

## TEORES DE SOLUTOS ORGÂNICOS EM PLANTAS DE GIRASSOL SOB ESTRESSE POR CHUMBO

Claudia Brito de Abreu (\*), Bárbara Lima do Sacramento, Marcos de Oliveira Ribeiro, Silvany Cardim Moura, André Dias de Azevedo Neto

\* Universidade Federal do Recôncavo da Bahia-UFRB, claudia01abreu@yahoo.com.br

### RESUMO

Atualmente, o aumento da degradação do meio ambiente tem como princípio o uso intensivo e inadequado de fertilizantes e de pesticidas no solo, atrelado ao aumento das atividades industriais e de mineração. Estas são as principais fontes causadoras da contaminação dos solos, cursos de água e lençol freático por metais pesados. O chumbo (Pb) se destaca como o principal contaminante de solo. A resposta das plantas à toxidez por metais pesados envolve alterações estruturais, fisiológicas e bioquímicas. O presente trabalho objetivou identificar alterações no metabolismo celular de plantas de girassol através da análise dos teores dos principais grupos de solutos orgânicos: carboidratos solúveis, aminoácidos livres, prolina livre e proteínas solúveis. O experimento foi conduzido em casa de vegetação. Foram utilizadas plantas de girassol (genótipo Olisun-05) cultivadas em bacias plásticas contendo 12 L de solução nutritiva sob aeração constante. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado e os tratamentos foram constituídos de cinco doses de chumbo na solução nutritiva (0; 0,2; 0,4; 0,6 ou 8 mmol Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>), com quatro repetições. A presença do chumbo na solução nutritiva altera significativamente a concentração dos principais grupos de solutos orgânicos celulares, evidenciando as alterações metabólicas resultantes da presença deste metal pesado no ambiente celular.

**PALAVRAS-CHAVE:** Contaminação ambiental, metal tóxico, *Helianthus annuus*, fitotoxicidade

### INTRODUÇÃO

Atualmente, o aumento da degradação do meio ambiente tem como princípio o uso intensivo e inadequado de fertilizantes e de pesticidas no solo, atrelado ao aumento das atividades industriais e de mineração. Essas práticas destacam-se como os principais responsáveis pela contaminação do solo, cursos de água e lençol freático por metais pesados (Malavolta, 1994).

A resposta das plantas à toxidez por metais pesados envolve alterações estruturais, fisiológicas e bioquímicas que dependem do tipo, da concentração do metal pesado e do tempo de exposição das plantas ao elemento estressante (Macêdo e Morril, 2008). Quando os metais pesados estão presentes em excesso, eles tornam-se tóxicos e reduzem o crescimento de plantas (Bhatti et al., 2013).

Segundo Gratão et al. (2005) de todos os poluentes existentes, o chumbo (Pb) é considerado como o maior problema ambiental do mundo moderno, por oferecer o maior risco de envenenamento aos seres humanos, especialmente às crianças. Isso ocorre devido o Pb não ser um elemento essencial ao desenvolvimento das espécies vegetais e ser facilmente absorvido e acumulado nas diferentes partes das mesmas.

Nas plantas, os estresses ambientais podem afetar o metabolismo resultando em alterações nas concentrações dos principais grupos de compostos orgânicos, quais sejam: carboidratos solúveis, compostos nitrogenados solúveis (aminoácidos livres e prolina livre) e proteínas solúveis. Do ponto de vista quantitativo, os carboidratos são considerados a categoria mais importante de solutos orgânicos, que podem ser acumulados como resposta a vários estresses (Jouve et al., 2004). Dentre os compostos nitrogenados solúveis, a prolina tem sido o mais amplamente estudado, em contraste com outros que também são acumulados em resposta aos estresses (Azevedo Neto et al., 2009).

Na exploração das culturas alimentares e econômicas são de grande importância a determinação e o conhecimento da toxicidade dos elementos químicos no solo, na planta e no homem (Macêdo e Morril, 2008). Neste contexto, destacamos a cultura do girassol (*Helianthus annuus* L.) que é uma dicotiledônea anual pertencente à família Compositae e originária do continente Norte Americano. Ela destaca-se como a quarta oleaginosa em produção de grãos e a quinta em área cultivada no mundo, devido à presença de características agrônomicas importantes, como tolerância a altas e baixas temperaturas e adaptação às diferentes condições edafoclimáticas (Castro et al., 1997).

O presente trabalho objetivou identificar alterações no metabolismo celular de plantas de girassol através da análise dos teores dos principais grupos de solutos orgânicos: carboidratos solúveis, aminoácidos livres, prolina livre e proteínas solúveis.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas na UFRB, Campus de Cruz das Almas/BA no período de abril a maio de 2013.

Foram utilizadas plantas de girassol do genótipo Olisun-05. As mudas foram produzidas a partir de sementes, em copos plásticos de 200 mL, utilizando-se como substrato areia lavada irrigada diariamente com água destilada. Decorridos 12 dias da emergência, as plântulas foram transferidas para bacias plásticas contendo 12 L de solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) sob aeração constante, onde permaneceram por cinco dias, para efeito de aclimação.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado e os tratamentos foram constituídos de cinco doses de chumbo na solução nutritiva (0; 0,2; 0,4; 0,6 ou 8 mmol  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2 \text{ L}^{-1}$ ), com quatro repetições. Os níveis das soluções foram completados diariamente com água destilada. As plantas permaneceram nestas condições de estresse por um período de 16 dias após o término das adições de chumbo.

Ao final do experimento, amostras de folhas e raízes foram coletadas, imediatamente congeladas e, em seguida liofilizadas para as análises de solutos orgânicos. O extrato bruto foi obtido macerando-se, em almofariz cerca de 1,0 g de tecidos frescos de folhas e raízes, em 5 mL de tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,0, contendo EDTA 0,1 mM. O homogeneizado foi filtrado em tecido de náilon de malha fina e centrifugado a  $12000 \times g$  por 15 min. O sobrenadante foi armazenado em ultra freezer (-80 °C) e utilizado para as determinações de carboidratos solúveis, prolina livre, aminoácidos livres e proteínas solúveis.

O teor de carboidratos solúveis foi identificado por espectrofotometria a 490 nm pelo método do fenol-ácido sulfúrico, utilizando-se a D-(+)-glucose como padrão (Dubois et al., 1956). A prolina livre foi determinada por espectrofotometria a 520 nm, utilizando-se a ninhidrina como reagente específico e a prolina pura como padrão (Bates et al., 1973). Os aminoácidos livres totais foram determinados por espectrofotometria a 570 nm pelo método da ninhidrina, utilizando-se a L-leucina pura como padrão (Yemm e Cocking, 1955). As proteínas solúveis foram determinadas por espectrofotometria a 595 nm pelo método de ligação ao corante, utilizando-se a albumina de soro bovino pura como padrão (Bradford, 1976).

Os dados coletados foram submetidos à análise da variância ( $p < 0,05$ ) e, quando necessário, submetidos ao estudo de regressão, utilizando o programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2003).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de carboidratos solúveis tiveram um aumento nas folhas de 51% apenas no nível 0,8 mM  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  (Figura 1). Nas raízes não foi observado efeito do Pb nos teores destes compostos. Os aminoácidos livres aumentaram linearmente nas folhas e diminuíram linearmente nas raízes. Dessa forma, no nível 0,8 mM de Pb foi observado um aumento de 72% nos teores destes compostos nas folhas e uma redução de 32% nas raízes (Figura 1).

As proteínas solúveis nas folhas diminuíram 36% no nível 0,8 mM  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ , em contraste com as raízes onde o Pb proporcionou um aumento linear de aproximadamente 10 vezes nas proteínas solúveis em relação ao controle (Figura 1). Este aumento nas raízes, órgão diretamente exposto ao contaminante, é possivelmente o resultado da indução das proteínas do estresse, que podem incluir várias enzimas antioxidantes (Lamhamdi et al., 2010). Considerando que a redução na concentração de proteínas solúveis nas folhas ocorreu concomitantemente ao aumento dos aminoácidos livres, os dados sugerem a ocorrência de proteólise nas folhas das plantas cultivadas em presença de Pb.

Os teores de prolina livre no tratamento de 0,8 mM Pb aumentaram cerca de 40 vezes em relação ao controle nas folhas e 170% nas raízes. Indicando que o girassol é um bom acumulador de prolina sob condições de estresse. A prolina é um componente dos sistemas de defesa não específicos para a toxicidade do chumbo. Alivia a toxicidade agindo como um quelante do metal e como um estabilizador das proteínas (Sharma e Dubey, 2005).

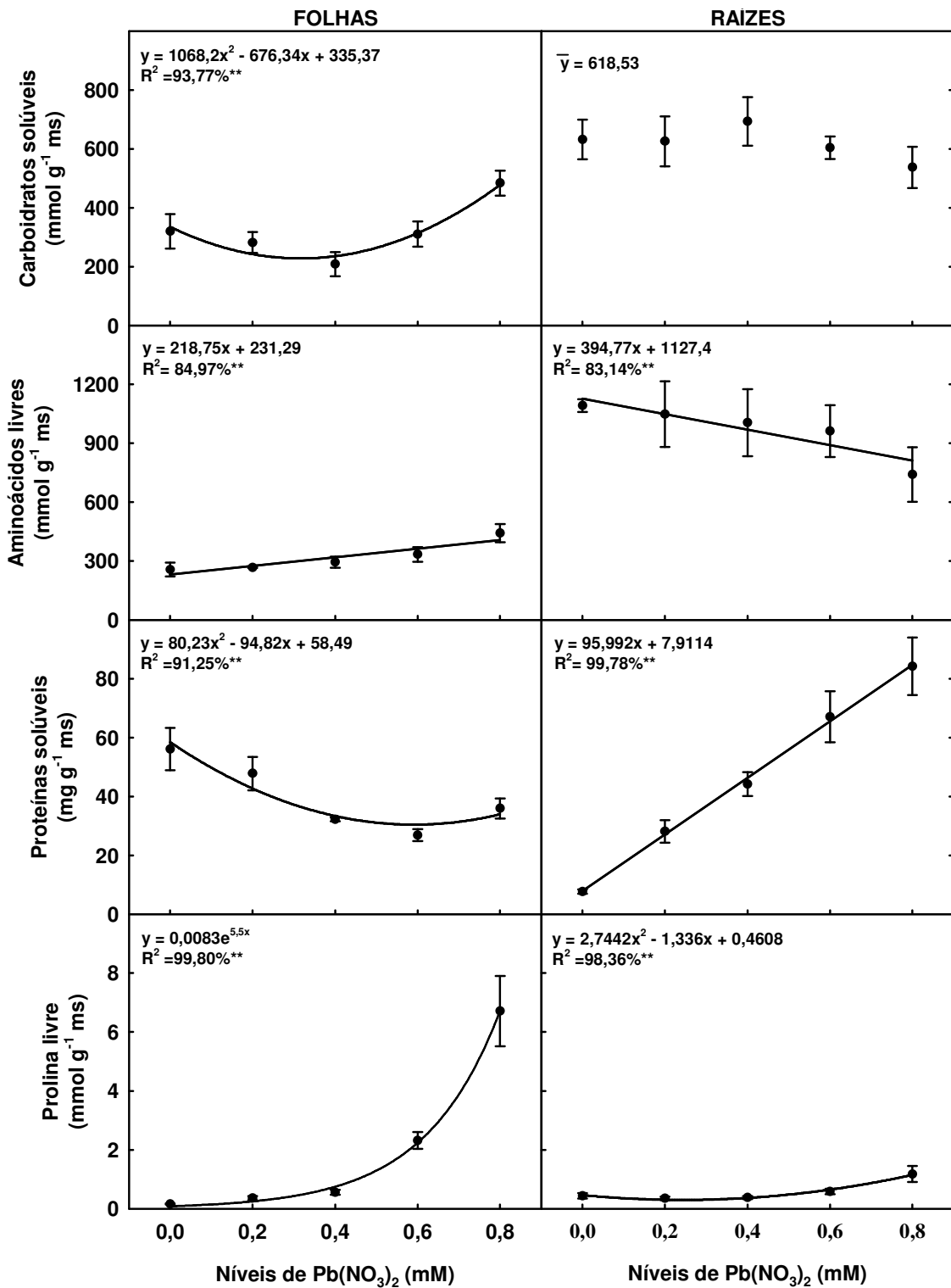


Figura 1: Teores de solutos orgânicos, em folhas e raízes de plantas de girassol cultivadas em casa de vegetação por 16 dias em solução nutritiva contendo diferentes níveis de Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. \*\*Significativo a P ≤ 0,01; n = 4.

## CONCLUSÃO

A presença do chumbo na solução nutritiva altera significativamente a concentração dos principais grupos de solutos orgânicos celulares, evidenciando as alterações metabólicas resultantes da presença deste metal pesado no ambiente celular.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Azevedo Neto, A.D.; Prisco, J.T.; Gomes Filho, E. Changes in Soluble Carbohydrates, Soluble Amino-Nitrogen, Soluble Proteins and Free Amino Acids in Leaves and Roots of Salt-Stressed Maize Genotypes. **Journal of Plant Interactions**, v.4, p.137-144, 2009.
2. Bates, L.S.; Waldren, R.P.; Teare, I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, v.39, p.205-207, 1973.
3. Bhatti, K.H.; Anwar, S.; Nawaz, K.; Hussain, K.; Siddiqi, E.H.; Sharif, R.U.; Talat, A.; Khalid, A. Effect of Heavy Metal Lead (Pb) Stress of Different Concentration on Wheat (*Triticum aestivum* L.). **Middle-East Journal of Scientific Research**, v.14, p.148-154, 2013.
4. Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.246-254, 1976.
5. Castro, C.; Castiglioni, V.B.R.; Balla, A.; Leite, R.M.B.V.C.; Karam, D.; Mello, H.C.; Guedes, L.C.A.; Farias, J.R.B. **A cultura do girassol**. Londrina: EMBRAPA, CNPSo. (Circular técnica, 13), 38p, 1997.
6. Dubois, M.; Gilles, K.A.; Hamilton, J.K.; Rebers, P.A.; Smith, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v.28, p.350-356, 1956.
7. Ferreira, D.F. **SISVAR 4.6 sistema de análises estatísticas**. Lavras: UFLA, 2003.
8. Gratão, P.L.; Prasad, M.N.V.; Cardoso, P.F.; Lea, P.J.; Azevedo, R.A. Phytoremediation: green technology for the cleanup of toxic metals in the environment. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.17, p. 53-64, 2005.
9. Hoagland, D.R.; Arnon, D.I. The water-cultured method for growing plants without soil. **California Agricultural Experiment Station**, p.32, 1950.
10. Jouve, L.; Hoffmann, L.; Hausman J-F. Polyamine, carbohydrate, and proline content changes during salt stress exposure of aspen (*Populus tremula* L.): involvement of oxidation and osmoregulation metabolism. **Plant Biology**, v.6, p.74-80, 2004.
11. Lamhamdi, M., Bakrim, A., Aarab, A., Lafont, R., Sayah, F.A comparison of lead toxicity using physiological and enzymatic parameters on spinach (*Spinacia oleracea*) and wheat (*Triticum aestivum*) growth. **Moroccan Journal of Biology**, v.6, p.64-73, 2010.
12. Macedo, L.S.; Morrill, W.B.B. Origem e comportamento dos metais fitotóxicos: Revisão de Literatura. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.2, p.29-38, 2008.
13. Malavolta, E. **Fertilizantes e seu impacto ambiental: micronutrientes e metais pesados: mitos, mistificação e fatos**. São Paulo: Petroquímica, 1994, 153p.
14. Sharma, P.; Dubey, R.S. Lead toxicity in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.17, p.35-52, 2005.
15. Yemm, E.W.; Cocking, E.C. The determination of amino-acids with ninhydrin. **Analytical Chemistry**, v.80, p.209-213, 1955.