



Análise da toxicidade do arsênio para as sementes *Lactuca sativa*, *Eruca sativa*, *Sinapis alba* e *Triticum aestivum* L.

Palavras chave: Contaminação do solo; Toxicidade do arsênio; Fitotoxicidade.

Autores/as:

Karolyne Enir Serafim [FT]

Ma. Bruna de Jesus Moreira [FT]

Ma. Marcela Ravanelli Martins [FT]

Prof.^a Dr.^a Marta Siviero Guilherme Pires [FT]

INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o arsênio é um elemento nocivo à saúde pública e ao meio ambiente. Pois, o ametal pode contribuir com a poluição do solo, alteração da vida microbológica e intoxicação de toda cadeia alimentar, em razão de que o metalóide pode ser absorvido por pequenos animais e/ou vegetais (SOUZA, A. et al. 2018). É possível ser encontrado na atmosfera por meio de atividades vulcânicas e intemperismo das rochas. Mas também, por atividades antropogênicas, como mineração, agricultura, indústria madeireira e atividades industriais, especialmente de vidros e eletrônicos (LIBÂNIO, 2016).

Consoante à Agência para Substâncias Tóxicas e Registos de Doenças ATSDR. (2019), o arsênio é um dos primeiros elementos da lista de substâncias tóxicas para a saúde humana. A exemplo da problemática, ocorreu em Bangladesh no ano de 1970, a contaminação da água superficial através do esgoto doméstico, que continha concentrações de As (LIBÂNIO, 2016).

Vale ressaltar que a resolução CONAMA 420:2009 indica valores máximos de arsênio para cada tipo de solo, sendo eles de 15 mg kg⁻¹ para prevenção, 35 mg kg⁻¹ para solo agrícola, 55 mg kg⁻¹ residencial e 150 mg kg⁻¹ para industrial. Contudo, solos naturais tendem a valores inferiores a 10 mg kg⁻¹, e em áreas contaminadas esse valor pode chegar a ser mil vezes maior (MELO, R. et al. 2015).

Desta forma, esse estudo teve como objetivo analisar os efeitos de toxicidade do arsênio nas sementes das espécies *Lactuca sativa*, *Eruca sativa*, *Sinapis alba* e *Triticum aestivum* L. (alface, rúcula, mostarda e microverdes de trigo, respectivamente) através dos ensaios de fitotoxicidade recomendados pela Environmental Protection Agency - EPA.

METODOLOGIA

- **Teste em placa de Petri**

Os testes foram realizados de acordo com a norma U.S. EPA “*Ecological Effects Test Guidelines*” OPPTS 850.4200 – *Seed Germination/Root Elongation Toxicity Test* USEPA. (1996). A partir de testes preliminares, foram determinadas as seguintes concentrações para o arsênio isolado: 6,8; 10,2; 15,5; 23,2; 34,8 e 52,3 mg L⁻¹.

Para montagem dos testes de fitotoxicidade foram usadas as placas de Petri, nas quais foi colocado o papel de filtro qualitativo, e adicionou-se 4 mL das soluções nas

concentrações indicadas para cada tratamento, sendo para o controle 4 mL de Água Milli Q. As soluções foram preparadas com o reagente Arseniato de sódio heptahidratado ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), considerando o arsênio isolado. Com o auxílio de uma pinça foram adicionadas 20 sementes de cada uma das espécies sobre as placas com a solução. Todos os tratamentos foram montados em quadruplicata. Por fim, as placas foram colocadas em bandejas de plástico, cobertas com saco escuro e mantidas em temperatura constante de $22 \pm 2^\circ\text{C}$ por 5 dias (120 horas).

Após as 120 horas as sementes germinadas, aquelas que tiveram no mínimo 0,5 mm de crescimento da protrusão da radícula, de cada réplica/concentração foram contadas e, com o auxílio de um paquímetro, o comprimento das raízes foi medido. Ademais, determinou-se a porcentagem de germinação (G%), inibição relativa do alongamento da raiz (IRAR%) e inibição relativa de germinação (RGI) de acordo com Osman et al. (2020). e Chan-Keb et al. (2018), assim como a concentração que inibe 50% do crescimento da raiz (EC_{50}) e alongamento médio (AM) destas.

$$G\% = \frac{\text{N}^\circ \text{ de sementes germinadas} * 100}{\text{N}^\circ \text{ do total de sementes}}$$

$$\text{IRAR} = 100 - \left(\frac{\text{Média do alongamento da raiz na amostra} * 100}{\text{Média do alongamento do controle}} \right)$$

$$\text{RGI} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de sementes germinadas no controle} - \text{N}^\circ \text{ de sementes germinadas na amostra}}{\text{N}^\circ \text{ de sementes germinadas no controle}}$$

- **Teste em solo natural e artificial**

Os ensaios foram realizados de acordo com a ISO 11269-2:2012 *Soil quality - Determination of the effects of pollutants on soil flora - Part 2: Effects of contaminated soil on the emergence and early growth of higher plants*.

Após ensaios preliminares, foram determinadas as seguintes concentrações para o arsênio isolado a partir do reagente Arseniato de sódio heptahidratado ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$): 495, 742, 1113, 1640, e 2505 mg L^{-1} . Para preparação do ensaio, foram selecionados recipientes de polipropileno com diâmetro entre 85 a 95 mm e a umidade dos solos utilizados, solo natural (latossolo vermelho) e SAT (Solo Artificial Tropical), foi corrigida, 25% e 20%, respectivamente. O pH de cada tratamento foi determinado antes do início do teste. Vale ressaltar que para cada concentração 3 réplicas foram preparadas, exceto para o controle, preparado com água deionizada, que contou com 6 réplicas.

Posteriormente, as tampas dos recipientes foram furadas para permitir troca de ar e 100g de solo de cada tratamento foi adicionado. As sementes foram inseridas no solo com auxílio de uma pinça, a uma profundidade de 5 a 10 mm do solo. Para rega, foi utilizada fibra de vidro de 1 mm, a qual esteve em contato com a água deionizada e com o solo, sendo que a umidade foi acompanhada através da pesagem dos recipientes, como indica a ISO 11269-2:2012. Os testes foram mantidos sob temperatura controlada de $23 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 16h/8h (claro/escuro), até que 90% do controle emergisse para que o ensaio fosse finalizado e as raízes medidas.

- **Modelagem do crescimento da porção aérea das plantas**

A modelagem da média do crescimento das sementes foi realizada de acordo com a metodologia FORD-WALFORD, descoberto por Walford. (1946) e Ford. (1933), o qual é aplicado para modelos de dinâmica populacional que representam um comportamento assintótico com a estabilização no decorrer do tempo. O ensaio, no entanto, foi feito apenas para rúcula, pois essa foi a única semente, até então, que possuiu os pré-requisitos

atendidos pela norma para teste em solo. Para representar o modelo de crescimento foram necessárias 7 concentrações, sendo elas de 0, 50, 100, 200, 400, 800, 1600 e 3200 mg L⁻¹ de arsênio. Ademais, mediu-se diariamente o crescimento da parte aérea das plantas e traçou-se gráficos de ajuste linear e exponencial da média das medidas obtidas.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

• Testes em placa de Petri

Os resultados obtidos através dos cálculos para G%, IRAR%, RGI e AM são apresentados na Tabela I.

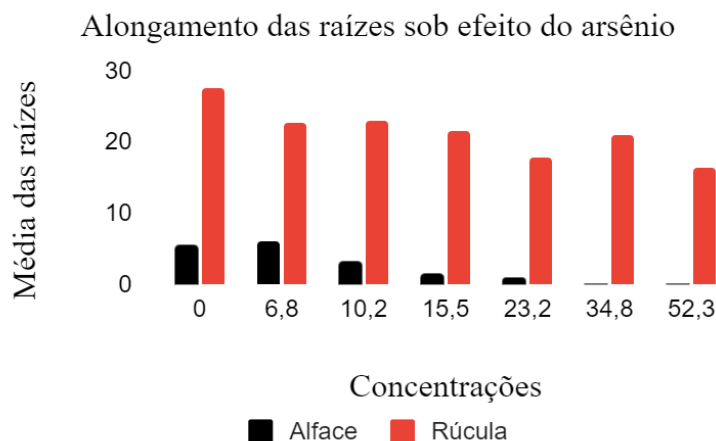
TABELA I: G%, IRAR%, RGI e AM para Rúcula e Alface

Conc. (mg L ⁻¹)	(G%) para Rúcula	(G%) para Alface	(RGI) para Rúcula	(RGI) para Alface	(IRAR%) para Rúcula	(IRAR%) para Alface	AM para Rúcula	AM para Alface
0	92,5	55	-	-	-	-	2,75	0,5
6,8	90	47,5	2,73	2,63	-18,18	-26,00	2,28	0,63
10,2	92,5	40	-1,35	28,95	16,36	42,00	2,3	0,29
15,5	92,5	20	2,73	47,37	21,82	75,50	2,15	0,12
23,2	87,5	15	5,41	68,42	35,45	82,50	1,78	0,01
34,8	90	2,5	4,05	94,74	23,64	98,50	2,1	0,01
52,3	90	0	4,05	100	40	100	1,65	0

(Autoria própria, 2023).

Conforme os dados da Tabela I e Figura I, percebe-se que a alface é muito mais sensível ao contaminante do que a rúcula, tendo em vista que há uma diferença no índice de germinação e alongamento médio das raízes entre as sementes, apesar do fato de ambas terem sido expostas sob as mesmas condições para germinação. Essa desproporção de crescimento pode ser explicada pelo potencial bioacumulativo e sensibilidade que cada semente possui, segundo Araújo, A. (2011).

FIGURA I: Média de alongamento das raízes para Rúcula e Alface.



(Autoria própria, 2023).

Ademais, foi realizado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk que indicou uma distribuição normal para ambas sementes. Em seguida, o teste de Análise de Variância (ANOVA) apresentou uma diferença estatística dos dados e o teste estatístico de Dunnett ($p < 0,05$) determinou valores de LOEC e NOEC, indicando a última concentração que não causa efeito às raízes e a primeira que apresenta níveis de toxicidade para as sementes, respectivamente. Os procedimentos foram realizados nos softwares Prisma e R Studio.

Os valores do LOEC e NOEC obtidos foram de 10,2 e 15,5 mg L⁻¹, para ambas as espécies. Esses parâmetros indicam que a partir de 15,5 mg L⁻¹ o arsênio apresentou efeitos tóxicos as sementes, em comparação ao controle, afetando seu metabolismo e crescimento, até atingindo o EC₅₀ de 10,9 e 31,6 mg L⁻¹ para alface e rúcula, respectivamente.

Os testes feitos com a mostarda e trigo, no entanto, terão que ser refeitos, pois os ensaios anteriores tiveram crescimento excessivo de fungos, o que influenciou no crescimento das raízes destas sementes

- **Testes em solo natural e artificial**

O teste com a semente de alface e mostarda foi finalizado após 25 dias, contou-se o tamanho das raízes das plantas e o tamanho de seus brotos, assim como para o teste em placa. Contudo, de acordo com a OCDE (2006), o teste é validado apenas se 90% do controle emergir, o que não ocorreu para ambas as sementes, portanto os ensaios não obtiveram validação.

Desse modo, o ensaio será aplicado para as sementes de rúcula e trigo, sob as concentrações de 495 á 2505 mg L⁻¹, tanto para análise do EC₅₀ tanto para modelagem, estas sob concentrações de 50 á 3200 mg L⁻¹, como alternativa para estudo do efeito da toxicidade do arsênio em solo.

- **Modelagem de crescimento da porção aérea das plantas**

Os valores máximos de crescimento da caule da rúcula, obtidos através do ajuste exponencial de cada concentração, foram 1.81, 1.87, 1.67, 2.03, 1.94, 1.71, 2.15 e 1.46 cm para as concentrações de 0, 50, 100, 200, 400, 800, 1600 e 3200 mg L⁻¹ de arsênio, respectivamente. Estes valores não apresentaram uma linearidade decrescente, o que pode ser explicado, segundo Campos, M. (2010), pelas propriedades físicas e químicas do solo, que influenciam na disponibilidade do metal e conseqüentemente em sua toxicidade.

O solo utilizado para ensaio com as sementes e para modelagem havia teores de 22 mg dm⁻³ de Fe, 21,7 mg dm⁻³ de Mn e pH em torno de 4,8, que consoante a Moraes, M. (2012), podem diminuir a adsorção do Arseniato de Sódio, reagente utilizado para obtenção do arsênio, além do mais, o autor aponta que com o decorrer do tempo a disponibilidade do arsênio diminui. Portanto, esses fatores indicam o motivo pelo qual o crescimento da porção aérea da planta não segue um decrescimento linear conforme aumenta-se a concentração do contaminante.

CONCLUSÃO

Os testes em placas de Petri mostraram que as concentrações de 10,9 e 31,6 mg L⁻¹ de arsênio causaram efeito de inibição de 50% no crescimento das raízes para alface e rúcula, respectivamente, em comparação com o controle. E ainda, que concentrações a partir de 15,5 mg L⁻¹ de arsênio apresentam toxicidade para ambas as sementes. O teste em solo natural e artificial, no entanto, terão que ser refeitos para as sementes de trigo e rúcula, visto que a alface e mostarda não obtiveram validação. Por fim, a modelagem apresentou valores máximos do crescimento da rúcula, que indicam o limite do crescimento da parte aérea da planta até a estabilização da mesma, sem uma linearidade decrescente, o que pode

ser explicado pelo fato do arsênio ter toxicidade influenciada quando em pH ácidos e com o tempo de incubação dos testes.

BIBLIOGRAFIA

LIBÂNIO, M. Fundamentos de qualidade e tratamento de água. 4. ed. Campinas: Átomo, 2016.

ORGANIZAÇÃO PARA COOPERAÇÃO E DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO. OCDE, 208: Teste de Planta Terrestre: Emergência de Mudas e Teste de Crescimento de Mudas: 2006. Disponível em: <https://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/33653757.pdf>. Acesso em 12 de jul. 2023.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR ISO 11269-2: Determination of the effects of pollutants on soil flora - Part 2: Effects of contaminated soil on the emergence and early growth of higher plants: 2013. Disponível em: <https://www.iso.org/standard/51382.html>. Acesso em 12 de jul. 2023.

OSMAN, H. JABRI, M. EL-GHAREEB, D. MAROA, Y. Impact of aluminum and zinc oxides on morphological characters, germination, metals accumulation and DNA in fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*). **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v.19, p.510-520, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1658077X20300722>. Acesso em 15 de jul. 2023.

ATSDR Substance Priority List. **ATSDR Agency for toxic substances and disease registry**, Atlanta, 29 de nov. de 2022. Disponível em: <https://www.atsdr.cdc.gov/spl/index.html>. Acesso em: 15 de jul. 2023.

CAMPOS, M. Atributos dos solos e riscos de lixiviação de metais pesados em solos tropicais. **Ambiência - Revista do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais**, v.6 n.3 p.547 - 565, Guarapuava, 23 de set. de 2010. Disponível em: <https://revistas.unicentro.br/index.php/ambiencia/article/view/591/1154>. Acesso em: 15 de jul. 2023.

SOUZA, A. MORASSUTI, C. DEUS, W. Poluição do Ambiente por metais pesados e utilização de vegetais como bioindicadores. **Acta Biomedica Brasiliensia**, Mato Grosso do Sul, v. 9, n. 3, p. 95-106, dez. 2018. Disponível em: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6789234.pdf>. Acesso em: 11 de mai. 2023.

MELO, R. DIAS, L. ASSIS, I. Potencial de Espécies de Legumin para Recuperação de Solo Contaminado por Arsênio. **Revista Brasileira de Geografia Física**, Pernambuco, v. 8, n.3, p. 938 - 949, dez. 2015. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1038014/1/rOSELI2015.pdf>. Acesso em: 20 de jul. 2023.

ARAÚJO, A. GUILHERME, L. LOPES, G. CAMPOS, M. Phytoremediation of Arsenic-contaminated soils using Brachiaria grass. **Ciênc. agrotec**, Lavras, v. 35, n. 1, p. 84-91, jan./fev. 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cagro/a/WkDL9j9XGtK9ccS6xSLsPkD/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 20 de jul. 2023.

MORAES, M. Ecotoxicidade de Arsênio em Solos e sua Relação com o Valor de prevenção. Viçosa, 2012. Disponível em: <https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/5497/1/texto%20completo.pdf>. Acesso em: 20 de jul. 2023 .