padrão e os resultados expressos em nmol de amostra de MDA g⁻¹.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tratamento com os maiores níveis de Cr (VI): 6 mg L⁻¹ e 10 mg L⁻¹ apresentaram aumento significativo no teor de MDA nas folhas de *H. ranunculoides* (Fig. 1).

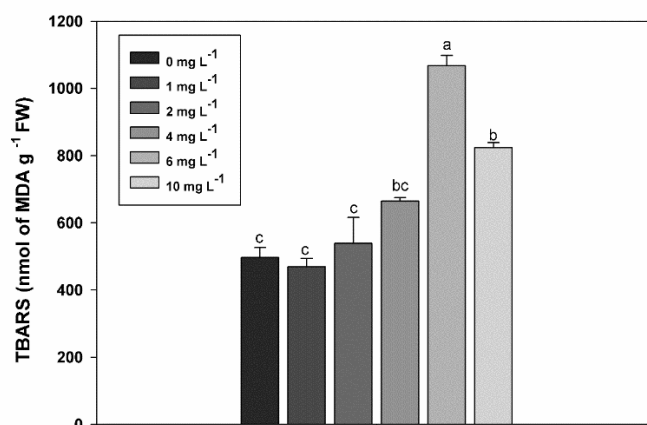


Figura 1 - Níveis de TBARS (nm MDA g⁻¹ peso fresco) em *H. ranunculoides* em diferentes tratamentos com Cr (VI).

Esses valores foram $1067,81 \pm 30,22$ nmol MDA g^{-1} peso fresco e $823,49 \pm 14,84$ nmol MDA g^{-1} peso fresco, respectivamente, enquanto no tratamento de controle o valor foi de $496,46 \pm 29,68$ nmol MDA g^{-1} , indicando assim a peroxidação lipídica aumentada nestes tratamentos.

Resultados anteriores na literatura demonstraram o aumento da peroxidação lipídica com o aumento dos níveis de Cr (VI). Liu et al. (2014), ao estudar o pré-tratamento com Cr (III) para aliviar o estresse oxidativo do cromo hexavalente em plantas de trigo, também detectaram aumento no teor de TBARS. Este fato foi minimizado pelo pré-tratamento, o qual diminuiu o acúmulo de TBARS nas plantas estudadas pelo Cr (VI), demonstrando níveis menores de estresse.

Um estudo adicional demonstrando que os níveis de peroxidação lipídica foram maiores no tratamento com Cr (VI) do que nas amostras de controle foi o estudo realizado por Sharmin et al. (2012). No estudo, os autores realizaram a identificação das alterações proteômicas e fisiológicas nas raízes da espécie vegetal *Miscanthus sinensis* e verificaram maiores níveis de peroxidação lipídica e H_2O_2 em plantas tratadas com cromo. Esses resultados indicaram que um extenso dano oxidativo pode ter ocorrido nas células da raiz. Os autores identificaram cerca de 170 nmol de MDA g^{-1} nas amostras controle, enquanto no tratamento com maior teor de cromo (1000 μM) o valor verificado foi de 250 nmol de MDA g^{-1} . Esses resultados foram posteriormente confirmados por um ensaio histoquímico com reagente de Schiffs, que permitiu a localização de produtos reativos de TBA *in situ* com alta sensibilidade, corroborando assim com outros estudos que relataram aumento da peroxidação induzida por metais pesados como o arsênio (AHMAD et al. 2021), chumbo (HUANG et al. 2017) e alumínio (RIAZ et al. 2018).

4. CONCLUSÕES

A detecção de peroxidação lipídica aumentada em *H. ranunculoides* nos tratamentos com maiores concentrações de Cr VI demonstra que a espécie apresenta grande tolerância a esse metal, visto que as menores concentrações já são consideradas muito prejudiciais e responsáveis por ocasionar o estresse oxidativo.

Outras análises estão em andamento visando o entendimento da atividade enzimática para tolerância ao cromo, entretanto, os resultados de TBARS em conjunto com a identificação prévia de potencial de remoção de metais pesados *in situ* pela espécie já apresentam excelente recomendação para a utilização em sistemas de biofiltração de ambientes aquáticos contaminados com cromo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, A., KHAN, WU, SHAH, AA, YASIN, NA, NAZ, S., ALI, A., BATOOL, AI Synergistic effects of nitric oxide and silicon on promoting plant growth, oxidative stress tolerance and reduction of arsenic uptake in *Brassica juncea*. **Chemosphere**, v. 262, p. 128384, 2021.

BENVENUTI, T.; HAMERSKI, F.; GIACOBBO, A.; BERNARDES, A. M.; ZOPPAS-FERREIRA, J.; RODRIGUES, M. A. S. Constructed floating wetland for the treatment of domestic sewage: A real-scale study. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v.6, n.5, p.5706-5711, 2018.

CHANG, Y.; CUI, H.; HUANG, M.; HE, Y. Artificial floating islands for water quality improvement. **Environmental Reviews**, v.25, n.3, p.350-357, 2017.

CLARK, RB. 1975. Characterization of phosphatase of intact maize roots. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 23 (3), 458-460.

DEMARCO, C. F.; AFONSO, T. F.; PIENIZ, S.; QUADRO, M. S.; CAMARGO, F. A. O.; ANDREAZZA, R. In situ phytoremediation characterization of heavy metals promoted by *Hydrocotyle ranunculoides* at Santa Barbara stream, an anthropogenic polluted site in southern of Brazil. **Environmental Science and Pollution Research International**, v.25, n.28, p.28312-28321, 2018.

ETESAMI, H. Bacterial mediated alleviation of heavy metal stress and decreased accumulation of metals in plant tissues: Mechanisms and future prospects. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.147, p.175-191, 2018.

HUANG, C., LAI, C., XU, P., ZENG, G., HUANG, D., ZHANG, J., WANG, R. O estresse oxidativo induzido por chumbo e a resposta antioxidante fornecem informações sobre a tolerância de *Phanerochaete chrysosporium* à exposição ao chumbo. **Chemosphere**, 187, 70-77, 2017.

ISLAM, F.; YASMEEN, T.; ALI, Q.; ALI, S.; ARIF, M. S.; HUSSAIN, S.; RIZVI, H. Influence of *Pseudomonas aeruginosa* as PGPR on oxidative stress tolerance in wheat under Zn stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.104, p.285-293, 2014.

LIU, C., DU, W., CAI, H., JIA, Z., DONG, H. 2014. Trivalent chromium pretreatment alleviates the toxicity of oxidative damage in wheat plants exposed to hexavalent chromium. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 36, n. 3, p. 787-794, 2014.

MISHRA, S.; BHARAGAVA, R. N. Toxic and genotoxic effects of hexavalent chromium in environment and its bioremediation strategies. **Journal of Environmental Science and Health**, Part C, v.34, n.1, p.1-32, 2016.

OHKAWA, H., OHISHI, N., YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351-358, 1979.

RIAZ, M., YAN, L., WU, X., HUSSAIN, S., AZIZ, O., IMRAN, M., JIANG, C. Boron reduces aluminum-induced growth inhibition, oxidative damage and alterations in the cell wall components in the roots of trifoliate orange. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 153, p. 107-115, 2018.

SHARMIN, SA, ALAM, I., KIM, KH, KIM, YG, KIM, PJ, BAHK, JD, LEE, BH. Chromium-induced physiological and proteomic alterations in roots of *Miscanthus sinensis*. **Plant science**, v. 187, p. 113-126, 2012.

ZHANG, T.; RUAN, J.; ZHANG, B.; LU, S.; GAO, C.; HUANG, L.; BAI, X.; XIE, L.; GUI, M.; QIU, R.-L. Heavy metals in human urine, foods and drinking water from an e-waste dismantling area: Identification of exposure sources and metal-induced health risk. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.169, p.707-713, 2019.